

إنتاج عصير رمان حيوي مخمر باستخدام البكتيريا اللبنية: تأثير**تركيز البادئ ودرجة حرارة التخمير**

طالبة الدراسات العليا: م. تقوى ناصر

بإشراف: د. نسرين البيطار + د. بدور عجيب

المخلص

في ظل التوجه المتزايد نحو الأغذية الوظيفية والمشروبات المدعمة بالبروبيوتيك، هدف هذا البحث إلى تطوير عصير رمان وظيفي مخمر باستخدام مزيج من بكتيريا حمض اللبن (*Lactobacillus delbrueckii* و *Streptococcus thermophilus*)، من خلال دراسة تأثير تركيزين من البادئ البكتيري 8%-6% تحت ثلاث درجات حرارة تحضين مختلفة 30°م و 35°م و 37°م. تم تقييم التغيرات في التركيب الكيميائي والمؤشرات الوظيفية للعصير بعد التخمير، بما في ذلك الرقم الهيدروجيني، الحموضة الكلية، تركيز حمض اللبن، الفينولات الكلية، واللون، إضافة إلى الكفاءة الحيوية للبكتيريا المستخدمة. أظهرت النتائج أن كلاً من التركيز ودرجة الحرارة لهما دور حاسم في تعزيز النشاط الميكروبي وتحسين المؤشرات الوظيفية للعصير، حيث أظهرت معاملات 8% و 37°م أعلى فعالية تخميرية من حيث إنتاج الحموض العضوية إذ بلغ تركيز حمض اللبن 82 ملغ/100مل والفينولات 797.11 ملغ مكافئ من حمض الغاليك/لتر واستقرت الحموضة عند 1.6%. كما تؤكد هذه النتائج إمكانية إنتاج عصير رمان وظيفي عالي الجودة من خلال ضبط دقيق لظروف التخمير.

الكلمات المفتاحية: عصير رمان حيوي- البكتيريا اللبنية - تخمير ميكروبي - أغذية وظيفية - المركبات الحيوية.

Production Fermented Bio-Pomegranate Juice Using Lactic Acid Bacteria: Effect of Starter Culture Concentration and Fermentation Temperature

Abstract

In light of the growing global trend toward functional foods and probiotic-enriched beverages, this study aimed to develop a fermented Bio-pomegranate juice using a mixed starter culture of *Lactobacillus delbrueckii* and *Streptococcus thermophilus*. The effects of two inoculum concentrations 6% and 8% under three incubation temperatures (30, 35, and 37) °C were investigated. Changes in the chemical composition and functional attributes of the juice were evaluated after fermentation, including pH, total acidity, lactic acid concentration, total phenolics, color, and bacterial viability. The results revealed that both inoculum concentration and temperature played a critical role in enhancing microbial activity and improving the functional quality of the juice. The treatments at 8% and 37°C showed the highest fermentation efficiency in terms of organic acid production, with lactic acid concentration reaching 82 mg/100 mL and total phenolics amounting to 797.11 mg gallic acid equivalents/L, while acidity stabilized at 1.6%. These results confirm the possibility of producing a high-quality Bio-pomegranate juice through precise control of fermentation conditions.

Keywords: Bio-Pomegranate juice - Lactic acid bacteria - Microbial fermentation - Functional foods - Bioactive compounds.

أولاً: المقدمة والدراسة المرجعية:

شهدت صناعة الأغذية تحولاً كبيراً في تركيز الابتكارات نحو تطوير وظائف جديدة للأغذية، حيث أدى تفضيل عدد متزايد من المستهلكين للأغذية الخالية من المواد المضافة إلى تسريع تطوير وتسويق العديد من المنتجات الجديدة التي تُعرف بالأغذية الوظيفية. وتُعرف الأغذية الوظيفية بأنها الأطعمة التي تؤثر بشكل إيجابي في وظائف محددة في جسم الإنسان، مما يترتب عليه فوائد صحية متنوعة تشمل أساساً البروبيوتيك، البريبايوتكس، والمركبات التكافلية الحديثة. إذ تمثل منتجات الألبان، مثل الجبن والحليب المخمر واللبن الرائب، المصادر التقليدية الرئيسية للبروبيوتيك، غير أن ظهور بعض القيود مثل احتواء الحليب على الكوليسترول، وحالات عدم تحمل اللاكتوز، وحساسية الألبان، دفع الباحثين نحو البحث عن ركائز بديلة للبروبيوتيك. ومن هنا، تم اقتراح استخدام مصادر غذائية مختلفة كحاملات للبروبيوتيك، بما في ذلك الحبوب والخضروات والفواكه، سواء في صورها المخمرة أو غير المخمرة. وفي هذا السياق، تُعتبر عصائر الفاكهة من الركائز الواعدة والجذابة، وذلك لتمييزها بقيمة غذائية عالية، وتأثيرات صحية إيجابية، بالإضافة إلى قبولها الواسع من قبل المستهلكين على مستوى العالم. وقد تم فحص وتقييم العديد من عصائر الفاكهة من حيث قابليتها لاستخدامها كحاملات للبروبيوتيك مع الحفاظ على فعاليتها خلال عمليات التخمر اللبني. ففي هذا المقال سيتم تناول دراسة شاملة عن امكانية توظيف عصير الرمان كحامل بروبيوتيك. [1]

