



جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم علوم الأغذية

تحديد الشروط المثلى للسلاسل البكتيرية المنتجة للداي استيل وتأثيرها
في جودة عصير التفاح ومنتجاته أثناء التخزين

**The optimal conditions determinatiol of bacterial strains
producing diacetyl and its impact on the quality of
apple juice and its products during storage**

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية
(قسم علوم الأغذية)

إعداد الطالبة
م. هبة فيصل مراد
بإشراف

المشرف المشارك
أ.د. محمد خير طحلة

المشرف العلمي
أ.د. عبد الوهاب مرعي

2016

تصريح

أصرح بأن البحث الموصوف في هذه الرسالة تحت عنوان:

(تحديد الشروط المثلى للسلاسل البكتيرية المنتجة للداي استيل وتأثيرها في جودة عصير التفاح ومنتجاته أثناء التخزين)

لم يسبق أن قدم للحصول على أي درجة علمية جامعية أخرى وغير مقدم حالياً وأن العمل والنتائج المذكورة هي جهودي الشخصية بتوجيه من المشرف العلمي الأستاذ الدكتور عبد الوهاب مرعي والمشرف المشارك الأستاذ الدكتور محمد خير طحلة، وأن أية معلومات أخرى ذكرت في الرسالة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

المرشحة

م. هبة مراد

Declaration

To whom it my concern , I declare That the present research work entitled

(The optimal conditions determinatiol of bacterial strains producing diacetyl and its impact on the quality of apple juice and its products during storage)

Is a new research work , and That has never been studied by any other researchers for any other degree, and currently it is submit Hed by any one for any degree, All the mentioned result are my own efforts and done by the direct supervision Dr. **Abd Alwahab Merai and Dr. Mouhamed Khair Tahle** all the referred literature are cited, and well documented in the list of references

Candidate

E. Heba Mourad

شهادة

نشهد بأن العمل المقدم في هذه الرسالة هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة هبة مراد بإشراف الدكتور عبد الوهاب مرعي - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق، والدكتور محمد خير طحلة - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق.

المشرف العلمي

المشرف المشارك

المرشحة

أ.د. عبد الوهاب مرعي

أ.د. محمد خير طحلة

هبة مراد

Testimony

We witness that the described work in this thesis is the result of scientific research conducted by the candidate Heba Mourad under supervision of **Prof.D.r.Abd Alwahab Merai** at department of food sciences_ Faculty of Agriculture_ Damascus University and **Prof.D.r. Mouhamed Khair Tahle** at department of food sciences_ Faculty of Agriculture_ Damascus University.

Candidate

Co-supervisor

Chairman

Heba Mourad

Dr. Abd Alwahab Merai

Dr.Mouhamed Khair Tahle

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة ، بجامعة دمشق. نوقشت وأجيزت في دمشق بتاريخ 2016 /3/1

لجنة الحكم:

د. محمد محمد- الأستاذ في قسم علوم الأغذية- كلية الزراعة- جامعة دمشق

عضواً

د. عبد الوهاب مرعي- الأستاذ في قسم علوم الأغذية- كلية الزراعة- جامعة دمشق

عضواً مشرفاً

د. جهاد سمعان- المدرس في قسم علوم الأغذية- كلية الزراعة- جامعة دمشق

عضواً

كلمة شكر

أهدي هذا العمل للوطن الغالي سورية متمنية له دوام الأمن
والاستقرار....

كما أتشرف بإهدائه إلى كليتي الهندسة الزراعية وقسم علوم التغذية
من عميد وأساتذة أكارم وأخص بالذكر المشرف العلمي الاستاذ
الدكتور عبد الوهاب مرعي والمشرف المشارك الاستاذ الدكتور
محمد خير طحلق....

أتقدم بجزيل الشكر إلى أهلي الأعزاء الذي كان لهم الفضل الكبير في
إنجاز هذا العمل.....

م. هبة مراد

الفهرس

رقم الصفحة

المقدمة	1
1- الدراسة المرجعية	3
1-1- عصير التفاح	3
1-2- التركيب الكيميائي للتفاح	3
1-3- التركيب الكيميائي والقيمة الغذائية لعصير التفاح	4
1-4- خل التفاح	6
1-5- التركيب الكيميائي لخل التفاح	6
1-6- حفظ منتجات التفاح (عصير، الخل)	7
1-6-1- البسترة	7
1-6-2- الترشيح البارد	7
1-6-3- الكبريتة (Sulphiting)	7
1-6-4- التنقية والتخلص من العكارة	7
1-7- فساد عصير التفاح ومنتجاته	9
1-8- تأثير التخزين على جودة العصائر المركزة	12
1-9- الخمائر والعصير المتخمر	12
1-9-1- مواصفات الخميرة المستخدمة	13
1-10- معالجة عصير التفاح قبل عملية التخمير	13
1-11- الأنزيمات المستخدمة في ترويق عصير التفاح	15
1-12- ثنائي الاستيل	15

