

## TUYỂN CHỌN VI KHUẨN ACETIC VÀ ỨNG DỤNG TRONG LÊN MEN GIẤM TỪ DỊCH QUẢ SƠ RI

*Trịnh Nguyệt Trân, Huỳnh Diễm Mi, Nguyễn Ngọc Thạnh,*

*Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Xuân Phong*

*Trường Đại học Cần Thơ*

**Tóm tắt.** *Giấm sơ ri là sản phẩm lên men acid acetic từ trái cây với sự kết hợp của nấm men và vi khuẩn acetic. Kết quả thử nghiệm 15 chủng vi khuẩn acetic đã tuyển chọn được chủng VL2 có khả năng sinh acid tốt (hàm lượng acid đạt 3,20% (w/v) sau 4 ngày lên men) và định danh thuộc loài *Acetobacter senegalensis*. Các điều kiện lên men giấm từ dịch quả sơ ri với tỷ lệ giống chủng là 1% (v/v) *A. senegalensis* VL2 và 1% (v/v) *Saccharomyces cerevisiae* 2.1 được xác định với một số giống chủng ban đầu tương ứng  $10^5$  tb/mL và  $10^7$  tb/mL, dịch quả sơ ri với nồng độ chất khô hòa tan là 10°Brix và pH 5,0 thu được sản phẩm giấm sơ ri có hàm lượng acid đạt 6,99% (w/v) sau 8 ngày lên men ở 28-32°C.*

**Từ khóa:** *Acetobacter senegalensis, giấm trái cây, sơ ri, vi khuẩn acetic.*

### 1. MỞ ĐẦU

Sơ ri (*Malpighia glabra*) được trồng khắp các tỉnh miền Tây Nam Bộ, đặc biệt trồng nhiều ở Tiền Giang và Bến Tre. Giống sơ ri có hai loại là giống sơ ri chua và giống sơ ri ngọt. Trái sơ ri có dạng hình tròn, cuống nhỏ và gắn với hàm lượng vitamin cao. Trong trái sơ ri chua, hàm lượng  $\beta$ -caroten khoảng 0,3-10,6 ppm và hàm lượng vitamin C trong trái sơ ri Barbados tính trên 100 g dịch quả ăn được là khoảng từ 2,0-4,5 g, cao hơn so với cam. Bên cạnh đó, trong sơ ri còn có chứa các thành phần dinh dưỡng như vitamin A, B1, B2, niacin, acid ascorbic,... [2].

Vi khuẩn acetic thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm hoặc vi khuẩn đa dạng về Gram (vừa Gram âm, vừa Gram dương), tế bào hình que hay hình elip [15]. Vi khuẩn acetic là vi khuẩn hiếu khí bắt buộc thuộc nhóm  $\alpha$ -proteobacteria và có khả năng oxy hóa một phần nguồn carbon thành một hợp chất hữu cơ tương ứng, chẳng hạn như oxy hoá ethanol thành acetic acid [4, 7].

Giấm truyền thống thường được làm từ những nguyên liệu thô chứa đường hoặc tinh bột bằng quá trình lên men hai phân đoạn (đầu tiên, tạo ra ethanol sau đó là acid acetic) và chúng được sản xuất từ dịch quả của một số loại trái cây như khóm, táo, dứa, nho, mận, cà chua [5]. Giấm rất có lợi cho sức khỏe bởi chúng có tính kháng khuẩn [8, 13], chống oxy hóa [6, 12], chống ung thư (như Kurosu - loại giấm gạo truyền thống của Nhật [11] và Kibizu - giấm mía sản xuất ở Nhật [10]) và khả năng trị sỏi thận đường [14]. Ngoài ra, giấm còn có nhiều công dụng khác như chống béo phì, giảm cholesterol, hạ huyết áp từ đó ngăn chặn được các bệnh về tim mạch [9].

Tuy nhiên, nhiều loại giấm truyền thống ở nước ta hiện nay chủ yếu chỉ sản xuất ở quy mô nhỏ và chất lượng không ổn định, độ chua thấp,... Giấm trái cây tuy đã được nghiên cứu và ứng dụng ở Việt Nam như ở điều, táo,... nhưng vẫn chưa đa dạng và

chưa tận dụng các nguồn nguyên liệu rẻ tiền ở các địa phương. Nghiên cứu này nhằm tuyển chọn vi khuẩn acetic và ứng dụng trong lên men giấm từ dịch quả sơ ri góp phần đa dạng hóa sản phẩm lên men acid acetic từ trái cây.

