تأثير البسترة والتخزين والتلقيح ببكتريا حمض اللبن في المؤشرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح

الباحثة : م. هبـــة مـــراد

كلية الهندسة الزراعية – جامعة دمشق

الملخص

تم تحضير عصير التفاح بتركيز (20%) من عصير التفاح المركز (70%) والذي تم تصنيعه في معمل عصير الجبل بمحافظة السويداء، بهدف دراسة تأثير عملية البسترة وزمن ودرجة حرارة التخزين في زيادة مدة حفظ عصير تفاح مبستر والمبستر الملقح ببكتريا *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* لمدة ثلاثة أشهر على درجتي حرارة التخزين 4°م و20°م في إنتاج مركب ثنائي الأستيل وتقديره كمياً من عصير التفاح ودراسة تأثير زمن ودرجة حرارة التخزين في تركيز ثنائي الأستيل المُنتج خلال فترة 3 أشهر.

أظهرت النتائج انخفاضاً في تركيز المادة الصلبة الذائبة في عينات عصير التفاح المبسترة وغير المبسترة على درجة حرارة التخزين 20°م، كما أظهرت النتائج حدوث انخفاض في قيم الـ pHحيث وصلت قيمة لـ pH بعد الشهر الثالث من التخزين لعصير التفاح غير المبستر الى 3.869 ، وبينت النتائج ارتفاع في تركيز ثنائي الاستيل بزيادة درجة حرارة وزمن التخزين ، حيث وصل تركيز ثنائي الاستيل في الشهر الثالث من التخزين في عينات عصير التفاح المبستر الى 3.107 جزء في المليون ، كما سجلت النتائج انخفاضاً في تركيز ثنائي الأستيل في عصير التفاح المخزن المبستر والملقح ببكتريا حمض اللبن *Lactobacillus plantarum* بزيادة زمن التخزين حيث بلغ 1.943 بعد الشهر الثالث من التخزين مقارنةً مع عصير التفاح المبستر المخزن، كما

أظهرت نتائج التحاليل الجرثومية بالنسبة لعينات عصير التفاح المبسترة وغير المبسترة وجود انخفاض في عدد الأحياء الدقيقة (العد الكلي، عد الخمائر والفطور وعد بكتريا حمض اللبن) وذلك بدءاً من الشهر الثاني من التخزين على درجتي حرارة التخزين (4 و 20°م)، كما أشارت النتائج إلى انخفاض عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبستر والملقح بدءاً من الشهر الأول وحتى نهاية الشهر الثالث من التخزين على درجتي الحرارة 4°م و 20°م.

الكلمات المفتاحية: عصير التفاح، البسترة، التخزين، المؤشرات الكيميائية، المؤشرات الميكروبيولوجية.

Effect of the process of pasteurization, storage, and inoculation with lactic acid bacteria on the chemical and microbiological indicators of apple juice

Abstract

This research was completed at Department Of Food Science- Facualty of Agriculturel- Damascus University-2016. Apple juice was prepared with a concentration (20%) from a concentrate apple juice (70%), which was manufactured at Aljabel Juice in Alsweda city.This research aimed to study the effect of storage period and temperature on preservation period of apple juice (pasteurized, non-pasteurize and vaccinated by bacteria *Lactbacillus*

plantarum and *Leuconostoc mesenteroides)* for three months at temperatures (4 and 20 ºC), the purpose of this study was to knowledge the production of diacetyl in the previous conditions and estimate it for three months.The results showed a decrease in the concentration of soluble solid matter in the pasteurized and non-pasteurized apple juice at the temperature degrees of 20 ºC, the results also showed a decrease in the pH values, as the pH value in the third month of storage for non-pasteurized apple juice reached to 3,869, and the results showed an increase in the concentration of diacetyl by an increase in the temperature and period time, Pasteurized apple juice reached to (3.107) parts per million.The results also recorded a decrease in the concentration of diacetyl with stored apple juice (pasteurized and inaculated with lactic acid bacteria *(Lactobacillus plantarum*)) with an increase in the storage time, when reached to 1.943 in the third month of storage compared to the stored pasteurized apple juice, as the results of bacteriological analyzes for apple juice samples (pasteurized and unpasteurized) showed decrease from the second month of storage in the number of microorganism(total count, the number of yeasts and fungi and the number of lactic acid bacteria at two temperature degrees (4 and 20 ºC). The results also indicated a decrease in the number of lactic acid bacteria in pasteurized and vaccinated apple juice starting from the first month until the end of the third month of storage at two temperature degrees (4 and 20 ºC).

Keywords: apple juice , Pasteurization, Storage, Chemical indicators, Microbiological indicators.

المقدمة والدراسة المرجعية:

تحتلُّ شجرة التفاح مركزاً هاماً ضمن مجموعة أشجار الفاكهة لما تحتوي ثمارها من الفيتامينات و الأحماض العضوية والأملاح المعدنية كأملاح البوتاسيوم، الكالسيوم والمغنيزيوم (قطنا، 1978)، 'تعد زراعة التفاح من الزراعات الاقتصادية لما تدره من أرباحٍ نظراً لارتفاع سعرها في الأسواق وإمكانية تخزينها لفترة طويلة بعد نضجها، وتُعدُّ شجرة التفاح *Malus domestica* شجرةٌ مثمرةٌ من الفصيلة الوردية *Rosaceae*، والتفاح كلمةٌ مأخوذةٌ من كلمة توتا الفارسية (Konja and Lovric, 1993).

يُعد التفاح من الفاكهة المرغوبة في جميع أنحاء العالم وتمتاز ثمارها باحتوائها على قيمةٍ غذائيةٍ عالية، حيث يحتوي 100غ منها على (95 وحدة) من فيتامين A، 40 مغ من فيتامين B1 و20 مغ من فيتامين C، إضافة إلى 9غ من سكر العنب وسكر الفواكه و 85غ من الماء و 0.02 –0.1غ بروتين و 0.3غ دهن و 0.9غ سليلوز و 0.4غ بكتين و 1.5غ أحماض عضوية (حمض الماليك هو الحمض السائد) وقليل من النشاء (Dianne، 2019).