تمحورت الدراسة الحالية حول محورين رئيسيين: المحور الأول يتعلق بأسباب اختيار عصير الرمان كركيزة للتخمر اللبني وذلك لكون الرمان (*Punica granatum*) هو ثمرة قديمة ذات قيمة غذائية عالية، تُزرع في مناطق البحر الأبيض المتوسط وجبال الهيمالايا جنوب وشرق آسيا ويتكون الرمان من ثلاث أجزاء أساسية تشريحية وهي اللب، والغلاف العصيري، والبذور. يُعتبر عصير الرمان المصدر الرئيسي للمركبات النشطة حيوياً خاصة الفينولات والفلافونويدات، التي

تُعد المسؤولة عن الخصائص الوظيفية والمضادة للأكسدة. ومن هنا تأتي أهمية الفواكه الغنية بمضادات الأكسدة، إذ أظهرت الدراسات ارتباطاً إيجابياً بين استهلاك الفواكه وانخفاض معدلات الإصابة ببعض الأمراض المزمنة كأمراض القلب والسرطان. لذا يُعتبر عصير الرمان مصدراً طبيعياً غنياً بمضادات الأكسدة، مما يجعله خياراً مناسباً كركيزة للتخمير اللبني. [2] أما المحور الثاني يركز على اختيار سلالات البكتيريا اللبنية المستخدمة في تخمير عصير الرمان، مع شروط عملها وتأثيرها على جودة المنتج النهائي. إذ أُجريت العديد من الدراسات ضمن هذا المحور بهدف تحديد واختيار سلالات البكتيريا اللبنية المضافة لعصير الرمان مع شروط عملها وإضافتها حيث يمكن أن يتأثر نموها بمجموعة من الظروف المختلفة مثل درجة الحرارة أو الرقم الهيدروجيني أو تركيز الأكسجين أو نشاط الماء. علماً أن درجة الحرارة ودرجة الحموضة المثلى لنموها هي 30-40°م و 5.5-6.2 على التوالي. ومع ذلك، فإن جنس *Lactobacillus* متنوع ويمكن أن تنمو البكتيريا المنتمية إليه في درجة حرارة 30-40°م ودرجة حموضة تتراوح بين 4.5 و 6.5، ويمكن لبعض السلالات أن تنمو في درجة حموضة أقل من المعتادة. [3]

الدراسات المرجعية التي أُجريت ضمن هذا المحور:

قام الباحث [4] باستخدام كل من السلالات التالية على حدى:

Lactobacillus acidophilus - *Lactobacillus plantarum* -

Lactobacillus delbrueckii

حيث تم حقن عصير الرمان مع نسبة من عصير kokum بالبكتيريا السابقة كل على حدى وذلك بتركيز $C \geq 10^6$ (خلية مستعمرة/مل) بنسبة إضافة 5% (حجم/حجم) فكانت النتائج على النحو التالي: أبدى العصير قبول عام لدى المستهلكين من الناحية الحسية والتغذوية وخصوصاً عند استخدام سلالة *Lactobacillus plantarum* التي أعطت أفضل تقييم من حيث محتوى

الفينولات والحموض العضوية وفيتامين C, E, A. لكن عند خلط عصير الرمان مع عصير Kokum كان العصير مستساغاً للمستهلكين من ناحية الطعم والنكهة والرائحة دوناً عن اللون. بينما قام الباحث [3] باستخدام سلالة *Lactobacillus casei* بمفردها وبتركيز $10^6 \geq C$ (خلية مستعمرة/مل) دون تحديد نسبة إضافة تذكر وتم تخمير عصير الرمان عند درجة حرارة 37°C ولمدة 72 ساعة، حيث ثبت أنه يمكن للسلالة البقاء على قيد الحياة في نهاية التخمير مع إعطاء مواصفات حسية وقيمة تغذوية عالية من مضادات أكسدة. ودرس [5] إمكانية توظيف سلالة *Lactobacillus plantarum* في تخمير عصير الرمان وذلك بتركيز 10^{8-8} (خلية مستعمرة/مل) وبنسبة إضافة 1% وبشروط تخميرية 30°C ولمدة 24 ساعة، فكانت النتائج مرضية للمستهلكين والسبب يعود لقوة البادئ المستخدم في تعزيز مضادات الاكسدة وخصوصاً الفينولات.

وقياساً على ما سبق وضح الباحث [6] إمكانية استخدام السلالات التالية منفردة:

Lactobacillus acidophilus - *Lactobacillus plantarum* -

Lactobacillus delbrueckii - *Lactobacillus paracasei*.