## 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu

- 15 chủng vi khuẩn acetic (B2-2, B3-2, CN, C2, L2, LH1, VL2, K4, BD11, B2-3, KG1, NH2, CB, ST2.2, SKU) và chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 2.1 được lưu trữ tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Trong đó, chủng SKU 1108 (*Acetobacter pastorianus*) từ Trung tâm Nghiên cứu Vi sinh vật chịu nhiệt, Trường Đại học Yamaguchi, Nhật Bản.

- Môi trường nuôi cấy vi sinh vật: YPGD (5 g/L D-glucose, 5 g/L yeast extract, 5 g/L glycerol, 5 g/L peptone), YPD (20 g/L D-glucose, 5 g/L yeast extract, 5 g/L peptone).

- Dịch nước ép từ quả sori: Quả sơ ri được chọn là quả có màu đỏ vừa chín tới, vị ngọt. Dịch ép quả sơ ri được chuẩn bị và trữ đông  $-20^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo dịch quả với thành phần ban đầu như nhau cho các thí nghiệm (dịch quả có pH 3,62 và 4,0°Brix).

- Hóa chất: D-glucose, yeast extract, peptone, glycerol, NaOH 0,1N, phenolphthalein,...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Sơ tuyển các chủng vi khuẩn acetic

15 chủng vi khuẩn acetic được nuôi tăng sinh trong 5 mL môi trường YPGD ở  $30^{\circ}\text{C}$ , lắc 200 vòng/phút trong 24 giờ. Chủng 1% (v/v) giống vào 5 mL môi trường dịch quả sơ ri có bổ sung 4% (v/v) ethanol. Ủ lắc 200 vòng/phút ở  $30^{\circ}\text{C}$  trong 5 ngày, xác định hàm lượng acid trong dịch lên men bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1 N.

#### 2.2.2. Tuyển chọn và định danh chủng vi khuẩn acetic có khả năng lên men tốt

Các chủng vi khuẩn acetic đã sơ tuyển được nuôi trong ống nghiệm chứa 5 mL môi trường YPGD có bổ sung 10% dịch trích khoai tây trong 24 giờ, lắc 200 v/p ở  $30^{\circ}\text{C}$ . Chủng 1 mL dung dịch tăng sinh cho vào 100 mL môi trường dịch quả sơ ri (pH 3,62 và 4,0°Brix, thanh trùng bằng  $\text{NaHSO}_3$  (120 mg/L) trong 2 giờ) và bổ sung 4% (v/v) ethanol. Ủ và lắc ở 200 v/p trong 7 ngày. Mỗi ngày tiến hành đo một số vi khuẩn và theo dõi nồng độ acid trong 7 ngày bằng phương pháp chuẩn độ. So sánh và tuyển chọn chủng AAB có khả năng lên men acid acetic tốt.

Chủng vi khuẩn acetic tuyển chọn được ly trích DNA và sử dụng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1525R (5'-AAAGGAGGTGATCCAGCC-3')

để khuếch đại trình tự vùng bảo tồn trên 16S rDNA của nhóm  $\alpha$ -proteobacteria. So sánh các trình tự khuếch đại với ngân hàng gen NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) thông qua công cụ BLAST để xác định tên khoa học.

### 2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ giống chủng

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố là nồng độ giống vi khuẩn ( $10^3$ ,  $10^5$  và  $10^7$  tế bào/mL) và nồng độ nấm men ( $10^3$ ,  $10^5$  và  $10^7$  tế bào/mL). Nấm men *S. cerevisiae* 2.1 được nuôi tăng sinh trong môi trường YPD và vi khuẩn acetic được nuôi tăng sinh trong môi trường YPGD ở 30°C, lắc 200 v/p trong 24 giờ. Tỷ lệ giống chủng vào dịch lên men 1% (v/v) vi khuẩn và 1% (v/v) nấm men. Dịch sau chủng giống được ủ lắc 200 v/p ở nhiệt độ phòng (28-32°C). Theo dõi một số vi sinh vật và nồng độ acid mỗi ngày cho đến khi kết thúc lên men. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại.