يُستخدم التفاح في العديد من الصناعات الغذائية ومن أهمها المربيات والعصائر، إذ يُعد عصير التفاح من أكثر أنواع العصائر المنتشرة بشكلٍ واسعٍ في العالم وخاصةً في أوروبا، وتُستخدم جميع أصناف التفاح المعروفة في أمريكا في إنتاج عصير التفاح، ومن أهم الأصناف المستخدمة في هذا الصدد غولدن ديليشيس، ستاركن ديليشيس، روم بيوتي وغيرها، كما يُنتج عصير وخل التفاح الطازج من أصناف التفاح صغيرة الحجم غير الملائمة للاستهلاك، ويستخرج أيضاً من عصير التفاح المركز مسحوق التفاح وعسل التفاح، ويتميز التفاح بقابليته للحفظ بالتبريد و التجفيف والتعليب، ويُصنَّف مركب ثنائي الأستيل من بين مركبات النكهة في منتجات الألبان، ولكنه يعتبر في عصير التفاح ومنتجاته من عوامل الفساد الكيميائية والميكروبية المؤدية إلى تدهور

القيمة الغذائية وتدني الصفات الفيزيائية والحسية المؤثرة في الظروف الصحية (1992 ،Hugenholtz).

لذا يسلط هذا البحث الضوء على إيجاد الحلول المناسبة لمنع ذلك **ولتحقيق الأهداف التالية:**

1-دراسة تأثير عملية البسترة وزمن ودرجة حرارة التخزين في المؤشرات الكيميائية و الميكروبيولوجية لعصير التفاح تركيز (20%).

2-دراسة تأثير عملية التلقيح ببكتيريا حمض اللبن *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* وزمن ودرجة حرارة التخزين في المؤشرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح المبستر تركيز 20%.

يتعرض عصير التفاح أثناء التخزين في ظروف غير جيدة إلى الفساد الناتج عن جملة من التغيرات الكيميائية والحيوية التي تسبب فقداً في قيمته الغذائية والحسية بالإضافة إلى خطورة هذا العصير على الصحة العامة، حيث ينتج هذا الفساد بسبب تأثير الخمائر بنسبة 90% أما الفطور والبكتريا فتؤثر بنسبة 10%إن أغلب الأحياء الدقيقة التي يمكن أن تتواجد في العصائر هي الأجناس التي لها القدرة على تحمل تراكيز عالية من السكر (الأسموفيلية) ومن أهم الأجناس المسببة للفساد الميكروبي في العصائر *Lactobacillus* و *Leuoconostoc* تقوم هذه الأجناس البكتيرية بتخمير السكر إلى حمض اللبن كما تفرز مركبات ثانوية مثل ثنائي الاستيل، كحولات، أحماض عضوية ، وبالتالي تسبب هذه الأجناس بنموها تغيرات لونية غير مرغوبة في العصائر السكرية ومركزاتها (1996 ,Swindell *et al*.).

- ***جنس Leuoconostoc***: هو عبارة عن مكورات كروية تميل لتصبح بيضوية بالأوساط الحامضية، موجبة الغرام وغير متحركة وتشكل محفظة وهي غير متبوغة و

تتوضع بشكل ثنائي أو بشكل سلسلة و درجة حرارة نموها مثالية 30°م وهي هوائية أو لاهوائية اختيارياً (مرعي ، 1997) تقوم بتخمير الكثير من السكريات مع إنتاج غاز CO_2 وبالتالي فهي تُحدث تخمراً غير متجانساً.

ومن أهم أنواع هذا الجنس *Leuoconostoc mesenteroides* إذ يتحمل هذا النوع تراكيز عالية من السكر (55-60%) ويقوم بالمرحلة الأولى من التخمر اللبني بإطلاق عملية التخمر بشكل سريع وينتج عن عملية التخمر كميات كبيرة من CO_2 وهذا ما يسبب فساد العصائر ذات التركيز المرتفع من السكر كما أنه ينتج لزوجة عالية في المواد الغنية بالسكروز وهذا ما يسبب لزوجة العصير مع انطلاق رائحة غير مرغوبة ، بالإضافة إلى أنه ينتج كمية كبيرة من ثنائي الاستيل (مرعي، 1997) و(سفر ومرعي، 1994).

-أما ***جنس Lactobacillus***: فهي بكتريا عصوية وموجبة الغرام وغير متبوغة وهي غير متحركة، قليلة الحاجة إلى الهواء يُنتج عن هذا الجنس كميةً كبيرةً من حمض اللبن بواسطة التخمر ويُفضل وجود جو غني بـ CO_2 ويتحمل pH اقل من (5) ومن أهم أنواعه:

Lactobacillus planetarum:-تخمر السكريات ويكون الناتج الرئيسي حمض اللبن ويمكنه

إنتاج ثنائي الاستيل (سفر ومرعي، 1994)، أما بالنسبة لصناعة الخل فإن وجود بكتريا *Lactobacillus* و *Leuoconostoc* في عصيرالتفاح التي يُصنع منها الخل يؤدي إلى إعاقة التخمر الكحولي ونمو الخميرة كما أنها تنتج مواد ذات رائحة كريهة تحت الظروف غير الهوائية (Joshi and Sharma، 2009).

أشار (سفر ومرعي، 1994) إلى أن أهم المؤشرات الميكروبيولوجية لصلاحية العصير للاستهلاك هو قياس تركيز كل من الكحول الأتيلي والأحماض العضوية ودرجة

الحموضة ومركب ثنائي الاستيل ، فتركيز هذه النواتج دلالةٌ واضحةٌ على مدى صلاحية هذا العصير للاستهلاك البشري.