16	13-1- اكتشاف ثنائي الاستيل.....
16	14-1- تواجد ثنائي الاستيل
16	1-14-1- ثنائي الاستيل في الأطعمة
16	1-14-2- ثنائي الاستيل في المشروبات الكحولية
17	15-1- إنتاج ثنائي الاستيل
17.....	1-15-1- إنتاج ثنائي الاستيل بواسطة نزع الهيدرجين من 2، 3 بيوتانديول
17.....	2-15-1- إنتاج ثنائي الاستيل بواسطة بكتريا حمض اللبن.....
18.....	3-15-1- إنتاج ثنائي الاستيل في الألبان.....
19.....	4-15-1- إنتاج ثنائي الاستيل في البيرة.....
19	16-1- رأي المعهد الوطني والاتحاد الأوروبي في استخدام ثنائي الاستيل
20	17-1- أسباب خطورة ثنائي الاستيل وسميته
20	18-1- الأمراض التي يسببها ثنائي الاستيل
21	1-18-1- ثنائي الاستيل المنكه في الزبدة والمرتبطة بالزهايمر والمواد الدهنية
22.....	19-1- التعرض والتحكم بثنائي الاستيل
22.....	1-19-1- حدود التعرض
22	2-19-1- الضوابط الادارية
23.....	3-19-1- الممارسات المتبعة لتجنب التعرض لخطر ثنائي الاستيل.....
23	20-1- مبررات البحث
23	21-1- أهداف البحث
24	2- مواد البحث وطرائق العمل
27	3- النتائج والمناقشة

3-1- التغيرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح تركيز 20% المبستر وغير المبستر خلال فترة التخزين (6 أشهر).....	27
3-2- التغيرات الكيميائية لعصير التفاح تركيز 20% المبستر وغير المبستر.....	32
3-3- التغيرات الميكروبيولوجية والكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر خلال فترة تخزين (6 أشهر).....	37
3-3-1- التغيرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر.	37
3-3-2- التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر...	42
3-4: التغيرات الميكروبيولوجية والكيميائية لخل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترة تخزين (6 أشهر)	47
3-4-1- التغيرات الميكروبيولوجية لخل التفاح المبستر وغير المبستر.....	47
3-4-2- التغيرات الكيميائية لخل التفاح المبستر وغير المبستر.....	52
3-5- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح الملقحة بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	57
3-5-1- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح تركيز (20%) الملقحة بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	57
3-5-2- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح المركز (70%) الملقحة بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	61
3-5-3- النتائج الميكروبيولوجية والكيميائية لعينات خل التفاح الملقحة بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	64
4- الاستنتاجات	69
5- المقترحات	70
6- المراجع العربية	71
7- المراجع الأجنبية	72

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
4	التركيب الكيميائي لعصير التفاح	1
5	نسبة وجود السكريات في عصير التفاح الطازج	2
6	التركيب الكيميائي لخل التفاح	3
15	استخدام أنزيمي البكتيناز والأميلاز في عصير التفاح	4
28	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المبستر تركيز (20%) خلال فترة التخزين	5
29	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح غير المبستر تركيز (20%) خلال فترة التخزين	6
33	نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر بتركيز 20% خلال فترة التخزين	7
34	نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح غيرالمبستر بتركيز 20% خلال فترة التخزين	8
38	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المركز (70%) المبستر خلال فترة التخزين	9
39	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المركز (70%) غير المبستر خلال فترة التخزين	10
43	نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبستر خلال فترة التخزين	11
44	نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% غيرالمبستر خلال فترة التخزين	12
48	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في خل التفاح المبستر خلال فترة التخزين	13
49	نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين	14

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
53	نتائج التغيرات الكيميائية لخل التفاح المبستر خلال فترة التخزين	15
54	نتائج التغيرات الكيميائية لخل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين	16
57	تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح بتركيز (20%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i>	17
58	تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح بتركيز (20%) الملقح بـ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	18
61	تأثير زمن وحرارة التخزين على التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i>	19
61	تأثير زمن وحرارة التخزين على التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	20
65	تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لخل التفاح الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i>	21
65	تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لخل التفاح الملقح بـ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	22

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
8	مخطط إنتاج عصير وخل التفاح	1
18	مسارات تدهور حمض الليمون بواسطة بكتريا حمض اللبن	2
19	آلية تشكيل ثنائي الاستيل	3
25	المحلول القياسي لثنائي الاستيل	4
30	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في عصير التفاح المبسترتركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A. و ابيئة PDA	5
30	عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبسترتركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة MRS	6
31	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في عصير التفاح غير المبستر تركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A. و ابيئة PDA	7
31	عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح غير المبسترتركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة MRS	8
35	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المبسترتركيز (20%)	9
35	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح غير المبسترتركيز (20%)	10
36	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبسترتركيز 20%	11
37	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح غير المبسترتركيز 20%	12
40	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في عصير التفاح المركز 70% المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A. و ابيئة PDA	13

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
14	عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة على ابيئة IMRS	40
15	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في عصير التفاح المركز 70% غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A و ابيئة PDA	41
16	عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة IMRS	41
17	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز 70% المبستر	45
18	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز 70% غير المبستر	45
19	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% المبستر	46
20	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% غير المبستر	46
21	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في خل التفاح خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A و ابيئة PDA	50
22	عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة IMRS	50
23	العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A و ابيئة PDA	51
24	عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة IMRS	51
25	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح المبستر	55
26	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح غير المبستر	55

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
27	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر	56
28	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح غير المبستر	56
29	تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبستر (20%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i> بيئة \MRS\	58
30	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	59
31	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i>	60
32	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	60
33	تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i> بيئة \MRS\	62
34	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	63
35	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	64
36	تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i> بيئة \MRS\	66

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
37	تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح المبستر الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i>	67
38	تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر الملقح بـ <i>Lactobacillus plantarum</i> و <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	68