كبادئ حقن ضمن عصير الرمان وذلك بتركيز 10^7 (خلية مستعمرة/مل) وبنسبة إضافة 10% وعند شروط تخميرية 30°C ولمدة 72 ساعة وهذا ما زاد من القيمة التغذوية لعصير الرمان المستخدم. كما أنجز الباحث [7] بحثاً درس فيه قابلية سلالة *Lactobacillus plantarum* بنوعيتها: PoM₁, C₂ المعزولة من البندورة والجزر في تخمير عصير الرمان عند الشروط التالية: 30°C ولمدة 120 ساعة وذلك بنسبة 4% (حجم/حجم) وبتركيز 10^7 (خلية مستعمرة/مل)، إذ لوحظ ثباتية عالية لتركيز مضادات الاكسدة وعدد المستعمرات الموجودة في العصير المخمر.

وتبين أيضاً مع الباحثة [8]: إمكانية اعتماد سلالة *Lactobacillus plantarum* كبادئ تخمر لبني بشروط تخميرية: 37°م ولمدة 24 ساعة وذلك بنسبة إضافة 1% وتركيز 4×10^7 (خلية مستعمرة/مل)، حيث أبدى عصير الرمان المخمر فعالية كبيرة تجاه الميكروبات الضارة نتيجة الأثر الفعال لمضادات الاكسدة المنتجة بفعل *Lactobacillus plantarum*. بالمقابل تم تطبيق دراسة عملية من قبل باحثة هندية [9] في جامعة بارباهاني Parbahani حيث قامت باستخدام مزيج من البكتيريا اللبنية بتركيز 10^9 (خلية مستعمرة/مل) وينسب إضافة مختلفة : 6%-8%-10% وبنسبة مزج 1:1 من: *Lactobacillus plantarum* و *L. bulgaricus* في تخمير عصير الرمان عند 37°م ولمدة 7 ساعات. فكانت النتائج على النحو التالي: أبدت نسبة الإضافة الأعلى من البادئ ذي التركيز المذكور أفضل النتائج من حيث استقلاب كل من الغلوكوز والفركتوز الى حمض لبن وإنتاج مضادات أكسدة معززة للقيمة التعذوية.

ثانياً: هدف البحث:

هدف هذا البحث إلى دراسة وتقييم تأثير متغيري تركيز البادئ البكتيري ودرجة حرارة التخمر في الخصائص الكيميائية والوظيفية لعصير رمان حيوي عالي الجودة، يتميز بثبات بيولوجي وكيميائي مُحسن قادر على تقديم فوائد صحية مُستدامة من خلال الاستخدام الفعال للبكتيريا اللبنية.

ثالثاً: مواد وطرائق البحث: أُجري هذا البحث في مخابر كلية الهندسة الكيميائية والبتروليّة قسم الهندسة الغذائيّة في جامعة حمص وفي مختبرات ميديكو للصناعات الدوائية.

المواد الأولية:

- الرمان

تم تأمين الرمان البلدي من الصنف الحلو من مدينة صافيتا.

• البادئ:

تم استخدام بادئ بكتيريا حمض اللبن (بروبيوتيك) مجفد من شركة الأمانة

للمضافات الغذائية -حسياء، والمستورد بالأصل من شركة BIOTEC

الأمريكية والمحفوظ بدرجة حرارة 18-°م، وبالتركيبية التالية:

Lactobacillus delbrueckii - *Streptococcus thermophiles*

تحضير عصير الرمان الطبيعي: تم غسل الثمار وتقطيعها وفرط البذور يدوياً وعصرها ميكانيكياً ومن ثم تصفية العصير باستخدام مصفاة متقببة من الستانلس ستيل ذات قطر ثقوب 2 مم، وتم بعدها ترويق العصير الناتج بالطريقة التقليدية (الترييد) والحصول على عصير رائق موجه للبيسترة على درجة حرارة 90°م ولمدة 30 ثانية ومن ثم التبريد. [10] وبعدها تمت زراعة العصير المبستر على أوساط التعداد العام TSA- SDA للتأكد من كفاءة عملية البيسترة وضمان عدم وجود أي تلوث أولي يؤثر لاحقاً على تخميره.

تحضير بادئ الحقن: تم تنشيط بكتيريا حمض اللبن من جنس:

Streptococcus thermophiles و *Lactobacillus delbrueckii*

عند درجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة وفق [9] وينسب إضافة وزنية (وزن/حجم) 6%-8% وذلك باستخدام عصير رمان مبستر ذو رقم حموضة معدل باستخدام محلول كربونات الصوديوم 10%. [11] المغلي والمرشح باستخدام ورق ترشيح واتمان تجبناً لأي تأثير ثانوي على المواصفات الحسية لعصير الرمان وظهور رواسب، إذ أُجري هذا التعديل بهدف تأمين ظروف مناسبة لنشاط بكتيريا اللبن عند رقم حموضة 4.5. [3]

تحضير عصير الرمان الوظيفي المدعم بالبروبيوتيك: تم تحضير عصير الرمان الوظيفي وذلك من خلال حقن العصير المبستر مسبقاً بالبادئ المنشط وبنسب إضافة حجمية 6%-8% (حجم/حجم) وبعدها يوجه للتخمر ضمن حاضنات خاصة من نوع (Memmert-Heraeus-Ehret) وعلى درجات حرارة مختلفة ضمن مجال عمل البكتيريا اللبنية المضافة، فقد خُمر عند ثلاث درجات حرارة 30°م و 35°م و 37°م. وبهذا نكون حصلنا على 6 عينات من عصير الرمان الوظيفي المدعم بالبروبيوتيك.