حيث وجد بأن بعض الخمائر ينتج عنها المركبات الكيميائية السابقة المسببة لفساد العصائر ومركزاتها ويوجد أيضاً بعض الفطريات والبكتريا التي تقوم بالدور نفسه للحصول على تلك المركبات غير المرغوبة في العصائر كأن تفرز المادة الكيميائية تحت تأثير الأحياء الدقيقة ، يتعلق تركيز هذه المادة في الوسط بكمية الأحياء الدقيقة الموجودة في عصائر التفاح ومركزاتها ومن أهم التفاعلات الكيميائية التي تُحدث فساداً في عصير التفاح وتسبب تغيرات جمة في الطعم والرائحة و النكهة واللون هي تفاعل الاسمرار اللاإنزيمي والاسمرارالإنزيمي وان انخفاض رقم pH إلى اقل من 3.2 تمنع أكسدة فيتامين C والتغيرات اللونية الناتجة عن الاسمرار اللاإنزيمي

(James and Jay، 2000)، تتوقف فترة تخزين العصائر المركزة على أكسدة حمض الاسكوربيك و اسمرار العصير المركز و تغير الطعم والرائحة ومن جهة أخرى أشار(Weiss، 1973) إلى عدم تغير لون العصير المركز خلال 5 أشهر من التخزين في درجة حرارة 4°م ولكن العصير المركز المخزن بدرجة حرارة 30°م خلال نفس الفترة الزمنية تغير لونه نحو الاسمرار، إن حدوث تغيرات في الخواص الحسية للعصائر المركزة تتوقف على درجة حرارة التخزين حيث ان زيادة مدة التخزين في درجة حرارة اعلى من (5)°م تظهر تغيرات في الطعم والرائحة يلي ذلك اسمرار العصير وأكسدة فيتامين C، يُعتبر العصير الطبيعي غير المركز من المركبات غير الصالحة للتخزين لمدة طويلة بسبب تأثير الأحياء الدقيقة التي تنشط بظروف التخزين غير المناسبة ، ولتفادي ذلك يتم تحويل هذا العصير إلى عصير مركز وحفظه ضمن شروط التخزين المناسبة.

أشار (Merai، 1991) عند مقارنته لنمو بعض السلالات الميكروبية من فطريات *penicillum notatium* و *Aspergillus niger* وخميرة *Sacchromyces cerevisiae* وبكتريا *Lactbacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* في عصائر الفاكهة بتراكيز 30% و 70% خلال فترة التخزين

(3أشهر) فقد تبين من خلال نتائجه ظهور تباين في النمو الجيد في العصير بتركيز30% بينما انعدمت في التركيز الآخر واستنتج من ذلك أن هذه السلالات الميكروبية لا تنتمي إلى الأحياء الدقيقة الأسموفيلية وتوصل أيضاً إلى إمكانية تخزين العصائر المركزة بتراكيز سكرية عالية خلال فترة زمنية تفوق الـ 6 أشهر دون أن يتعرض إلى أي نوعٍ من أنواع الفساد شريطة اتباع ظروف تخزين سليمة وصحيحة.

وجد الباحث(Burbianka، 1983) أن الأنواع التابعة للجنسين *Lactbacillus* و*Leuconostoc* وخاصة: *Leu. mesenteroides*، *Lb.planetarum*، *Leu. dextranicum*، *Lb.fermenti* تخمر السكريات مع انطلاق نواتج من CO2 وكحول اتيلي مسببة بذلك لزوجة العصير وفساده، بينما الجنس *Acetobacter* والنوع*A.xylinum* يقوم بأكسدة الكحولات إلى حمض الخل وهو بدوره يتأكسد إلى CO2 مما يؤدي إلى حدوث تغيرات في اللون والطعم والرائحة تدل على تخمر العصير وفساده.

كما وجد الباحثان (Siuchninska and Sobczak، 1983) أن بكتريا الجنس *Bacillus* والنوع *B.subtilis* تهاجم السكر وتخمره ببطء منتجة حمضاً دون غاز وكذلك بكتريا الجنس Clostridium والنوع *Cl. pasteuriaum* تحلل السكريات منتجة حمضاً وغازاً معطيةً رائحةً كريهةً في العصير وتجعله غير مناسب للاستهلاك البشري.

أيضاً تنمو *Lb plantarum , Lb.brevis, Lb. Fermnts* في عصائر الفاكهة المركزة وذلك عند رقم pH=4 وتركيز سكر 50% هذه البكتريا تتحمل درجات حرارة عالية 75°م خلال 10–20 دقيقة وفي درجة حرارة 90°م خلال 30 ثانية وكما تنمو في حرارة معتدلة تتراوح من 15–48°م وانخفاض درجة حرارة العصير إلى 10–20°م تمنع نمو هذه الاحياء الدقيقة ومن الفطريات: *Penicillium expansum* و *Rhizopus sp* و

Gladosporium erbarum و *Mucor sp* و*Aspergillus glances* حيث تقوم هذه الفطريات بإفراز مركبات سامة مثل الميكوتوكسينات التي تؤدي إلى تلوث العصير وفساده وهذه الأحياء تؤكسد الكحولات والأحماض العضوية في ظروف هوائية وإن الحرارة

المثلى لنمو الفطور 20–30°م (Beech، 1965) أما بالنسبة للخمائر التي تشكل 90% في العصائر والتي تتبع الأجناس التالية: *Zygosaccharomyces* و *Schizosaccharomyces*و*Saccharomycecs*، وأيضاً بعض الخمائر المتوحشة مثل: *Kloecktera* و*Hansonula* و *Rhodotorula* و*Cryptococcus* و*Torulopsis* و*Candida* ، تحدث جميعها تغيرات في الطعم واللون والرائحة ونتيجة لذلك يحدث فساداً في العصير ويصبح غير صالحاً للاستهلاك البشري.

وتظهر أيضاً في عصائر الفاكهة الحامضية خمائر (عدا البكتريا) في مدة 198 يوماً وإن تخزين عصير البرتقال في درجة –18°م يؤدي إلى انخفاض عدد الأحياء الدقيقة.

ووجد (Goll، 1988) أن صلاحية المنتجات الغذائية تعتمد على الضغط الاسموزي ويعتبر مقياس او معيار محدد لمنع نمو الأحياء الدقيقة في الوسط كما يمكن أن تظهرخمائر اسموفيلية (Marvin and speck، 1976) في العسل ،السكاكر،المربيات والمولاس وعصائر الفاكهة المركزة.