قائمة الاختصارات

الاختصارات	معناها
FAO	منظمة الأغذية والزراعة
WHO	منظمة الصحة العالمية
JEFCA	لجنة الخبراء المشتركة بين منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية
NIOSH	المعهد الوطني الامريكي للصحة والسلامة
FDA	إدارة الغذاء والدواء
OSHA	إدارة الصحة والسلامة المهنية
REL	حد التعرض
TLV	عتبة القيمة الحدية
AOAC	الجمعية الرسمية للتحاليل الكيميائية
N.A	العد الكلي للاحياء الدقيقة على بيئة الاغار المغذي (Nutrient Agar)
PDA	العد الكلي للخمائر والفطور على بيئة ديكستروز البطاطا
MRS	عد بكتريا حمض اللبن على بيئة (MRS-Agar)

الملخص

أجري هذا البحث بهدف دراسة تأثير مدة ودرجة حرارة التخزين لعصير التفاح بتركيزات مختلفة 20% و 70% وخل التفاح المبستر و غير المبستر والملح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* لمدة ستة أشهر بدرجات حرارة مختلفة (4 و 20 و 30) °م في إنتاج مركب ثنائي الاستيل وتقديره كمياً من عصير التفاح ومنتجاته ودراسة تأثير حرارة التخزين ومدته على كمية ثنائي الاستيل المنتجة خلال فترة 6 أشهر. أظهرت نتائج التحاليل الجرثومية بالنسبة لعينات عصير التفاح تركيز 20% و 70% المبسترة وغير المبسترة ارتفاعاً طفيفاً خلال الشهر الأول والثاني من التخزين في عدد الأحياء الدقيقة (العد الكلي + عد الخمائر والفطور + عد بكتريا حمض اللبن) وخاصةً على درجتي الحرارة (20 و 30) °م وأظهرت النتائج انخفاضاً في عدد الأحياء الدقيقة (العد الكلي + عد الخمائر والفطور + عد بكتريا حمض اللبن) في عينات الخل خلال الأشهر الثلاثة الأولى من التخزين، كما أظهرت النتائج انخفاضاً في عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح تركيز 20% المبستر والملح ببكتريا حمض اللبن (*Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*) بدءاً من الشهر الأول وحتى نهاية الشهر الثالث من التخزين وعلى درجتي الحرارة (4 و 20) °م.

أشارت النتائج عدم تواجد بكتريا حمض اللبن في عينات عصير التفاح تركيز 70% المبسترة والملقحة ببكتريا حمض اللبن خلال فترة التخزين وعلى درجتي الحرارة (4 و 20) °م وأظهرت انخفاضاً في بكتريا حمض اللبن في عينات الخل المبسترة والملقحة ببكتريا حمض اللبن بدءاً من الشهر الثاني من التخزين وعلى درجتي الحرارة (4 و 20) °م.

كما أظهرت النتائج انخفاضاً في تركيز المواد الصلبة الذائبة في عينات عصير التفاح (20%) المبسترة وغير المبسترة بدرجتي الحرارة (20 و 30) °م، وأظهرت النتائج حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH خلال تخزين عصير التفاح المركز 20% بدرجتي الحرارة 20 °م و 30 °م وكانت أدنى قيمة 3.77 عند الدرجة 30 °م لشهر التخزين الأول لعصير التفاح المبستر، و أظهرت النتائج حدوث انخفاضاً طفيفاً في قيم pH والحموضة خلال فترات تخزين عصير التفاح المركز 70% بدرجتي الحرارة 20 °م و 30 °م، بينما بينت النتائج بالنسبة لخل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترة التخزين على مختلف درجات الحرارة (4 و 20 و 30) °م تذبذباً في درجة pH والحموضة حيث سجلت أعلى قيمة 2.94% عند درجة حرارة 4م في الشهر الثالث من التخزين وأدنى قيمة كانت 1.2% عند درجة حرارة 20م في الشهر الخامس من التخزين وذلك لخل التفاح المبستر، وبالنسبة لعينات عصير التفاح 20% الملقحة ببكتريا حمض اللبن أظهرت النتائج حدوث تغيرات

طفيفة في قيم pH وعلى درجتي الحرارة (20 و 4)° م وزيادة طفيفة من 3.17% في بداية التخزين إلى 3.53% و 3.50% في الشهر الثالث على درجتي حرارة (20 و 4)° م على الترتيب أما بالنسبة لعصير التفاح 70% الملقح ببكتريا حمض اللبن أظهرت النتائج حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH وعلى درجتي الحرارة و انخفاض بشكل طفيف في الحموضة من 6.67% في بداية التخزين إلى 6.53% و 6.50% في الشهر الثالث على درجتي حرارة (20 و 4)° م على الترتيب.

وبينت النتائج أن كمية ثنائي الاستيل المتشكلة في عينات عصير التفاح المبسترة تركيز 20% سجلت ارتفاعاً ملحوظاً في الشهر الأول من التخزين وخاصة على درجة حرارة 30° م حيث وصلت إلى 3.69 ppm وفي عينات عصير التفاح غير المبسترة تركيز 20% سجلت ارتفاعاً ملحوظاً في الشهر الثاني من التخزين بدرجة حرارة 30° م وبلغت 3.71 ppm أما بالنسبة لعينات عصير التفاح المركز 70% المبسترة وغير المبسترة فإن كمية ثنائي استيل المتشكلة أقل مقارنة بسابقتها (عينات عصير التفاح تركيز 20% المبسترة وغير المبسترة) حيث سجلت النتائج ارتفاعاً خلال الأشهر الأولى من التخزين وخاصة عند درجة حرارة 30° م حيث وصلت في الشهر الثاني على التوالي إلى 1.49 ppm وإلى 1.66 ppm وأشارت النتائج إلى عدم تشكل ثنائي الاستيل في خل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترات التخزين وعلى مختلف درجات الحرارة (20 و 30)° م.