طرائق التحليل:

- **تقدير المواد الصلبة الذائبة الكلية Brix:** قدرت المادة الصلبة المنحلة باستخدام جهاز قياس قرينة الانكسار Kruss وعند درجة حرارة 20°م، وبمعدل ثلاث مكررات لكل عينة من العينات. [12]
- **تقدير اللون:** تم قياس اللون باستخدام جهاز Spectrophotometer في مختبرات ميديكو الذي يقوم بقياس شدة الضوء أي قياس كثافة الضوء بدلالة اللون (الطول الموجي) وذلك عن طريق قياس الامتصاصية للعينة حيث يعتمد امتصاص العينة للضوء على كثافة لون العينة الذي يعتمد على كثافة المادة المذابة. تم تقدير اللون مع بعض التعديلات حيث تم اجراء التمديد لكل من عينات عصير الرمان بالميتانول للحصول على الامتصاصية عند طول الموجة المطلوب وتم بعد ذلك ترشيح العينات باستخدام ورق ترشيح واتمان ومن ثم وضع عينة عصير الرمان في خلية الامتصاص المصنوعة من الكوارتز Cuvette بعد أن تم تصفير الجهاز عن طريق خلية الميتانول Cuvette Blank وذلك بجعل قيمة الامتصاص تساوي الصفر. حيث تم اجراء المسح الطيفي لتحديد طول الموجة الموافق للامتصاصية العظمى للعينة λ_{max} في المجال (600-400 نانومتر. [13]

- تقدير رقم الحموضة: تم قياس pH العينات باستخدام جهاز pH-meter نموذج Sartorius PB-11 بدرجة حرارة 20°م. [14]
- تقدير الحموضة الكلية: تم تقدير الحموضة الكلية على أساس حمض الليمون في العصير غير المخمر وعلى أساس حمض اللبن في العصير المخمر من العلاقة الآتية: [14] و [15]

الحموضة الكلية (%) = (الحجم المستهلك من هيدروكسيد الصوديوم $\times 0.1N \times$ الوزن السائد للحمض المكافئ \times معامل التمديد) $\times 100 /$ (حجم العينة)

علمًا أن: 0.064 هو الوزن السائد لحمض الليمون في العصير غير المخمر و 0.090 هو الوزن السائد لحمض اللبن في العصير المخمر.

- **تحديد الفينولات:** تم تحديد كمية المركبات الفينولية وفقا لطريقة فولين- سيوكالتيو عبر تفاعلها مع كاشف فولين- سيوكالتيو Ciocalteu - Folin وهو محلول شديد الاصفرار و غير ثابت في الأوساط القلوية، حيث يتلاشى لونه بسرعة عند قيم pH عالية ودرجات حرارة عالية، كما تتفاعل الفينولات معه بشكل أسرع في الأوساط القلوية ولهذا يضاف محلول قلوي ليتم التفاعل بين العينة والكاشف (محلول فولين) عند رقم حموضة قريب من 10 لمدة (1-2) ساعة عند درجة حرارة الغرفة بعيداً عن الضوء، حيث يتم التفاعل بوجود كربونات الصوديوم (11.5) pH مما يؤمن تشتت المركبات الفينولية ويسهل تخليها عن الإلكترونات وأكسديتها، بينما يرجع الكاشف بدوره نتيجة استقباله للإلكترونات من المركب المعطي (المركب الفينولي) إلى مزيج من أوكسيدي التنغستن والموليبدن (W_8O_{23}, Mo_8O_{23}) فيتحول لون كاشف فولين من اللون الأصفر إلى الأزرق الذي يملك امتصاصية عظمى عند طول الموجة 765 نانومتر. حيثُ يحسب محتوى المركبات الفينولية للعينات بالاستعانة بالمنحنى القياسي وبقيمة امتصاصية العينة، حيث يتم تعويض