حظيت دراسة تأثير ظروف التخزين في صفات الجودة لعصائر الفاكهة المركزة (التفاح) باهتمام عدد كبير من الباحثين في أنحاء عديدة من العالم لما لظروف التخزين من انعكاسات سلبية مباشرة على صحة المستهلك.

وجد (Merai، 1991) أن التراكيز المرتفعة من العصائر (70%) والمخزنة بدرجة حرارة 4°م ساهمت في الحد من نمو الأحياء الدقيقة في العصير أما في التراكيز المنخفضة فقد حدثت تغيرات كيميائية وخاصة تفاعلات الاسمرار اللاإنزيمي (تفاعل ميلارد) أثناء فترة التخزين إذ يحدث هذا التفاعل نتيجة وجود مركبات تحمل مجموعة كربونيل (سكريات مرجعة ، ثنائي الاستيل ، كحولات) مع المركبات التي تحمل مجموعة امين (بروتينات، حموض امينية) وينتج عن ذلك مركبات داكنة اللون تسبب تغيراً في طعم ورائحة ونكهة العصير .

وظهرت في السنوات الأخيرة خلال تخزين عصائر الفاكهة المُركَّزة ملاحظات كثيرة حول مركب ثنائي الأستيل والأستيل متيل كربونيل تلك المركبات المتكونة من قِبل بعض الأجناس مثل *Lactobacillus* و*Leuoconostoc* (Hugenholtz، 1993).

مواد وطرائق البحث

نُفذ البحث في قسم علوم الأغذية- كلية الزراعة- جامعة دمشق – 2016، حيث تم تحضير عصير التفاح بتركيز 20% من عصير التفاح المركز (70%) والذي تم تصنيعه في معمل عصير الجبل بمحافظة السويداء.

- <u>مواد البحث</u>

- أُستخدم في تنفيذ الدراسة عصير تفاح (20%) المحضر من عصير التفاح المركز (70%) والمصنع في معمل عصير الجبل الطبيعي بمحافظة السويداء وذلك بتمديده بماء مقطر حتى يتم الحصول على نسبة مواد صلبة ذائبة (20%) .

- أُستخدمت عينات عصير التفاح بتركيز 20% المبسترة وغير المبسترة والمبسترة الملقحة ببكتريا *Lactbacillus plantarum* .

- تم بسترة عصير التفاح (20%) على درجة حرارة 90م° لمدة 4- 5 ثوان وتم تلقيح العصير المبستر0.25 مل من بادئ بكتريا حمض اللبن.

و تم تخزين جميع العينات (المبسترة، غير المبسترة والمبسترة الملقحة) لمدة ثلاثة أشهر على درجتي حرارة 4°م و20°م وأجريت عليه الاختبارات التالية:

- <u>الاختبارات الكيميائية:</u>

1-قياس نسبة المواد الصلبة الذائبة: وذلك حسب AOAC، 2014

2–تقدير الحموضة المعيارية: وذلك حسب AOAC، 2014 حيث:

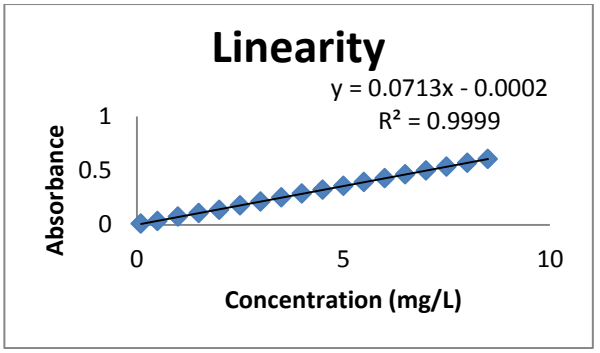
الحموضة المعيارية (%)= 100 × (الوزن السائد للحمض المكافئ × 0.1 × الحجم المستهلك من NaOH) / (وزن العينة × 1000)

3–قياس درجة (pH): وذلك حسب Drzazga، 1984 باستخدام جهاز قياس الـ pH.

4–تقدير ثنائي الأستيل: تمَّ تقدير ثنائي الأستيل وذلك حسب Grzybowski ، 1991 and Warowna باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) على طول موجة (530 نانومتر) واعتماداً على المخطط البياني المُوضَّح في الشكل (1) الذي يُبيِّن المحلول القياسي لثنائي الأستيل وفق الطريقة التالية:

تم تقطير 300 مل من العينة بتركيز 12%، وأخذ 25 مل من السائل المقطر وإضافة 10 مل من محلول الفانافتول + كحول إتيلي (95%) بتركيز 5% و4 مل من محلول كرياتين في ماءات البوتاسيوم (40%)، وتمَّ قياس الامتصاص الضوئي خلال مدة لا تتجاوز دقيقة واحدة على طول موجة 530 نانومتر.

وتم حساب تركيز ثنائي الأستيل في جميع العينات باستخدام محلول قياسي ذو تراكيز مختلفة من ثنائي الأستيل (0.1–50) جزء في المليون.



الشكل (1): المحلول القياسي لثنائي الأستيل

– **<u>الاختبارات الميكروبية:</u>**

تمَّ إجراء الاختبارات الميكروبية حسب Sobczak، 1991) وباستخدام أوساط زرع مختلفة وهي:

1- العد الكلي للأحياء الدقيقة على بيئة الأغار المغذي (Nutrient Agar).

2- العد الكلي للخمائر والفطور على بيئة ديكستروز البطاطا (PDA).

3- عد بكتريا حمض اللبن على بيئة (MRS-Agar).