### 2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất khô và pH dịch quả

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố: nồng độ chất khô (°Brix: 10, 15, 20 và tự nhiên (4,0°Brix)) và pH dịch quả (4,0; 5,0; 6,0 và pH tự nhiên (3,62)) với 3 lần lặp lại. Vi khuẩn và nấm men được nuôi tăng sinh khối, chủng giống và điều kiện lên men được tiến hành tương tự như thí nghiệm 2.2.3. Theo dõi một số vi sinh vật và nồng độ acid mỗi ngày cho đến khi kết thúc lên men.

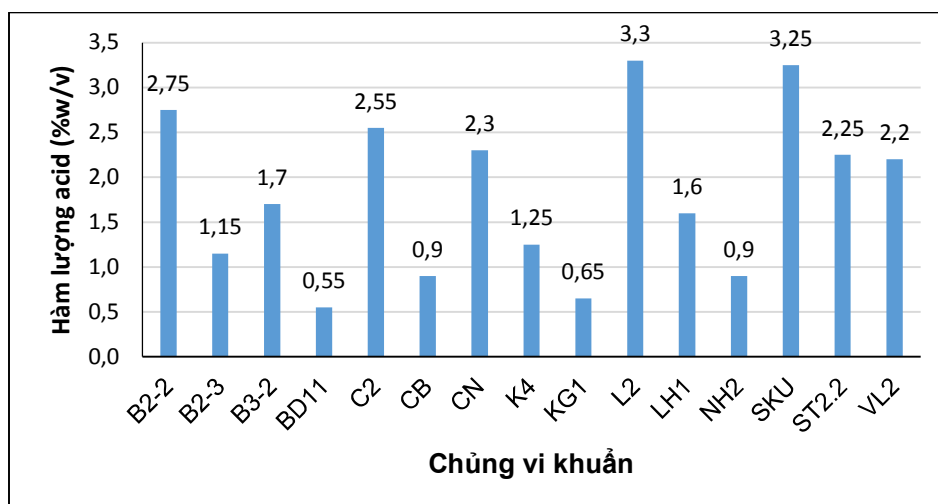
### 2.2.5. Phương pháp phân tích thống kê

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và thống kê bằng chương trình StatGraphics version 16.0.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả sơ tuyển các chủng vi khuẩn acetic

Thí nghiệm được thực hiện trong 5 mL dịch quả sơ ri và lên men ở 30°C trong 5 ngày. Hàm lượng acid được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1 N khi kết thúc lên men và kết quả được thể hiện trong Hình 1. Kết quả cho thấy hàm lượng acid của 15 chủng vi khuẩn dao động trong khoảng 0,55-3,3% (w/v). Trong đó, chủng BD11 có hàm lượng acid sinh ra thấp nhất (0,55% w/v) và chủng L2 có hàm lượng acid sinh ra cao nhất (3,3% w/v). Bốn chủng BD11, CB, KG1 và NH2 có hàm lượng acid thấp (dưới 1,0% w/v); 4 chủng B2-3 B3-2, K4 và LH1 có hàm lượng acid trong khoảng 1,0-2,0% (w/v); 5 chủng B2-2, C2, CN, ST2.2, và VL2 có hàm lượng acid trong khoảng 1,0-2,0% (w/v); 2 chủng L2 và SKU có hàm lượng acid cao nhất, lần lượt là 3,3% và 3,25% (w/v).



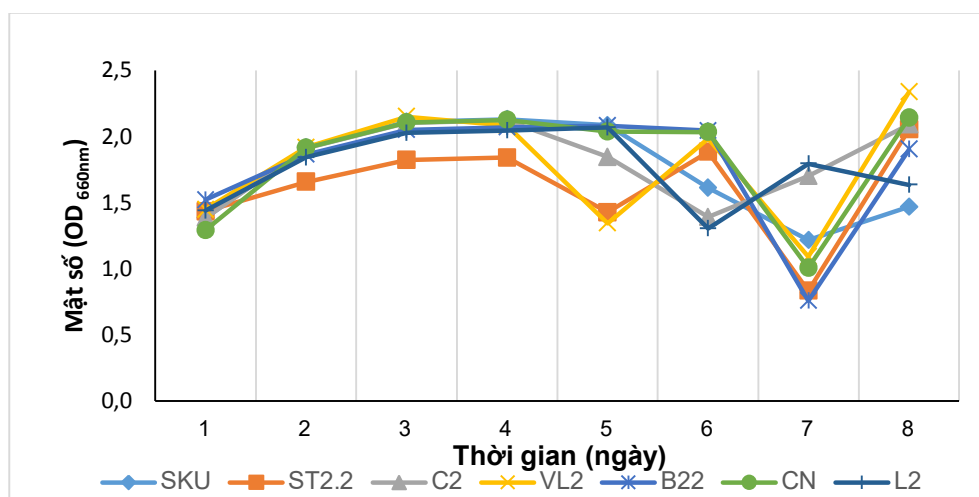
**Hình 1.** Hàm lượng acid sinh ra của 15 chủng vi khuẩn

acetic lên men ở 30°C trong 5 ngày.