- قيمة الامتصاصية للعينة في معاملة المنحني القياسي لحمض الغاليك لإيجاد تركيز المركبات الفينولية في العينة مقدره بعدد ميلي غرامات المكافئة من حمض الغاليك. [16]
- **تقدير حمض الليمون والأسكوربيك:** تم تقدير تركيز كل من حمض الليمون والأسكوربيك باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) وباستخدام العمود الموافق والأكثر شيوعاً C₁₈ (4.6×250) مم وعند طول موجة 210 نانومتر. [17]
- **تقدير حمض اللين:** تم تقدير تركيز حمض اللين باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) وباستخدام العمود الموافق والأكثر شيوعاً C₁₈ (4.6×250) مم وعند طول موجة 200 نانومتر. [18]
- **تقدير السكريات الكلية:** تم تقدير المحتوى الكلي للسكريات باستخدام طريقة الفينول سيلفوريك أسيد (اللونية) اعتماداً على سلسلة عيارية من سكر الجلوكوز وذلك وفق الخطوات الآتية: أضيف إلى كل عينة خام ومعيارية وعينة عصير 50 ميكرو لتر من محلول الفينول بتركيز 80% (وزن/حجم)، ثم تم خلطها في تيار، ثم إضافة 2 مل من حمض الكبريت المركز في تيار، وتركها لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة. وبالتالي، تم تحديد محتوى السكر في العينات غير المعروفة المقدمة باستخدام المنحني القياسي عند امتصاص اللون الأحمر 490 نانومتر. [19]
- **الاختبارات الميكروبيولوجية:**
تحضير وسط التمديد: حضر وسط التمديد وفق المواصفة القياسية الدولية (ISO 6887) بمزج البيبتون مع ملح الطعام بنسبة 1 غ بيبتون و 8.5 غ ملح طعام وتم اكمال الحجم بالماء المقطر حتى 1 لتر حيث ضبطت درجة الحموضة عند (7) pH وعُقم الوسط بدرجة حرارة 121°م لمدة 15 دقيقة.
- **تمديد العينات المدروسة:** حضرت سلسلة التمديدات الأتية للعينات، وذلك في وسط التمديد المحضر سابقاً حيث اعتمد التمديد 10⁻¹ لعينات عصير الرمان.

تحضير أوساط الزرع الجرثومي: استخدم في هذا الاختبار الأوساط التالية والمُحضرة وفقاً لتعليمات الشركة المُنتجة: وسط تريبتون صويا آغار TSA للتعداد العام للبكتيريا، وسط سابوردو ديكستروز آغار SDA للتعداد العام للفطور والخمائر، وسط M17 Agar لتعداد بكتيريا حمض اللبن (المُكورات) ووسط MRS Agar لتعداد بكتيريا حمض اللبن (العصيات).

الزرع الجرثومي:

اتبعت طريقة الزرع السطحي بالنسبة للتعداد العام للبكتيريا وفق المواصفة القياسية الدولية ISO (4833) وكذلك بالنسبة للخمائر والفطور وفق المواصفة القياسية الدولية (7954) ISO. أما بالنسبة لتعداد بكتيريا حمض اللبن استخدمت أيضاً طريقة الزرع السطحي وفق المواصفة القياسية الدولية (4833) ISO.

التحضير: حُضنت الأطباق المزروعة عند درجة الحرارة المناسبة وفق الجدول (1):

الجدول (1): شروط الزرع الجرثومي للبكتيريا والفطور والخمائر [20]

نوع الأحياء الدقيقة	درجة الحرارة	مدة التحضير (يوم)
البكتيريا	37°م	1
الفطور والخمائر	30°م	3

بعد انتهاء فترة التحضير عُدت المستعمرات في الأطباق المُحضنة وحُسب تعداد

الأحياء الدقيقة (خلية مستعمرة/مل) المدروسة في العينات وفق المعادلة التالية :

تعداد الأحياء الدقيقة = متوسط عدد المستعمرات × مقلوب التمديد × معامل التحويل (10)

رابعاً: النتائج والمناقشة:

إنتاج عصير رمان حيوي مخمر باستخدام البكتيريا اللبنية: تأثير تركيز البادئ ودرجة حرارة التخمير

التركيب الكيميائي لعصير الرمان المستخدم: لدى عصر الثمار ودراسة التركيب الكيميائي للعصير الطازج كانت النتائج على النحو التالي:

الجدول (2): التركيب الكيميائي لعصير الرمان الطازج

المؤشر المدروس	قيمة التحليل
الحموضة الكلية	1.28%
pH	3.6
الفينولات الكلية	628.22 ملغ مكافئ من حمض الغاليك/لتر
Brix	13.50%
فيتامين C	4.7 ملغ/لتر
تركيز حمض الليمون	0.14 غ/100مل
اللون(الامتصاصية)	3.7
السكريات الكلية	12.2 غ/100مل