النتائج والمناقشة

1-دراسة تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح:

يُبين الجدول (1) نتائج دراسة تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح

الجدول (1): تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح

معاملة عصير التفاح	التخزين		نسبة المواد الصلبة الذائبة (%)	رقم الحموضة (pH)	درجة الحموضة (%)	تركيز ث الأستيل (
	زمن (شهر)	درجة الحرارة				
عصير التفاح المبستر	0	20	19.967±0.057^{a}	3.915±0.004^{a}	3.203±0.006^{a}	±0.006^{a}
	1	4	18.533±0.058^{bc}	3.953±0.002^{b}	3.123±0.012^{b}	±0.015^{b}
		20	18.133±0.153^{dc}	3.963±0.003^{c}	3.107±0.012^{b}	±0.005^{c}
	2	4	18.433±0.059^{bdc}	3.930±0.003^{d}	3.147±0.015^{c}	±0.006^{d}
		20	17.033±0.058^{e}	3.919±0.002^{e}	3.177±0.016^{d}	±0.015^{e}
	3	4	18.133±0.115^{dc}	3.912±0.005^{a}	3.207±0.011^{a}	±0.011^{f}
		20	16.233±0.056^{f}	3.981±0.001^{f}	3.077±0.006^{e}	±0.006^{g}
عصير التفاح غير المبستر	0	20	20.033±0.057^{a}	3.890±0.001^{g}	3.177±0.013^{d}	±0.012^{a}
	1	4	18.033±0.058^{dc}	3.950±0.002^{b}	3.177±0.012^{d}	±0.014^{h}
		20	17.233±0.513^{e}	3.973±0.004^{h}	3.183±0.010^{d}	±0.006^{i}
	2	4	18.233±0.153^{bd}	3.940±0.002^{i}	3.177±0.015^{d}	±0.016^{g}
		20	16.267±0.635^{f}	3.890±0.006^{g}	3.207±0.003^{a}	±0.015^{k}

±0.017^{l}	3.237±0.014^{f}	3.890±0.001^{g}	18.167±0.058^{bdc}	4	3	
±0.004^{m}	3.213±0.012^{a}	3.869±0.001^{j}	15.833±0.055^{g}	20		
1460	0.01712	0.00352	0.38883	LSD		

تدل الأحرف المتشابهة في العمود على عدم وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة 5%

نلاحظ من النتائج المبينة في الجدول (1) عدم وجود تأثير معنوي لعملية البسترة في تركيز المادة الصلبة الذائبة لعينات عصير التفاح تركيز ، بينما لوحظ انخفاض تركيز المادة الصلبة الذائبة لعصير التفاح المبستر وغير المبستر المخزنين على درجة حرارة 20°م لمدة ثلاثة أشهر، حيث وصل أدنى تركيز للمادة الصلبة الذائبة بالنسبة لعصير التفاح غير المبستر إلى (15.833%) ، ويعود سبب ذلك إلى وجود نموات جرثومية في هذا الوسط استهلكت مكونات العصير التي تشكل المادة الصلبة الذائبة وهذا يتفق مع (Downing، 1989).

كما أشارت النتائج في الجدول (1) إلى حدوث تأثير معنوي لعملية البسترة في قيم الـ pH لعينات عصير التفاح تركيز (20%)، حيث ارتفع pH في عينات عصير التفاح المبستر تركيز 20% الى 3.915 ، بعد تخزين عصير التفاح المبستر وغير المبستر عند درجة حرارة 20°م ولمدة ثلاثة أشهر لوحظ انخفاض في قيم الـ pH حيث وصلت قيمة لـ pH في الشهر الثالث من التخزين لعصير التفاح غير المبستر الى 3.869، وبينت النتائج أيضاً وجود تأثير معنوي لعملية البسترة في النسبة المئوية للحموضة لعينات عصير التفاح ، حيث ارتفعت الحموضة في عينات عصير التفاح المبستر تركيز 20% الى 3.203، كما لوحظ من الجدول (1) وجود تأثير معنوي لزمن ودرجة حرارة التخزين في نسبة الحموضة لعصير التفاح المبستر وغير المبستر المخزنين على درجة (20°م) لمدة ثلاثة أشهر حيث لوحظ ارتفاع في نسبة الحموضة ، حيث وصلت اعلى قيمة للنسبة المئوية للحموضة بالشهر الثالث من التخزين لعصير التفاح

غير المبستر الى (3.213%) ، ويعود ارتفاع نسبة الحموضة إلى زيادة النشاط الجرثومي الذي يؤدي بدوره إلى ارتفاع الأحماض العضوية وهذه الزيادة لاتؤثر في رقم pH ويعود السبب في ذلك إلى طبيعة هذا الوسط وانخفاض معدل التأين في الأحماض العضوية ووجودها غالباً بصورة غير متأينة يجعل دخولها إلى الخلية أسهل مما يؤدي إلى خفض حموضة السيتوبلازما وتخريبها. وهذا ما توافق مع نتائج الباحثين 1984 ،Drzazga و 1986 ،Horubawa. كما أشارت النتائج في الجدول السابق الى عدم وجود تأثير معنوي لعملية البسترة في تركيز ثنائي الأستيل ، بينما لوحظ وجود تأثير معنوي لعملية التخزين في تركيز ثنائي الأستيل في عصير التفاح المبستر وغير المبستر و المخزنين على حرارة 20°م لمدة ثلاثة أشهر، حيث ارتفع تركيز ثنائي الاستيل بزيادة درجة حرارة وزمن التخزين ، فقد وصل تركيز ثنائي الاستيل في الشهر الثالث من التخزين في عينات عصير التفاح المبستر الى 3.107 جزء في المليون.

2- دراسة تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح:

يُبين الجدول (2) نتائج دراسة تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح.