أما بالنسبة لعصير التفاح 20% الملقح ببكتريا حمض اللبن سجلت النتائج ارتفاعاً في ثنائي الاستيل حيث بلغت 2.20 ppm و 1.98 ppm في الشهر الأول من التخزين على درجة حرارة 20° م كما أشارت النتائج ثبات قيم ثنائي استيل خلال فترة التخزين في عصير التفاح 70% الملقح ببكتريا حمض اللبن بسبب ارتفاع السكر والحموضة وبالتالي عدم تواجد الأحياء الدقيقة.

الكلمات المفتاحية:

ثنائي الاستيل، بكتريا حمض اللبن، عصير التفاح، الخل.

Abstract

This research aimed to study the effect of storing period and temperature on apple juice at concentrations (20% ,70%) and apple vinegar, pasteurized,non-pasteurize and vaccinated by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* for six months at temperatures

(4, 20, 30)°C.

The purpose of this study was to knowledge the production of diacetyl in the previous conditions and estimate it for six months.

By bacterial test, there was a slightly rise in the number of microorganism (total number, the number of yeasts and fungi, the number of lactic acid bacteria) pasteurized and non-pasteurized apple juice at concentrations (20%, 70%) and at the temperature degrees of (20, 30)°C.

The number of microorganism (total number, the number of yeasts and fungi, the number of lactic acid bacteria) decreased in apple vinegar during the first three months of storing. These tests showed decrease in the number of lactic acid bacteria, where at the 20% concentration of pasteurized and vaccinator apple juice by lactic acid bacteria from the first month to the end of third month of storing at the temperature degrees of (4 , 20)°C.

The results exhibited the production of lactic acid bacteria in 70% concentrated of pasteurized and vaccinated apple juice by lactic acid bacteria sample in the storing period and in the temperature degrees of (4, 20) °C and there was a decrease in lactic acid bacteria in the pasteurized and vaccinator apple vinegar by lactic acid bacteria from the second month of storing at the temperature degrees of (4, 20) °C.

The results showed a decrease in the concentration of soluble solid material in the 20% concentration of pasteurized and non-pasteurized apple juice at the temperature degrees of (20, 30)°C.

The results indicated a slightly variation at the pH value during storing period for concentrated apple juice (20%) and at the temperature degree of (20, 30) °C, while the minimum value was 3.77 at temperature degree 30°C in the first month of storing the pasteurized apple juice. There was a slightly decrease in the pH value and acidity at storing period for concentrate apple juice (70%) and at the temperature of (20, 30)°C.

While the results referred to vacillation at the pH value and acidity in the pasteurized and non-pasteurized apple vinegar during storing period for

temperature degrees (4, 20, 30) °C. Consequently, the maximum value was 2.94% in the third month of storing at temperature degree 4°C, and the minimum value was 1.2% in the pasteurized apple vinegar in the fifth month of storing at the temperature degree 20°C.

On other hand, the vaccinated apple juice by lactic acid bacteria, which was 20% concentration ,the result showed slightly change at the pH value at the temperature degrees of (4 ,20)°C, the changes were from 3.17% in zero point to 3.53% and 3.50% in the third month at temperature degrees (4, 20)°C respectively. Also for apple juice 70% the results showed slightly changes in pH value at both temperature degrees and slightly decrease in acidity from 6.67% in zero point to 6.53% and 6.50% in the third month at the temperature degrees of (4, 20)°C respectively.

The results refered that, the quantities of diacetyl in pasteurized apple juice 20% increased to 3.69 ppm in the first month especially at the temperature degree of 30°C. Also the non-pasteurized apple juice 20% increase to 3.71 ppm in the second month especially at temperature degree 30°C. For pasteurized and non-pasteurized apple juice 70%, the quantities of diacetyl was more comparative with pasteurized and non-pasteurized apple juice 20%, which recorded increase in the first month of storing especially at the temperature degree 30°C and increased in second month to 1.49 ppm and 1.66 ppm in order.

On other hand, the results indicated no formation of diacetyl in pasteurized and non-pasteurized apple vinegar during storing period at the different temperature degrees (4, 20, 30)°C.

With regard to apple juice 20% which vaccinated by lactic acid bacteria, the results recorded increase in diacetyl to 2.20 ppm and 1.98 ppm in the first month of storing at temperature degree 20°C.

The results refered to steady in diacetyl value during storing period in apple juice 70% which vaccinated by lactic acid bacteria, due to, high sugar and acidity, as there was no microorganism.

— **Keywords:**

Diacetyl, Lactic acid bacteria (*Lactbacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*), apple juice, vinegar.

المقدمة:

تُعتبر سورية من الدول الزراعية التي تعتمد في دخلها القومي على الزراعة بالدرجة الأولى فقد أولت سورية عنايةً خاصةً لهذا القطاع من خلال بنائه على أسسٍ علميةٍ صحيحةٍ من بناء السدود واستصلاح الأراضي وانتشار شبكات الري ومكننة الزراعة وتأمين مستلزمات الإنتاج والتوسع في المساحة المزروعة وإدخال أصول وأصناف جديدة معتمدة من محطات ومراكز بحوث علمية موثوقة.

تحتل شجرة التفاح مركزاً هاماً ضمن مجموعة أشجار الفاكهة لما تحوي ثمارها من قيمةٍ غذائيةٍ عاليةٍ مثل الفيتامينات والأحماض العضوية والأملاح المعدنية مثل أملاح البوتاسيوم والكالسيوم والمغنيزيوم، ويُعد التفاح من الزراعات الاقتصادية لما يدره من أرباحٍ نظراً لارتفاع سعرها في الأسواق وإمكانية تخزينها لفترة طويلة بعد نضجها. وشجرة التفاح *Malus domestica* شجرةٌ مثمرةٌ من الفصيلة الوردية *Rosaceae*، والتفاح كلمةٌ مأخوذةٌ من كلمة توتا الفارسية.