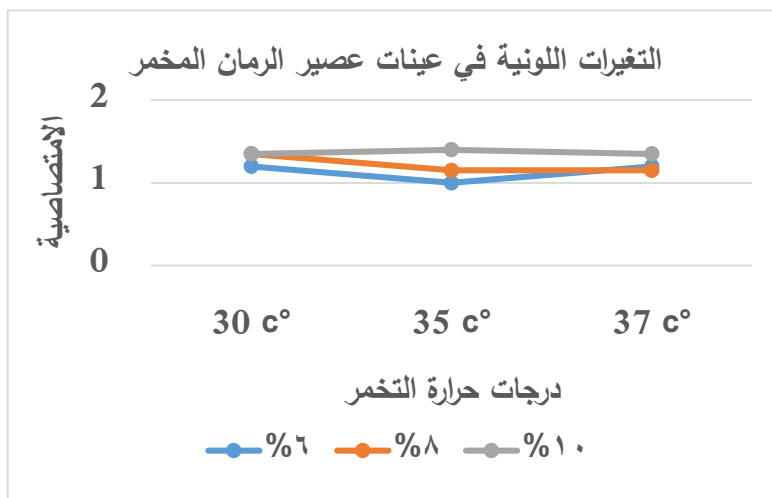
تأثير عملية التخمير اللبني في المواصفات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لعصير الرمان الطبيعي:

تم تخمير عصير الرمان الطبيعي باستخدام بكتيريا حمض اللين عند درجات حرارة مختلفة 30°م و 35°م و 37°م وينسب إضافة مختلفة (6%-8%) ولمدة 24 ساعة.

تأثير عملية التخمير اللبني في المواصفات الفيزيائية لعصير الرمان الطبيعي:

✓ **Brix**: لم يكن هناك أي تغير في المادة الصلبة المنحلة في عينات العصير المخمر 13.5% بالمقارنة مع عينة الشاهد والسبب يعود إلى أن التناقص في السكر نتيجة استهلاك البكتيريا له تم تعويضه بازدياد تركيز حمض الليمون وإنتاجية حمض اللين مما حافظ على استقرار ال Brix وهذا يخالف ما توصلت إليه الباحثة [9] عند تخميرها لعصير الرمان إذ لوحظ انخفاض واضح للمواد الصلبة المنحلة في العصير

مع عدم تزايد لتركيز حمض الليمون في العصير المخمر والسبب يعود لاختلاف التركيب الكيميائي لعصير الرمان واختلاف سلالات البكتيريا اللبنة المستخدمة. ✓ اللون: وبالمقارنة مع عينة الشاهد لوحظ انخفاضاً واضحاً للشدة اللونية بعد التخمر اللبني لعينات عصير الرمان والسبب يعود لانخفاض pH العصير نتيجة تشكل حمض اللبن وبالتالي تدهور في صباغ الانثوسيانين وهذا يتوافق مع الباحثين [11] الذين قاموا بتخمير عصير الرمان عند درجة حرارة 30°م ولمدة 48 ساعة وباستخدام سلالات مختلفة من البكتيريا اللبنة.



الشكل (1): تغير اللون بدلالة الامتصاصية لعينات عصير الرمان المخمر ✓

تأثير عملية التخمير اللبني في التركيب الكيميائي لعصير الرمان الطبيعي:

الجدول (3): التركيب الكيميائي لعينات عصير الرمان المخمر

تركيز بكتيريا اللبن (%)	درجة حرارة التخمير (م°)	pH	الحموضة الكلية (%)	تركيز حمض الليمون (غ/100مل)	الفينولات الكلية (ملغ) مكافئ من حمض الغالليك/لتر)	تركيز حمض اللبن (ملغ/100مل)
6	30	3.55	1.6	1.568	682.6	70
6	35	3.56	1.4	1.539	992.66	76
6	37	3.55	2.0	1.551	650.44	71
8	30	3.60	1.8	1.529	810.44	80
8	35	3.57	1.4	1.578	712.66	81
8	37	3.60	1.6	1.587	797.11	82

ومن الجدول السابق وبالمقارنة مع الجدول (2) التركيب الكيميائي لعصير الرمان الطازج وُجد ما يلي:

- لُوحظ انخفاض طفيف في pH العصير المخمر بالمقارنة مع العصير الطبيعي 3.6 حيث كان أفضل انخفاض لرقم الحموضة عند نسبة الإضافة 6% وذلك عند كل من درجتي حرارة التخمير 37م° و 30م° والسبب يعود لتقارب نسب حمض اللبن المنتج في العصير وهذا يتوافق مع الباحثين [6] الذين قاموا بتخمير عصير الرمان عند 30م° ولمدة 72 ساعة إذ انخفض رقم الحموضة بالمقارنة مع عينة الشاهد بمقدار 0.3 درجة.

- **الحموضة الكلية:**

تم تقدير الحموضة الكلية على أساس الحمض السائد (حمض اللبن) حيث ترافق تزايد الحموضة مع انخفاض رقم الحموضة وتشكل حمض اللبن في العصير المخمر إذ تراوحت من (1.4-2.0) % على أساس حمض اللبن.