الجدول (2): تأثير عملية البسترة والتخزين في المؤشرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح

تأثير البسترة والتخزين والتلقيح ببكتريا حمض اللبن في المؤشرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح

معاملة عصير التفاح	زمن التخزين (شهر)	درجة حرارة التخزين (°م)	العد الكلي للأحياء الدقيقة (خلية/ مل)		
			عد الكلي للأحياء الدقيقة	عد الخمائر والفطور	عد بكتريا حمض اللبن
عصير التفاح المبستر	0	20	10x8	^{2}10x1	10x2
	1	4	^{3}10x8	^{3}10x2	^{2}10x7
		20	^{4}10x1.0	^{3}10x6	^{2}10x3
	2	4	^{4}10X2.1	^{4}10X1.8	^{3}10x1
		20	^{4}10X6.4	^{4}10X2.1	^{3}10x4
	3	4	^{3}10X3.0	^{3}10X1	^{2}10X6.0
		20	^{3}10X8.0	^{3}10X6	^{2}10X7.1
عصير التفاح غير المبستر	0	20	^{3}10X1.0	^{2}10X1	10X2
	1	4	^{4}10X2.1	^{3}10X2	^{3}10X1.1
		20	^{4}10X1.3	^{3}10X9	^{3}10X6.0
	2	4	^{4}10X1.7	^{4}10X1.4	^{3}10X1.5
		20	^{4}10X2.5	^{4}10X2.4	^{3}10X8.4
		4	^{4}10X1.0	^{3}10X1.6	^{2}10 X9

معاملة عصير التفاح	زمن التخزين (شهر)	درجة حرارة التخزين (°م)	العد الكلي للأحياء الدقيقة (خلية/ مل)		
			عد الكلي للأحياء الدقيقة	عد الخمائر والفطور	عد بكتريا حمض اللبن
	3	20	$^{4}10$ X6.0	$^{3}10$X1.1	$^{2}10$X9.5

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) وجود انخفاض في عدد الأحياء الدقيقة (العد الكلي، عد الخمائر والفطور وعد بكتريا حمض اللبن) وذلك بدءاً من الشهر الثاني من التخزين في درجتي حرارة التخزين (4 و 20°م)، حيث انخفضت بالنسبة للعد الكلي من 2.1 x 10^{4} إلى 3.0 x 10^{3} لعصير التفاح المبستر المخزن على درجة حرارة 4°م ومن 1.7 x 10^{4} إلى 1 x 10^{4} لعصير التفاح غير المبستر والمخزن على درجة حرارة (4°م)، كما أشارت النتائج المبينة في الجدول (2) إلى حدوث انخفاض مماثل في تعداد الخمائر والفطور في كل من عصير التفاح المبستر وغير المبستر بدءاً من الشهر الثاني على درجتي حرارة التخزين (4 و 20°م)، وبالنسبة لبكتريا حمض اللبن بدأ تعدادها بالانخفاض في كافة الأوساط الزرعية بدرجتي حرارة التخزين (4 و 20°م) بدءاً من الشهر الثالث (Wagner *et al.*, 2005).

3- دراسة تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Lactobacillus plantarum* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر:

يُبين الجدول (3) نتائج دراسة تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Lactobacillus plantarum* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر .

الجدول (3): تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Lactobacillus plantarum* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر

معاملة عصير التفاح	التخزين		نسبة المواد الصلبة الذائبة (%)	درجة الحموضة (pH)	نسبة الحموضة (%)	تركيز ثنائي الأستيل (ppm)
	زمن (شهر)	درجة الحرارة				

0.603±0.006[a]	3.203±0.006[a]	3.915±0.004[a]	19.967±0.057[a]	20	0	عصير التفاح المبستر
1.333±0.015[b]	3.123±0.012[b]	3.953±0.002[a]	18.533±0.058[b]	4	1	
2.103±0.005[c]	3.107±0.012[c]	3.963±0.003[a]	18.133±0.153[c]	20		
1.657±0.006[d]	3.147±0.015[d]	3.930±0.003[a]	18.433±0.059[b]	4	2	
2.877±0.015[e]	3.177±0.016[e]	3.919±0.002[a]	17.033±0.058[d]	20		
1.443±0.011[f]	3.207±0.011[a]	3.912±0.005[a]	18.133±0.115[c]	4	3	
3.107±0.006[g]	3.077±0.006[f]	3.981±0.001[a]	16.233±0.056[e]	20		
0.707±0.008[h]	3.177±0.007[e]	3.890±0.002[ab]	18.233±0.058[c]	20	0	عصير التفاح المبس Plantarum
1.817±0.012[i]	3.103±0.009[c]	3.951±0.345[a]	18.467±0.115[b]	4	1	

2.197±0.011^{g}	3.307±0.004^{g}	3.322±0.001^{c}	16.767±0.055^{f}	20		
1.803±0.016^{i}	3.063±0.010^{f}	3.921±0.002^{a}	19.433±0.052^{g}	4	2	
2.103±0.012^{c}	3.307±0.008^{g}	3.740±0.004^{bd}	18.167±0.059^{c}	20		
1.010±0.017^{k}	3.370±0.011^{h}	3.661±0.001^{d}	18.267±0.056^{c}	4	3	
1.943±0.021^{l}	3.317±0.009^{g}	3.731±0.005^{d}	16.567±0.153^{h}	20		
0.01807	0.01390	0.15424	0.14599	LSD		

تدل الأحرف المتشابهة في العمود على عدم وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة 5%

أشارت النتائج في الجدول (3) إلى وجود تأثير معنوي لعملية تلقيح عصير التفاح المبستر ببكتريا *Lactobacillus Plantarum* في خفض تركيز المادة الصلبة الذائبة في عصير التفاح المبستر والملقح الى18.233%، كما بينت النتائج حدوث انخفاض معنوي في تركيز المادة الصلبة الذائبة لعصير التفاح المبستر والمبستر الملقح بتاثير مدة التخزين لمدة ثلاثة اشهر على درجتي حرارة 4°م و 20°م ، كما أشارت النتائج الى وجود تاثير معنوي على درجتي حرارة 4°م و 20°م في خفض تركيز المادة الصلبة الذائبة للعصير المخزن، مع ملاحظة انخفاض المؤشر المدروس مع ارتفاع درجة حرارة ، حيث بلغ ادنى تركيز في الشهر الثالث من التخزين في عصير التفاح المبستر (16.233%)، وكما بينت النتائج في الجدول السابق عدم وجود تأثير معنوي لعملية تلقيح عصير التفاح المبستر في رقم pH العصير ودرجة حموضته ، بينما لوحظ تذبذب في قيم ال pH ودرجة حموضة العصير المخزن على درجتي حرارة 4°م و 20°م لمدة ثلاثة أشهر، كما اشارت النتائج في الجدول السابق الى وجود ارتفاع معنوي