يقع مهد شجرة التفاح بشكل أساسي في الصين والقوقاز وشواطئ بحر قزوين ومن هذه المناطق انتشرت زراعة التفاح إلى أوروبا الشرقية وروسيا ومن ثم إلى أوروبا الغربية، تحتل الصين المركز الأول عالمياً في إنتاج التفاح تليها الولايات المتحدة الأمريكية، أما في الوطن العربي فقد احتلت مصر المركز الأول تليها المغرب وسورية ومن ثم لبنان.

واقع زراعة التفاح في سورية:

يتركز إنتاج سورية من التفاح بشكل رئيسي في محافظات طرطوس (23364 طناً) ، اللاذقية

(50056 طناً)، حمص (99560 طناً)، ادلب (28888 طناً) ، حماه (16272 طناً) ، ديرالزور (867 طناً)، السويداء (56162 طناً) ، ريف دمشق (77418 طناً) ومن أهم الأصناف المزروعة في سورية: السكري، السكرجي، الفضي، أبوغبرة، درشوي، ديري، إضافة إلى الأصناف الأجنبية: ستارك ايليست، جوناريد، ماكنتوش الأحمر ،غولدن ديليشيس، ايرلي ماكنتوش، ستاركن ديليشيس، روم بيبوتي،جون كريمس وغيرها.

تتعلق زراعة التفاح في العديد من البلدان بعدة عوامل يحددها مناخ هذه البلدان من حرارة و رطوبة وارتفاع عن سطح البحر، أما استهلاكها فينتشر في كافة دول العالم نظراً لأهميتها الغذائية والصحية، وقد قُدر الإنتاج العالمي من ثمار التفاح أكثر من 63 مليون طناً ، وتحتل سورية المركز الثالث عربياً بالإنتاج وقدره 360380 طناً.

شهدت زراعة التفاح تطورات كبيرة في السنوات الأخيرة كماً ونوعاً وذلك من خلال الخطط والبرامج المنفذة لهذه الغاية والتي تتضمن تطوير عمليات الخدمة للشجرة من حيث طرائق الري ودراسة المعادلة السمادية وأسلوب المكافحة الحيوية المتكاملة لآفات التفاح، وقد بلغت المساحة المزروعة بالتفاح في سورية 47337 هكتاراً وعدد الاشجار 10467.9 ألف شجرة.

يُستخدم التفاح في الكثير 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، و ستاركن ديليشيس وروم بيوتي وغيرها، كما يُنتج السيدر وخل التفاح الطازج من أصناف التفاح صغيرة الحجم غير الملائمة للاستهلاك ويستخرج أيضاً من عصير التفاح المركز مسحوق التفاح ، وعسل التفاح، إضافة إلى أن للتفاح ميزةً وهي قابليته للحفظ بالبرودة ، والتجفيف، والتعليب.

و ظهرت في السنوات الأخيرة خلال تخزين عصائر الفاكهة المركزة ملاحظات كثيرة حول مركب ثنائي الاستيل والاستيل متيل كربونيل تلك المركبات الناتجة من قبل بعض الاجناس مثل *Lactobacillus* و *Leuconostoc* إن تركيز هذه المواد في العصير يعتبر كمؤشر للأحياء الدقيقة الموجودة فيه وأيضاً تعتبر كعامل مؤثر للشروط الصحية لهذا المنتج.

1- الدراسة المرجعية:

شجرة التفاح شجرة مثمرة من الفصلية الوردية يعود أصلها إلى شرق أوروبا وغرب آسيا وأن موطنها الأول هو تركيا ثم نُقلت إلى مصر وزرعها فرعون مصر رمسيس الثاني في حديقته ومن مصر انتقلت إلى اليونان، يُستخدم التفاح في الكثير من الصناعات الغذائية ومن أهمها المربيات والعصائر إذ يُعد عصير التفاح من أكثر أنواع العصائر المنتشرة بشكلٍ واسعٍ في العالم وخاصة في أوروبا.

1-1- عصير التفاح:

ويُعرف عصير التفاح بأنه العصارة الطبيعية الرائقة أو شبه الرائقة غير المتخمرة التي تُفصل عن الثمار الناضجة السليمة عند عصرها والمحتوية على اللب كله أو جزءاً منه والخالية من البذور والقشور والألياف الخشنة والمعاملة بإحدى طرائق الحفظ المناسبة وذلك في حال عدم استهلاكها مباشرة بعد تحضيرها (حلابو وزملاؤه، 1995) ويجب أن يكون التفاح المستخدم لإنتاج عصير مركز من الفاكهة الطازجة، الصحية، السليمة وتتميز درجة حموضة الفاكهة بانخفاض رقم pH حيث أن انخفاض درجة الحموضة تمنع نمو البكتيريا.

يقسم عصير التفاح عادةً حسب درجة تركيزه إلى: عصير تفاح مركز: بتركيز 60-68% و 75-80% مستخرج عن عصير طازج ونقي. وعصير نصف مركز: بتركيز 30-45% مضافاً إليه SO₂ للحصول على النبيذ. وعصير نصف مركز: 30-45% مستخرج عن عصير طازج ونقي. والشراب : وهو عصير بتركيز 12-15% مضافاً إليه السكر والحمض (Eberhardt *et al.*, 2000) ، (Chen *et al.*, 1992).