- **تركيز حمض الليمون:**

وهنا وُجد تزايد لتركيز حمض الليمون بالمقارنة مع عينة الشاهد غير المخمر وذلك عند تركيز 8% ودرجتي حرارة التخمر 30° م و 37° م وهذا يخالف ما توصل إليه [6] من تناقص لتركيز حمض الليمون المترافق مع تشكل حمض اللبن وذلك عند شروط تخمير مختلفة. ولكن هذا التغير يعزى بأنه عند قيام بكتيريا اللبن بتخمير ركيزة مغايرة للاكتوز تتشكل منتجات ثانوية (حموض عضوية). [21]

- **تركيز حمض اللبن:**

عند إضافة تراكيز عالية من البكتيريا اللبنية كبادئات تخمر لوحظ فروقات طفيفة في إنتاج حمض اللبن حيث كان أفضل تشكل لحمض اللبن عند نسبة إضافة 8% ودرجة حرارة تخمر 37° م إذ أبدت البكتيريا أفضل أداء تخميري لعصير الرمان بوصفه عصيراً وظيفياً. وهذه التراكيز من حمض اللبن لا يمكن مقارنتها مع التراكيز التي توصل إليها الباحثين نظراً لاختلاف التركيب الكيميائي للعصير واختلاف أنماط السلالات وشروط التخمير. [22]

- **الفينولات الكلية:**

أبدت نسبة الإضافة 6% من البكتيريا اللبنية أفضل تحرير للفينولات الكلية في عصير الرمان المخمر وهنا لوحظ تزايد المحتوى الفينولي مع تزايد نسبة البكتيريا اللبنية

المضافة والسبب يعود لنشاطها الأنزيمي المحرر للفينولات المعقدة والمرتبطة مع السكريات. [23] وهذا يتوافق مع ما توصلت إليه الباحثة [9].

تأثير عملية التخمير اللبني في المواصفات الميكروبيولوجية لعصير الرمان الطبيعي:

الجدول (4): التعداد العام للبكتيريا اللبنية في العصير المخمر

تركيز بكتيريا اللبن (%)	درجة حرارة التخمير (°م)	تعداد العصيات (خلية مستعمرة/مل)	تعداد المكورات (خلية مستعمرة/مل)
6	30	60×10^4	2×10^1
6	35	62×10^3	0
6	37	70×10^3	1×10^2
8	30	80×10^2	1×10^2
8	35	88×10^2	7.5×10^1
8	37	40×10^3	2×10^1

من الجدول السابق يتبين أن أفضل نمو لعصيات بكتيريا اللبن كان عند تركيز 6% مع ملاحظة الانخفاض في التعداد العام لها مع زيادة تركيز بكتيريا اللبن المضافة والسبب يعود لتشكيل حمض اللبن وبالتالي تزايد الحموضة مما يؤثر سلباً في نمو عصيات بكتيريا اللبن بالإضافة إلى دور النشاط الأنزيمي للبكتيريا اللبنية في تحرير الفينولات المعقدة [23] وزيادة تركيزها في العصير المخمر كمضاد أكسدة ذو تأثير سلبي على نمو عصيات بكتيريا اللبن وبالترايق مع تأثير واضح لدرجة حرارة التخمير على التنامي حيث وفرت درجة حرارة التخمير 37°م بيئة مثالية لنمو وتكاثر عصيات بكتيريا اللبن عند التراكيز الثلاثة، بينما المكورات العنقودية لم يكن لها

تعداد يُذكر بالمقارنة مع العصيات وتحملها لحموضة عصير الرمان المنخفضة وخصوصاً بعد التخمر. [24]

خامساً: الاستنتاجات والتوصيات:

- أظهرت النتائج أن استخدام 8% بكتيريا لبن ودرجة حرارة 37°م، حقق توازناً مميزاً بين الخصائص الكيميائية والوظيفية للعصير.
- تميز العصير المخمر تحت هذه الظروف بقيمة pH ثابتة عند 3.60 مع حموضة كلية معتدلة 1.6% تعكس بيئة ملائمة لنشاط بكتيريا حمض اللبن مع الحفاظ على الطعم المقبول.
- بلغ تركيز حمض اللبن 82 ملغ/100مل، مما يشير إلى فعالية عالية للتخمير وقدرة على دعم الوظائف الحيوية للعصير.
- سجّل محتوى حمض الليمون 1.587 غ/100مل، وهو ما يعزز النكهة الحمضية الطبيعية ويزيد من استقرار العصير.
- حقق العصير في هذه المعاملة أعلى قيمة من الفينولات الكلية 797.11 ملغ مكافئ من حمض الغاليك/لتر، الأمر الذي ينعكس مباشرة على تعزيز النشاط المضاد للأكسدة ورفع القيمة الصحية للعصير كمنتج غذائي وظيفي.
- أن التخمر باستخدام 8% بكتيريا لبن عند 37°م يعتبر مثالي لإنتاج عصير رمان وظيفي متوازن يجمع بين الخصائص الحسية المقبولة والمركبات الفعالة حيويًا، ما يجعله منتجاً واعدًا قابلاً للتطبيق الصناعي.
- يقترح إجراء المزيد من الأبحاث المستقبلية لتقييم استقرار هذه الخصائص خلال التخزين المُبرّد والعمر الافتراضي للعصير المخمر.