Từ kết quả trên, sơ tuyển được 7 chủng (B2-2, C2, CN, ST2.2, VL2, L2 và SKU) sinh acid đạt từ 2,0% (w/v) để tiến hành lên men và kiểm tra hàm lượng acid sinh ra cũng như khả năng phát triển sinh khối theo thời gian lên men.

### 3.2. Tuyển chọn và định danh chủng vi khuẩn acetic có khả năng lên men tốt

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác 250 mL với 100 mL môi trường dịch quả sơ ri. Hàm lượng acid sinh ra được đo bằng phương pháp chuẩn độ và sự phát triển một số vi khuẩn được đo bằng giá trị OD<sub>660 nm</sub> trong 8 ngày lên men và kết quả được trình bày ở Hình 2 và Hình 3.

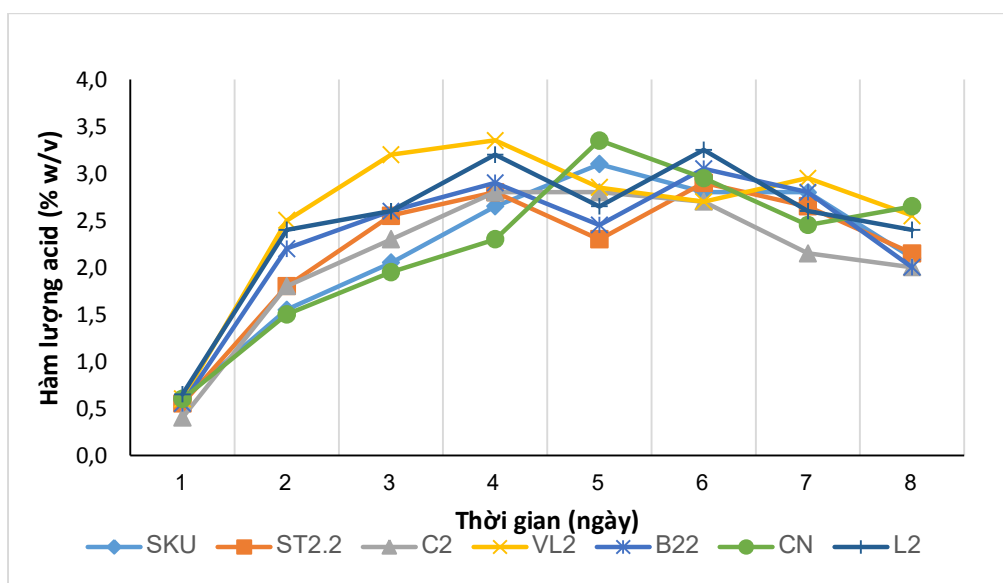


**Hình 2.** Sự phát triển của 7 dòng vi khuẩn trong môi trường dịch quả lên men.

Kết quả theo dõi sự phát triển của vi khuẩn trong dịch lên men cho thấy cả 7 chủng vi khuẩn acetic đều phát triển tốt trong 4 ngày đầu. Ở ngày thứ 5, giá trị OD<sub>660 nm</sub> của chủng VL2 và ST2.2 giảm mạnh còn những chủng khác cũng giảm nhưng không

đáng kể. Một số tế bào của chủng VL2 và ST2.2 tăng vào ngày thứ 6; trong khi đó chủng C2, L2 và SKU lại giảm đáng kể so với ngày thứ 5 nhưng hai chủng CN và B2-2 không giảm. Hầu hết tế bào của các chủng đều giảm mạnh vào ngày thứ 7, riêng chủng L2 và C2 lại tiếp tục tăng. Sau đó, một số tế bào của các chủng đều gia tăng trở lại vào ngày thứ 8 là do các chủng này có khả năng thích ứng với môi trường và có khả năng sử dụng acid acetic như là nguồn cơ chất để tăng sinh khối.