في تركيز ثنائي الأستيل في عصير التفاح المبستر بتاثير التلقيح ببكتريا *Lactobacillus Plantarum*، حيث بلغ 0.707 جزء في المليون في العصير الملقح ، كما لوحظ وجود تأثير معنوي لعملية التخزين لعصير التفاح المبستر و المبستر الملقح وذلك لمدة ثلاثة أشهر وعلى درجتي حرارة 4°م ، 20°م في تركيز ثنائي الاستيل في العصير المخزن ، مع ملاحظة ارتفاع تركيز ثنائي الاستيل بزيادة درجة حرارة ومدة التخزين ، حيث لوحظ ارتفاع بتركيز ثنائي الاستيل الى3.107 جزء في المليون في عصير التفاح المبستر المخزن لمدة ثلاثة أشهر وعلى درجة حرارة 20°م، في حين لوحظ انخفاض بتركيز ثنائي الاستيل في عصير التفاح الملقح المخزن بزيادة زمن التخزين حيث بلغ 1.943 في الشهر الثالث من التخزين، ربما يعود هذا الانخفاض الى قدرة الاحياء الدقيقة الموجودة الى تحويل ثنائي الاستيل الى مشتقات أخرى

.(Burbianka، 1983)

4- دراسة تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Leuconostoc mesenteroides* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر:

يُبين الجدول (4) نتائج دراسة تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Leuconostoc mesenteroides* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر.

الجدول (4): تأثير عملية التلقيح ببكتيريا *Leuconostoc mesenteroides* والتخزين في المؤشرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر

معاملة عصير التفاح	التخزين		نسبة المواد الصلبة الذائبة (%)	درجة الحموضة (pH)	نسبة الحموضة (%)	تركيز ثنائي الأستيل (ppm)
	زمن (شهر)	درجة الحرارة				
عصير التفاح المبستر	0	20	19.967±0.057[a]	3.915±0.004[a]	3.203±0.006[a]	0.603±0.006[a]
	1	4	18.533±0.058[bj]	3.953±0.002[a]	3.123±0.012[b]	1.333±0.015[b]
		20	18.133±0.153[c]	3.963±0.003[a]	3.107±0.012[c]	2.103±0.005[c]
	2	4	18.433±0.059[bcd]	3.930±0.003[a]	3.147±0.015[d]	1.657±0.006[d]
		20	17.033±0.058[e]	3.919±0.002[a]	3.177±0.016[e]	2.877±0.015[e]
	3	4	18.133±0.115[c]	3.912±0.005[a]	3.207±0.011[a]	1.443±0.011[f]
		20	16.233±0.056[f]	3.981±0.001[a]	3.077±0.006[f]	3.107±0.006[g]
عصير التفاح المبستر Leuconostoc	0	20	18.267±0.058[bcgi]	3.890±0.002[ab]	3.177±0.007[e]	0.707±0.008[h]
	1	4	18.433±0.051[bck]	3.951±0.345[a]	3.103±0.009[c]	1.617±0.007[i]

1.653±0.046^{j}	3.307±0.004^{g}	3.322±0.001^{c}	18.533±0.635^{dgjkl}	20		
1.493±0.012^{k}	3.063±0.010^{f}	3.921±0.002^{a}	19.467±0.056^{h}	4	2	
1.713±0.017^{l}	3.307±0.008^{g}	3.740±0.004^{bd}	19.367±0.053^{h}	20		
0.837±0.012^{m}	3.370±0.011^{h}	3.661±0.001^{d}	18.433±0.057^{bcil}	4	3	
0.903±0.015^{n}	3.317±0.009^{g}	3.731±0.005^{d}	16.500±0.100^{f}	20		
0.02594	0.01390	0.15424	0.31077	LSD		

تدل الأحرف المتشابهة في العمود على عدم وجود فرق معنوي عند مستوى دلالة 5%

أشارت النتائج في الجدول (4) إلى وجود تأثير معنوي لعملية تلقيح عصير التفاح المبستر ببكتريا *Leuconostoc mesenteroides* في خفض تركيز المادة الصلبة الذائبة للعصير الملقح ، حيث بلغ 18.267%، كما اشارت النتائج الى وجود تاثير معنوي لمدة ودرجة حرارة التخزين في خفض تركيز المادة الصلبة الذائبة للعصير المخزن ، اذ بلغ تركيز المادة الصلبة الذائبة 16.233% في الشهر الثالث من التخزين على درجة حرارة 20°م ، وكما لوحظ من النتائج عدم وجود تأثير معنوي لعملية تلقيح عصير التفاح المبستر في قيم ال pH ، كما لوحظ عدم وجود تاثير معنوي لعملية التخزين في قيم ال pH عصير التفاح المبستر المخزن، في حين لوحظ وجود تاثير معنوي لزمن ودرجة حرارة التخزين في رقم pH عصير التفاح المبستر الملقح المخزن ، وكما أشارت النتائج في الجدول السابق الى وجود تأثير معنوي لعملية التلقيح في النسبة المئوية للحموضة لعينات عصير التفاح المبستر، حيث انخفضت الحموضة في عينات عصير التفاح المبستر الى 3.177، كما اشارت النتائج الى وجود تأثير معنوي

لزمن ودرجة حرارة التخزين في درجة الحموضة لعصير التفاح المبستر والمبستر الملقح والمخزنين على درجة حرارة 20°م لمدة ثلاثة أشهر، حيث وصلت ادنى قيمة الى 3.077 بالشهر الثالث من التخزين لعصير التفاح المبستر، كما اشارت النتائج الى وجود تأثير معنوي لعملية التلقيح في تركيز ثنائي الأستيل لعينات عصير التفاح المبستر، حيث ارتفع تركيز ثنائي الاستيل الى 0.707 جزء في المليون، كما أظهرت النتائج في الجدول (4) وجود تأثير معنوي لعملية التخزين في تركيز ثنائي الأستيل في عصير التفاح المبستر و المبستر الملقح والمخزنين على درجة حرارة 20°م لمدة ثلاثة أشهر، حيث ارتفع تركيز ثنائي الاستيل بزيادة درجة حرارة وزمن التخزين ، حيث وصل تركيز ثنائي الاستيل في الشهر الثالث من التخزين في عينات عصير التفاح المبستر الى 3.107جزء في المليون (Speckman and Collins ، 1968).