المراجع:

- 1) Oliveira, D. (2021). Advancements in the use of fermented fruit juices by lactic acid bacteria as functional foods: Prospects and challenges of *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum subsp. plantarum* application. *Fermentation*, 8(6), 1–13.
- 2) Anahita, A., Asmah, R., & Fauziah, O. (2015). Evaluation of total phenolic content, total antioxidant activity, and antioxidant vitamin composition of pomegranate seed and juice. *General Medicine*, 3(1), 1–4.
- 3) Kumar, V., Sharma, A., & Singh, R. (2013). Physico-chemical analysis of fresh and probioticated fruit juices with *Lactobacillus casei*. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3), 127–131.
- 4) Shubhada, N., Rudresh, D. L., Jagadeesh, S. L., Prakash, D. P., & Raghavendra, S. (2018). Fermentation of pomegranate juice by lactic acid bacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(8), 4160–4173.
- 5) Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., & Plessas, S. (2019). Potential of the probiotic *Lactobacillus plantarum ATCC 14917* strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods*, 8(4), 1–13.
- 6) Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Kiani, H. (2010). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 261–26.
- 7) Filannino, P., Azzi, L., Cavoski, I., Vincentini, O., Rizzello, C. G., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum L.*) juice through lactic acid fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 160, 184–192.

- 8) Naeem, M. M. M. (2023). Health benefits of pomegranate (peel & juice) and preparation of functional pomegranate drink using probiotic *Lactobacillus plantarum*. *Food Technology Research Journal*, 1(2), 77–91.
- 9) Thakur, M. (2016). *Development of non-dairy probiotic beverage based on pomegranate juice* [Master's thesis, Marathwada Agricultural University].
- 10) الوزير، دريد. (2008). *تقانة الخضار والفواكه*. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة البعث، كلية الهندسة الكيميائية والبتروولية، قسم الهندسة الغذائية.
- 11) Isas, A. S., Escobar, F., Álvarez-Villamil, E., Molina, V., Mateos, R., Lizarraga, E., Mozzi, F., & Van Nieuwenhove, C. (2023). Fermentation of pomegranate juice by lactic acid bacteria and its biological effect on mice fed a high-fat diet. *Food Bioscience*, 53, 102516.
- 12) AOAC International. (2000). *AOAC Official Method 932.14: Solids in syrups*. In *Official methods of analysis of AOAC International* (17th ed.). AOAC International.
- 13) فيتروني، آيات، صادق، شريف، والبيطار، نسرين. (2022). *دراسة التغيرات الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية في عصير الليمون المركز تحت التفريغ عند درجات حرارة مختلفة*. مجلة جامعة البعث، 44(6).
- 14) AOAC International. (2005). *AOAC Official Method 942.15: Acidity (titratable) of fruit products*. In *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International.
- 15) الباقوني، رياض. (2005). *كيمياء الأغذية: القسم العملي*. مديرية الكتب والمطبوعات، جامعة البعث.
- 16) Lamuela-Raventós, R. M. (2018). Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In R. Apak, E. Capanoglu, & F. Shahidi (Eds.), *Measurement of*

- Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications* (1st ed., pp. 107–115).
- 17) Reuter, W. M. (2015). Analysis of organic acids in fruit juices by HPLC and UV detection. *In Liquid Chromatography*. PerkinElmer Inc.
- 18) Zamanova, M. K., Glotova, V. N., Izhenbina, T. N., Krutas, D. S., & Novikov, V. T. (2014). Simultaneous HPLC-UV determination of lactic acid, glycolic acid, glycolide, lactide and ethyl acetate in monomers for producing biodegradable polymers. *Procedia Chemistry*, 10, 244–251.
- 19) Itatiro, M. A. (2013). *Determination of carbohydrates using phenol-sulphuric acid method* (Unpublished practical report No. 4). University of Dar Es Salaam, College of Natural and Applied Sciences, Department of Molecular Biology and Biotechnology.
- 20) صادق، شريف، وكشتعاري، محمود. (2005). علم الأحياء الدقيقة: القسم النظري (ط. 1، 242 صفحة). منشورات جامعة البعث، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية.
- 21) Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: Lights and shadows. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, Article 86.
- 22) Sionek, B., Szydłowska, A., Trzaskowska, M., & Kołożyn-Krajewska, D. (2024). The impact of physicochemical conditions on lactic acid bacteria survival in food products. *Fermentation*, 10(6), 298.
- 23) Pontonio, E., Montemurro, M., Pinto, D., Marzani, B., Trani, A., Ferrara, G., Mazzeo, A., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2019). Lactic acid fermentation of pomegranate juice as a tool to improve antioxidant activity. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1550.
- 24) Campaner Salmazo, G., Dal Molin Filho, R. G., Robazza, W. da S., Schmidt, F. C., & Longhi, D. A. (2023). Modeling the growth dependence of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus*

bulgaricus as a function of temperature and pH. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 323–334.