Kết quả phân tích hàm lượng acid của 7 chủng vi khuẩn acetic cho thấy hàm lượng acid acetic tăng trong 4 ngày đầu. Qua ngày thứ 5, hàm lượng của hầu hết các chủng đều giảm, ngoại trừ chủng CN và SKU. Hai chủng VL2 và C2 vẫn duy trì ở mức 2,7% (w/v) ở ngày 6; trong khi đó chủng L2, B22 và ST2.2 có hàm lượng acid tăng đáng kể và hàm lượng acid của chủng SKU và CN lại giảm so với ngày 5. Đa phần các chủng có hàm lượng acid ở ngày 7 giảm mạnh so với ngày 6, chỉ có chủng VL2 có hàm lượng acid tăng nhẹ. Ở ngày 8, hàm lượng acid của các chủng acid acetic đều giảm, riêng chủng CN có hàm lượng acid tăng so với ngày 7. Nhìn chung, hàm lượng acid của hầu hết các chủng acid acetic cao nhất ở ngày 4 và giảm dần từ ngày 5. Ở ngày lên men thứ 4, hàm lượng acid của chủng VL2 đạt cao nhất (3,20% w/v).



**Hình 3.** Hàm lượng acid sinh ra của 7 chủng vi khuẩn trong 8 ngày lên men.

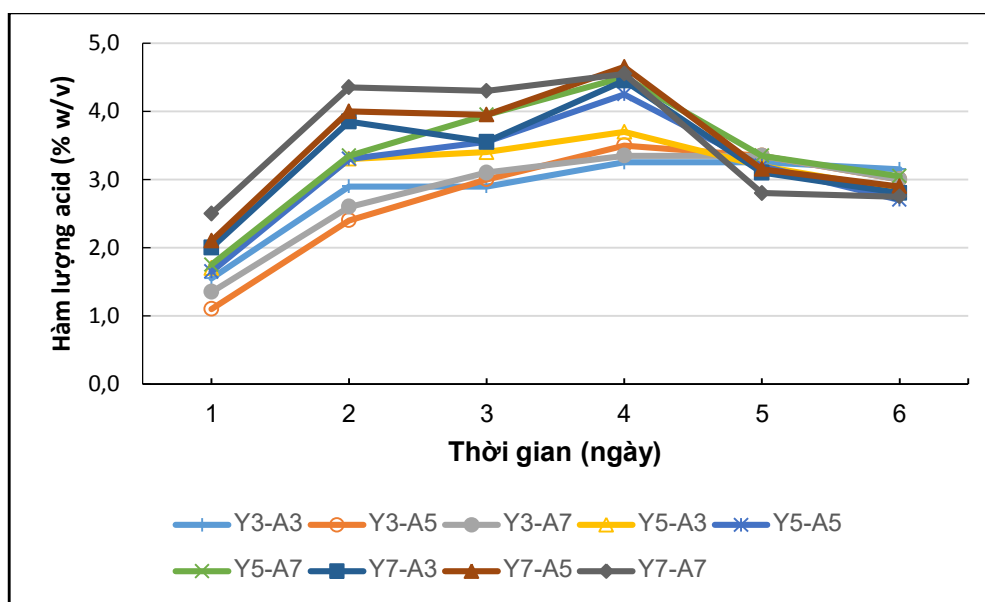
Từ kết quả thí nghiệm, tuyển chọn chủng VL2 có khả năng lên men nhanh và mạnh, với thời gian lên men ngắn nhất (4 ngày) và hàm lượng acid cao nhất (3,20% w/v) để tiến hành định danh và thử nghiệm các điều kiện lên men giám sơ ri.

Kết quả định danh bằng phương pháp sinh học phân tử cho thấy đoạn DNA khuếch đại từ chủng VL2 bằng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1525R (5'-AAAGGAGGTGATCCAGCC-3') tương đồng với gen trên vùng 16S rDNA của loài *Acetobacter senegalensis* CWBI-B418 (Accession number: NR

043252.1) với độ tương đồng 100% nên chủng VL2 được xác định thuộc loài *Acetobacter senegalensis*.