1-2- التركيب الكيميائي للتفاح:

يُعد التفاح من الفاكهة المحبوبة في جميع أنحاء العالم وتمتاز ثمارها باحتوائها على قيمة غذائية عالية. ففي 100 غ منها يوجد 95 وحدة من فيتامين A، و 40 وحدة من فيتامين B1 و 20 وحدة من فيتامين C، إضافة إلى 9% من سكر العنب وسكر الفواكه، و 85% من الماء، و 0.02-0.1% بروتين، و 0.3% دهن (Salunkhe *et al.*, 1991)، و 0.9% سليلوز، و 0.4% بكتين و 1.5% أحماض عضوية مع سيادة حمض المالك، وقليل من النشاء

(Timoumia *et al.*, 2007) ، (Konja and Lovric, 1993).

وفي التفاح أملاح معدنية مهمة مثل أملاح البوتاسيوم والكالسيوم، والصوديوم وغيرها مما لا غنى عنها في تغذية الخلايا ونموها، كما تحوي ثمارها مقاديراً قليلةً من الكلور، والمنغنيز، الحديد، والفوسفور، والكوبالت، والبروم ، والزرنيخ والكبريت (قطنا، 1978).

1-3- التركيب الكيميائي والقيمة الغذائية لعصير التفاح:

عُرفت أهمية عصير التفاح منذ سنواتٍ عدّة كشراّبٍ لذيذٍ منعشٍ يطفأُ الظمأً ويزيد من نشاط القلب ويعيد الحيوية للجسم وقد سماه البعض بالسائل الذهبي.

كما بينت الدراسات الحديثة أن عصير التفاح الجدولين (1 و2) يضم مجموعة كبيرة من المركبات الهامة منها السكريات والأحماض العضوية والعناصر المعدنية والفيتامينات والمركبات الفينولية (Jayaprakasha and Patil, 2007)، وهذا يساعد في الوقاية من العديد من الأمراض مثل السرطان (Willett, 1995) وأمراض القلب (Hollman *et al.*, 1997) والزهايمر والربو (knekt *et al.*, 2002) وهذا عائد لغناها بمضادات الأكسدة (Wu *et al.*, 2004). ويُعتبر حمض الاسكوربيك من المركبات الهامة في التفاح حيث يتواجد مايقارب 5.7 مغ منه في 100 غ تفاح، إضافة إلى ذلك يُعتبر التفاح من الثمار الغنية بالألياف إذ أن تفاحةً متوسطة الحجم تحوي مايقارب 20% من حصة الفرد الواجبة من الألياف الموصى بتناولها يوميا. يُستهلك التفاح بأشكالٍ متعددة (Velic *et al.*, 2004) و

(Doymaz, 2009) منها الطازج والمصنع (مربى، مرملا، عصير، خل، تفاح مسكر، شيبس، منتجات مجففة) (Kaya *et al.*, 2007). وتُستخدم أيضاً في العديد من الصناعات الغذائية (مخابز، بوظة، صلصات، حلويات، مشروبات) (Van_Arsdel, 1973) و

(Kaleta and Gornicki, 2010).

الجدول (1) يبين التركيب الكيميائي لعصير التفاح:

المؤشر	%
رطوبة	87.1
بروتين	0.1
دهن	0.0
رماد	0.25
سكريات	10.5
حموضة	0.25
حمض الاسكوربيك	0.002–0.050

(الجندي، 1975)

ويُعرف عصير التفاح المتخمّر بالسيدير وتتراوح نسبة الكحول فيه بين 4-6% وهذه الصناعة معروفة في أوروبا وأمريكا، و تعتبر السكريات الكلية من العناصر الغذائية الهامة في عصير التفاح فهي عبارة عن فركتوز بالدرجة الأولى وسكروز وغلوكوز بالدرجة الثانية (الموصلي ، 2001)

الجدول (2) يبين نسبة وجود السكريات في عصير التفاح الطازج

كمية السكريات الكلية %	غلوكوز %	فركتوز %	سكروز %
10.66	2.30	6.20	2.16

(الموصلي، 2001)

كما تختلف نسبة الأحماض العضوية في عصير التفاح من صنف لآخر وتتراوح بين 0.3-1.6 % مقدرة كحمض التفاح (الحمض السائد) يلي ذلك أحماض الكونك والكورجينيك والستريك كما يحتوي عصير التفاح على السوربيتول وهو من المكونات الهامة المميزة في عصير التفاح وتختلف كميته في العصير من (1.54-4.70%) وبالإضافة للسوربيتول هناك التانين الذي يعتبر من المركبات الهامة أيضاً كونه ذا علاقة وثيقة بلون وطعم العصير وحدث التعكير والأكسدة السريعة أثناء تصنيعه والمعروفة بتفاعلات الاسمرار (الموصلي، 2001) كما يوجد مئات المركبات العطرية المسؤولة عن نكهة التفاح وقد صُنفت المركبات العطرية إلى أربعة مجموعات رئيسية: مجموعة الأسترات ومجموعة الألدهيدات ومجموعة الكحولات ومركبات عطرية أخرى وبالنسبة للأملاح المعدنية يحتوي عصير التفاح بشكل رئيسي على أملاح البوتاسيوم والكالسيوم والمغنيزيوم والصوديوم والفسفور حيث تشكل كمية البوتاسيوم أكثر من 50% من كمية العناصر المعدنية في العصير يليها الكالسيوم والمغنيزيوم والصوديوم والفسفور، كما يحتوي عصير التفاح على كمية بسيطة من المركبات الآزوتية على شكل بروتينات وأحماض أمينية قد لا تزيد عن 0.03% ويحتوي كذلك على الفيتامينات و أكثرها أهمية في عصير التفاح فيتامين C (الموصلي، 2001) الذي يعطي وجوده بشكل تام في العصير دلالةً عن مدى الاهتمام المتبع في حفظ وتخزين العصير، كما يحتوي على كميات بسيطة من فيتامين A على شكل كاروتين، وتعتبر الطاقة التي يعطيها عصير التفاح منخفضةً إذا ما قورنت بالطاقة التي تعطيها أنواع أخرى من الأغذية حيث يعطي عصير التفاح نحو 42.5 كيلو حريره (الجندي، 1975).