الاستنتاجات

1- لوحظ انخفاض كبير لتشكل ثنائي الاستيل في عصير التفاح المبستر في ظروف تخزين على درجة حرارة 4°م بالإضافة الى الحد من التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية قدر الإمكان.

2- لوحظ انخفاض في مواصفات عصير التفاح المخزن نتيجة ارتفاع تركيز ثنائي الاستيل ولاسيما عند التخزين بدرجة حرارة 20°م وبالتالي عدم صلاحيته للتخزين لمدة تتجاوز ثلاثة أشهر.

3-أدت عملية تلقيح عصير التفاح المبستر الى خفض تركيز ثنائي الاستيل خلال التخزين لمدة 3أشهر على درجتي حرارة 4°م و 20°م.

المقترحات

1- تخزين عصير التفاح بتراكيز أعلى للمحافظة على صلاحيته للاستهلاك خلال مدة تخزين أطول.

2- إجراء دراسة تأثير بكتريا حمض اللبن (*Lactobacillus Plantarum*)و (*Leuconostoc mesenteroides*) في عصير التفاح ومنتجاته غير المبسترة.

المراجع

المراجع العربية:

-قطنا، هشام،(1978). ثمار الفاكهة (انتاجها وتداولها وتخزينها).

- مرعي، عبد الوهاب، (1997). مخطوطة كتاب فساد الاغذية (جامعة دمسق – كلية الزراعة).

-سفر، عادل، مرعي، عبدالوهاب،(1994) مخطوطة كتاب فساد الاغذية (جامعة دمسق – كلية الزراعة).

المراجع الاجنبية:

- AOAC, (2014). Official Methods of Analysis, 15 ed 22.060. AOAC Washington D.C.U.S.A.

-Beech, F., M.F. Kieser and A. Polland, (1965). Der Einfluss der Lagertemperatur auf die Qualitat von Apfelsaft-koncentraten. Flus-siges Obst., 1:18.

- Burbianka, M. (1983). POLAND. Mikrobiologia Zywnos ci – Warszawa.

-Downing, D.L. (1989). Apple cider. In: Downing, D.L. (Ed.) Processed apple products. 169-188. New York: Van Nostrand Reinhold.

- Dianne, H.(2019) "Checkup on Health: Apples offer some surprising health www.health.ucdavis.edu, Retrieved 17-10.

-Drzazga, B.(1984). Analiza techniczna w przetworstworstwie I warzyw Copyright by Wydwnictwa Szkolne I pedagoiczne Warszawa- Poland.

-Goll, J. (1988). Ilosciowe I Jakosciowe Zmiany mikroflory w procesie Produkcji I Przechowywania Koncentratu Jablkowego, Praca magisterska SGGW, A.R., Warszawa, Poland.

-Grzybowski, R. and Warowna, K.(1991). Badanie Wplywu niektorych czynnikow na poziom dwuacetylu w zageszczonych sokach cytrusowych, Przem. Spoz., 5/6: 143, Warszawa, Poland.

-Joshi, V.K. and Sharma, S. (2009). Cider Vinegar: microbiology, technology and quality. In: Solieri, L., Giudici, P. (Ed.) Vinegars of the World. 197–207. Italy: Springer-Verlag.

-Horubawa, A. (1986). Essential Food Reservation, Lublin, Poland.

- Hugenholtz J., Starrenburg M. J. C. (1992) Diacetyl production by different strains of Lactococcus lactis subsp. lactis var. diacetylactis and Leuconostoc ssp. Appl. Microbiol. Biotechnol. 38:17–22.

- Hugenholtz J.(1993) Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 12:165–178.

- Jay, J. M. (2000). Modern food microbiology. pp. 120 "OSHA begins rule on diacetyl". Chemical and Engineering News. 87 (4): 24. January 26, 2009.

-Konja, G. and Lovric, T. (1993). Berry Fruit Juices. In Fruit Juices Processing Technology.

- Marvin, L.and J. Speck. (1976). Compendium of methods for the microbilogical examinationof food. Amercan Puplic Helth Asso-ciation, Washington.

- Merai, A. (1991). Microbiological and chemical chang of apple juice processing and apple juice concentrate during reservation SGGW-AR, Warso, Poland.

- Sobezak, E. (1991). Food Microbiology and Technology. Szkowa Gwowna Gospodarstwa Wiejskiego- Akademia Roinictwo, Warso, Poland.

- Sobczak, E. and siuchninsk, U. (1983). Influence of Microbes and temperature in chemical change of apple juice reserveved, chem.,ferm, 4:30, Warso, Poland.

-Speckman, R. A.; Collins, E.B. (1968). "Diacetyl biosynthesis in Streptococcus diacetilactis and Leuconostoc citrovorum" J. Bacteriol. vol. 95, p. 174-80.

- Swindell S. R.,Benson K. H., Griffin H. G., Renault P., Ehrlich S. D., Gasson M. J.(1996) Genetic manipulation of the pathway for diacetyl metabolism in Lactococcus lactis. Appl. Environ. Microbiol. 62:2641-2643.

- Wagner, N; Hon Tran, Q; Richter, H; Selzer, PM and Unden, G. (2005). Pyruvate fermentation by OEnococcus oeni and Leuconostoc mesenteroides and role of pyruvate dehydrogenase in anaerobic fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 71, 4966-4971.

-Weiss, J., H. Sama, R. Jasenek, (1973). Zeit und lager- temperaturabhangie veranderungen sensorischer und nichtesensorischer qualitatts – erkamale VoV Apfel-saftkonentraten. Mitt klosternuburg, 5/6: 367.