### 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ giống chủng

Thí nghiệm được tiến hành với 100 mL môi trường dịch quả lên men. Hàm lượng acid sinh ra được phân tích liên tục trong 6 ngày lên men và kết quả được trình bày ở Hình 4. Hàm lượng acid sinh ra của 9 nghiệm thức tăng từ ngày 1 đến ngày 4 và sau đó giảm ở ngày 5 và ngày 6. Hàm lượng acid của các nghiệm thức ở ngày 2 tăng mạnh so với ngày 1 và sau đó tăng không nhiều nữa. Ở ngày 3, nghiệm thức Y7-A3 và Y7-A7 có giảm so với ngày 2 nhưng tất cả các nghiệm thức đều tăng ở ngày 4, tăng mạnh nhất là nghiệm thức Y7-A3 (đạt 4,45% w/v).



**Hình 4.** Hàm lượng acid sinh ra của *A. senegalensis* VL2 và *S. cerevisiae* 2.1 trong 6 ngày lên men ở các nồng độ giống chủng khác nhau.

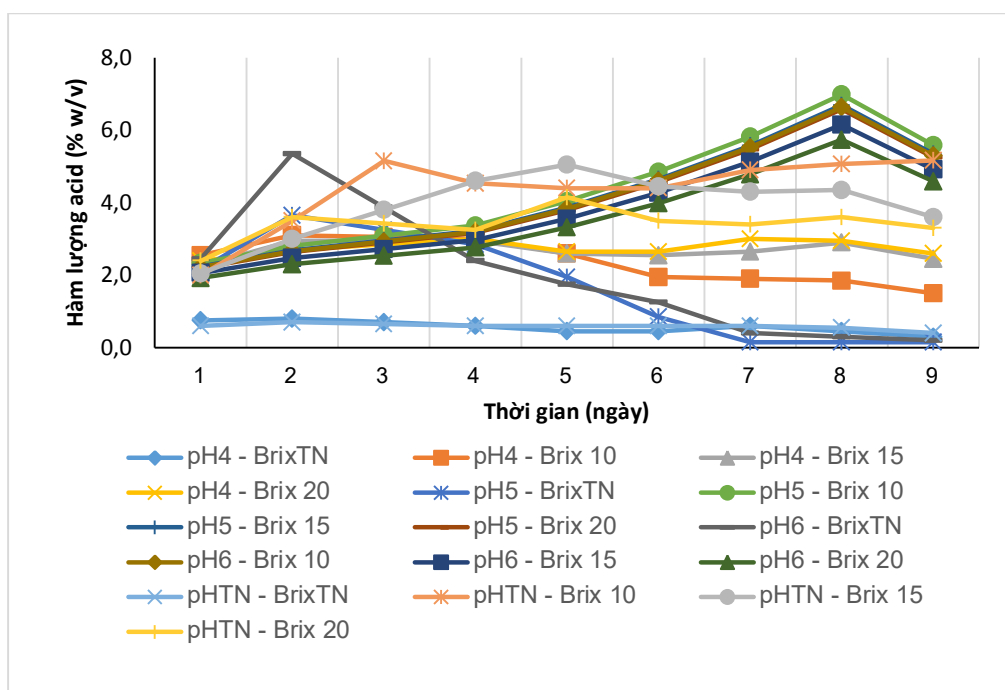
(Ghi chú: Y: nấm men *S. cerevisiae* và A: vi khuẩn *A. senegalensis*; chỉ số 3, 5 và 7 tương ứng nồng độ  $10^3$ ,  $10^5$  và  $10^7$  tb/mL.)

Do hàm lượng acid sinh ra ở ngày 4 của các nghiệm thức đều cao nhất so với các ngày còn lại nên chọn ngày 4 để xác định nghiệm thức có nồng độ giống thích hợp. Kết quả thống kê với độ tin cậy 95% cho thấy hàm lượng acid ở ngày 4 với nồng độ nấm men  $10^7$  tb/mL khác biệt có ý nghĩa thống kê với 2 nồng độ giống chủng  $10^5$  tb/mL và  $10^3$  tb/mL; thêm vào đó, hàm lượng acid ngày 4 với nồng độ vi khuẩn  $10^5$  tb/mL và  $10^7$  tb/mL khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với nồng độ giống chủng  $10^3$  tế bào/mL nhưng khác biệt không ý nghĩa giữa hai nồng độ giống chủng này nên chọn nồng độ vi khuẩn  $10^5$  tb/mL là thích hợp hơn. Kết quả nghiên cứu về giấm vang chuối cũng cho thấy, vi khuẩn acetic càng cao thì hàm lượng acid sinh ra càng cao nhưng hàm lượng acid sinh ra ở nồng độ giống chủng  $10^6$  và  $10^5$  không có sự khác biệt về mặt thống kê nên nồng độ giống chủng  $10^5$  là thích hợp nhất cho quá trình lên men để sản xuất giấm