1-4-خل التفاح:

ينتج الخل من التفاح من خلال مرحلتين، الأولى كحولي بواسطة الخميرة (غالباً جنس *Saccharomyces*) التي تقوم بتحويل السكريات إلى كحول، والثانية هي الكحول الذي يُؤكسد بعد ذلك بواسطة بكتريا حمض الخل تحت الظروف الهوائية إلى حمض خل

(FAO/WHO, 2000) ويحتوي هذا السائل على نسبة معينة من ذلك الحمض (وتتراوح عادة من 5-8%) (Raspor and Goranovic, 2008) وتعتمد تسمية الخل على المادة التي يصنع منها (خل التفاح أو خل السيدر إذا صنع من عصير التفاح).

1-5-التركيب الكيميائي لخل التفاح:

زاد الاهتمام في السنوات الماضية بشكلٍ كبيرٍ بخل التفاح كقيمة غذائية وصحية فهو يحتوي على كميات قليلة من البروتينات وكميات ضئيلة من المعادن (الصوديوم والبوتاسيوم والمغنيزيوم والفسفور والحديد والزنك) ومواد بكتينية ومجموعة فيتامين B وفيتامين C (Roberts, 2014). وتزيد نسبة حمض الخل (acetic acide) عن 4 % من الخل وهو المكون الأساسي للخل وربما يمثل المكون الأكثر أهمية للخل بالإضافة إلى مكونات تختلف حسب المواد التي يصنع منها الخل الجدول (3).

الجدول (3) يبين التركيب الكيميائي لخل التفاح في 178 غ منه:

ماء	98,8%
سعرات حرارية	34 حريرة
بروتينات	آثار
ألياف (بكتين)	آثار
كربوهيدرات	14,2 غ
كالسيوم	14 مغ
فسفور	22 مغ
صوديوم	2 مغ
حديد	1,4 مغ
بوتاسيوم	24. 0 مغ

(Scantan, 2003)

تعتمد فوائد خل التفاح الصحية وبدرجة أكبر على الخصائص الثلاثة المميزة لخل التفاح وهي 1- درجة الحموضة { pH } لخل التفاح والتي تتميز بالحمضية

2- وجود بكتيريا نافعه نشطه

3- وجود نواتج بكتيرية

1-6- حفظ منتجات التفاح (عصير، الخل):

يتم حفظ منتجات التفاح (عصير، الخل) بتخزينها بدرجات حرارة منخفضة (Lea, 1989) لحمايتها من الفساد.

وهناك عدة طرائق للقضاء على الأحياء الدقيقة (Jay *et al.*, 2005) الغير مرغوب فيها (مثل البسترة ، الترشيح ، الإضافات المختلفة).

1-6-1- البسترة:

تهدف عملية البسترة إلى القضاء على الأحياء الدقيقة ومن عيوبها التأثير السلبي على الخواص الحسية للعصير والخل (النكهة واللون) (Choi and Nielsen, 2005).

1-6-2- الترشيح البارد:

ويتم ذلك من خلال غشاء ذو مسام اقل من 0.2 ميكرون وهو بديل عن عملية البسترة (Lea, 1989).

1-6-3- الكبريتة (Sulphiting):

يمكن إجراء عملية الكبريتة (السلفنة) لتنشيط الكائنات الحية الدقيقة في العصير ولكن لاتستخدم هذه الطريقة عند تحويل عصير التفاح المتخمّر (Cider apple) إلى خل لأن السلفيت المتبقي بعد عملية التخمّر الكحولي تثبط عمل بكتريا حمض الخل (Lea, 1989) وبالتالي تمنع عملية تحويل عصير التفاح إلى خل.

و تُستخدم هذه الطريقة فقط بعد الحصول على الخل لمنع نمو الأحياء الدقيقة أثناء التخزين (Duenas *et al.*, 1997).

1-6-4- التنقية والتخلص من العكارة:

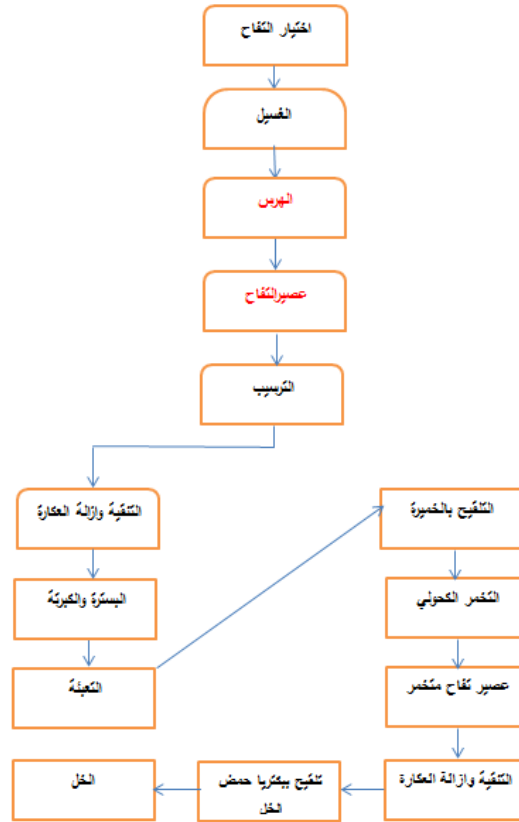
تجري عملية التنقية بهدف التخلص من العكارة وذلك لتحسين جودة المنتج النهائي