vang chuối và đạt được hàm lượng acid là 1,5% (w/v) [1]. Như vậy, nghiệm thức với nồng độ tế bào nấm men là  $10^7$  tb/mL và nồng độ vi khuẩn  $10^5$  tb/mL là thích hợp nhất cho quá trình lên men, hàm lượng acid đạt 4,65% (w/v) vào ngày lên men thứ 4.

### 3.4. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô và pH dịch quả

Hàm lượng acid sinh ra ở các nghiệm thức nồng độ chất khô và pH dịch quả sơ ri được theo dõi trong 9 ngày lên men và kết quả được trình bày ở Hình 5. Hàm lượng acid sinh ra trong 6 ngày lên men đầu tiên của nghiệm thức pH 4,0 - Brix 4 và pH 3,62 - Brix 4 là thấp nhất, chỉ trong khoảng 0,3-0,8% (w/v), do ở các điều kiện về pH và độ Brix này không thích hợp cho chủng *A. senegalensis* VL2 và *S. cerevisiae* 2.1 phát triển nên hàm lượng acid sinh ra thấp. Trong 9 ngày lên men, hàm lượng acid của 5 nghiệm thức pH 5,0 - Brix 10, pH 5,0 - Brix 15, pH 6,0 - Brix 10, pH 6,0 - Brix 15, pH 6,0 - Brix 20 đều tăng từ ngày 1 và đạt giá trị cao nhất vào ngày 8 (5,73-6,99% w/v) và cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, hàm lượng acid tổng lại giảm ở ngày 9 nên có thể kết thúc quá trình lên men vào ngày thứ 8, khi đó nghiệm thức pH 5,0 - Brix 10 có hàm lượng acid đạt giá trị cao nhất (6,99% w/v).



**Hình 5.** Hàm lượng acid sinh ra của chủng *A. senegalensis* VL2 và *S. cerevisiae* 2.1 trong 9 ngày lên men ở nồng độ chất khô và pH dịch quả khác nhau.

Kết quả thống kê cho thấy hàm lượng acid sinh ra ở nghiệm thức pH 5,0 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các giá trị pH còn lại nên chọn pH 5,0 là giá trị thích hợp nhất. Ngoài ra, hàm lượng acid sinh ra ở nồng độ chất khô là 10°Brix khác biệt có ý nghĩa thống kê với giá trị 20°Brix và dịch quả tự nhiên. Hàm lượng acid của nghiệm thức 10°Brix và 15°Brix khác biệt không có ý nghĩa thống kê nên có thể chọn nghiệm

thức với hàm lượng vật chất khô là 10°Brix để tiết kiệm được lượng đường bổ sung. Nghiên cứu lên men giấm quả đều cho thấy °Brix càng tăng thì hàm lượng acid càng tăng nhưng khi giá trị này cao hơn 12°Brix thì hàm lượng acid sinh ra sẽ giảm và ở 9°Brix thì hàm lượng acid đạt được là cao nhất (6,6% w/v) [3]. Như vậy, nghiệm thức pH 5,0 - Brix 10 là nghiệm thức thích hợp nhất, hàm lượng acid đạt 6,99% (w/v) ở ngày lên men thứ 8.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng *A. senegalensis* VL2 có khả năng lên men tốt với hàm lượng acid tổng đạt được 6,99% (w/v) khi lên men với dịch quả sơ ri có pH 5,0 và 10°Brix trong 8 ngày lên men trong điều kiện môi trường tự nhiên (28-32°C). Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện lên men giấm từ dịch quả sơ ri cho thấy tiềm năng ứng dụng để sản xuất và đa dạng hóa sản phẩm giấm trái cây.

**LỜI CẢM ƠN:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ thông qua đề tài nghiên cứu khoa học sinh viên (mã số: TSV2015-74) và một phần hỗ trợ từ đề tài Nghị định thư của Bộ Khoa học và Công nghệ (09/2014/HĐ-NĐT) và Chương trình CCP (New Core-to-Core Program).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thị Mai Hiền, Nguyễn Minh Thủy (2014), “Tương quan giữa hàm lượng acid acetic sinh ra và ethanol, đường, mật số vi khuẩn *A. aceti* trong sản xuất giấm vang chuối”, *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 1, 76-83.
- [2] Hồ Hữu Quốc Trân (2010), *Công nghệ sản xuất rượu vang từ sơ ri*, Khóa luận tốt nghiệp ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học Kỹ thuật Công nghệ TP. Hồ Chí Minh.
- [3] Bùi Hoàng Văn (2005), *Luận văn Lên men acid acetic bằng dịch ép trái điều*, Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
- [4] Adachi, O., D. Moonmangmee, H. Toyama, M. Yamada, E. Shinagawa, K. Matsushita (2003), “New developments in oxidative fermentation”, *Applied Microbiololy Biotechnology* 60, 643-653.
- [5] Budak, N.H., E. Aykin, A.C. Seydim, A.K. Greene, and Z.B. Guzel-Seydim (2014). “Functional properties of vinegar”, *Journal of Food Science* 79 (5), 757-764.
- [6] Davalos, A., B. Bartolome, C. Gomez-Cordoves (2005), “Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars”, *Food Chemistry* 93, 325-330.
- [7] Deppenmeier, U. and A. Ehrenreich (2009), “Physiology of acetic acid bacteria in light of the genome sequence of *Gluconobacter oxydans*”, *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology* 16, 69-80.
- [8] Dohar, J.E (2003), “Evolution of management approaches for otitis externa”. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 22, 299-308.



- [9] Johnston, C.S. and A.J. Buller (2005), "Vinegar and peanut products as complementary foods to reduce postprandial glycemia", *Journal of the American Dietetic Association* 105, 1939-1942.
- [10] Mimura, A., Y. Suzuki, Y. Toshima, S. Yazaki, T. Ohtsuki, S. Ui, F. Hyodoh (2004), "Induction of apoptosis in human leukemia cells by naturally fermented sugar cane vinegar (kibizu) of Amami Ohshima Island", *Biofactors* 22, 93-97.
- [11] Nanda, K., N. Miyoshi, Y. Nakamura, Y. Shimoji, Y. Tamura, Y. Nishikawa, K. Uenakai, H. Kohno, T. Tanaka (2004). "Extract of vinegar "Kurosu" from unpolished rice inhibits the proliferation of human cancer cells", *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 23, 69-75.
- [12] Nishino, H., M. Murakoshi, X.Y. Mou, S. Wada, M. Masuda, Y. Ohsaka, Y. Satomi, K. Jinno (2005), "Cancer prevention by phytochemicals", *Oncology* 69, 38-40.
- [13] Rutala, W.A., S.L. Barbee, N.C. Agular, M.D. Sobsey, D.J. Weber (2000), "Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens", *Infection Control & Hospital Epidemiology* 21, 33-38.
- [14] Salbe, A.D., C.S. Johnston, M.A. Buyukbese, P.D. Tsitouras, S.M. Harman (2009), "Vinegar lacks antiglycemic action on enteral carbohydrate absorption in human subjects", *Nutrition Research* 29, 846-849.
- [15] Sengun, I.Y. and S. Karabiyikli (2011), "Importance of acetic acid bacteria in food industry", *Food Control* 22 (5), 647-656.

### SELECTION OF ACETIC ACID BACTERIA AND APPLICATION FOR PRODUCTION OF VINEGAR FROM ACEROLA JUICE

**Abstract.** *Acerola vinegar is one of the fruit vinegar kinds that is the combination between yeast and acetic acid bacteria. The result of fermentative capacity testing of 15 acetic acid bacterial isolates showed that isolate VL2 could produce 3.20% (w/v) of total acid after 4 days of fermentation, and was identified as Acetobacter senegalensis. Fermentation conditions with the combination of 1% (v/v) of A. senegalensis VL2 and 1% (v/v) of Saccharomyces cerevisiae 2.1 inoculum revealed that the initial cell concentrations were  $10^5$  cells/mL of bacterial cells and  $10^7$  cells/mL of yeast cells, and the acerola juice at pH 5.0 and 10°Brix were the suitable conditions for production of acerola vinegar. The acid concentration of vinegar was 6.99% (w/v) of total acid after 8 days of fermentation at 28-32°C.*

**Keywords:** *Acerola, acetic acid bacteria, Acetobacter senegalensis, fruit vinegar.*