(García *et al.*, 2009) و يحدث التعكير في المنتج بسبب وجود جسيمات كبيرة مثل الخميرة وجزيئات نباتية وخلايا بكتيرية وجزيئات صغيرة مثل الكربوهيدرات والبروتينات والبوليفينولات

(Kilara and Van Buren, 1989) وتتم إزالة الخلايا والجزيئات النباتية بطريقة الترسيب (Bates *et al.*, 2001) والجزيئات الصغيرة من خلال الترشيح ، تسبب هذه الطريقة ارتفاع نسب التلوث كما تُعرض المنتج للهواء (Proulx and Nichols, 2003) ويمكن أيضاً تحسين عملية التخلص من العكارة عن طريق إضافة أنزيم محلل للبكتين حيث يمكن أن يخفض لزوجة المنتج وذلك عن طريق تحطيم الكربوهيدرات البولييميرية للبكتين ومن ثم إزالة الجزيئات عن طريق الترشيح (Kilara and Van Buren, 1989).

كما تتم عملية التنقية بإضافة مواد تربط الأجزاء الغير مرغوب فيها، وغالباً يُستخدم لهذه الغاية الجيلاتين الذي يؤدي إلى ترسيبها في القاع (Joshi and Sharma, 2009) ثم ينقل السائل الرائق بعد أسبوع واحد إلى خزان آخر، ومن سلبيات عملية التنقية أنها تؤدي إلى إزالة البوليفينولات المختلفة (Lea and Drilleau, 2003) المسؤولة عن الطعم والرائحة .

ولكن يجب تجنب إجراء عملية التنقية والتخلص من العكارة إذا كان الهدف الحصول على عصير تفاح مخمر (Duenas *et al.*, 1997)، وذلك لأن الأنزيمات المحللة للبكتين تخفض من معدل عملية التخمير كما هو مبين في الشكل (1).



(Joshi and Sharma, 2009)

الشكل (1) مخطط إنتاج عصير و خل التفاح

1-7- فساد عصير التفاح ومنتجاته:

يتعرض عصير التفاح أثناء التخزين بظروف 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.

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.

- جنس *Leuoconostoc*: مكورات كروية تميل لتصبح بيضوية بالأوساط الحامضية، موجبة غرام، غير متحركة، تشكل محفظة، غير متبوعة ، تتوضع بشكل ثنائي أو بشكل سلسلة ، تمتلك درجة حرارة نمو مثالية 30° م ، هوائية أو لاهوائية اختياريًا (مرعي ، 1997) تقوم بتخمير الكثير من السكريات مع إنتاج غاز CO₂ وبالتالي فهي تُحدث تخمراً غير متجانساً.

ومن أهم أنواع هذا الجنس *Leuoconostoc mesenteroides*: يتحمل هذا النوع تراكيز عالية من السكر (55-60%) ويقوم بالمرحلة الأولى من التخمير اللبني بإطلاق عملية التخمير بشكل سريع وينتج عن عملية التخمير كميات كبيرة من CO₂ وهذا ما يسبب فساد العصائر ذات التركيز المرتفع من السكر كما أنه ينتج لزوجة عالية في المواد الغنية بالسكروروز وهذا ما يسبب لزوجة العصير مع انطلاق رائحة غير مرغوب فيها ، بالإضافة إلى أنه ينتج كمية كبيرة من ثنائي الاستيل (مرعي ، 1997) و (سفر ومرعي ، 1994).

- جنس *Lactobacillus*: بكتريا عصوية، موجبة غرام، غير متبوعة، غير متحركة، قليلة الحاجة إلى الهواء يُنتج عن هذا الجنس كمية كبيرة من حمض اللبن بواسطة التخمير ويُفضل وجود جو غني بـ CO₂ ويتحمل pH أقل 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 عصير التفاح التي يُصنع منها الخل يؤدي إلى إعاقه التخمير الكحولي ونمو الخميرة كما أنها تنتج مواد ذات رائحة كريهة تحت الظروف غير الهوائية (Joshi and Sharma, 2009) .

أشار (سفر وموعي ، 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 دلالة واضحة على مدى صلاحية هذا العصير للاستهلاك البشري.

وهناك بعض الخمائر التي ينتج عنها مركبات كيميائية تسبب فساد العصائر ومركزاته ويوجد أيضاً بعض الفطريات والبكتيريا التي تقوم بالدور نفسه للحصول على تلك المركبات الغير مرغوبة في العصائر كأن تفرز المادة الكيميائية تحت تأثير الأحياء الدقيقة ، يتعلق تركيز هذه المادة في الوسط بكمية الأحياء الدقيقة الموجودة في عصائر التفاح ومركزاته ومن أهم التفاعلات الكيميائية التي تحدث فساداً في عصير التفاح وتسبب تغيرات جمّة في (الطعم والرائحة و النكهة واللون) هي تفاعل الاسمرار اللانزيمي والاسمرار الأنزيمي وان انخفاض pH إلى اقل من 3.2 تمنع أكسدة فيتامين C والتغيرات اللونية الناتجة عن الاسمرار اللانزيمي.

تتوقف فترة تخزين العصائر المركزة على:

- أكسدة حمض الاسكوربيك

- اسمرار العصير المركز

- 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 الغير صالحة للتخزين لمدة طويلة بسبب تأثير الأحياء الدقيقة التي تنشط بظروف التخزين الغير مناسبة ، ولتفادي ذلك يتم تحويل هذا العصير إلى عصير مركز وحفظه ضمن شروط التخزين المناسبة.

وأشار (Merai, 1991) عند مقارنته لنمو بعض السلالات الميكروبية من فطريات *penicillum*

Sacchromyces cerevisiae، خمائر *Aspergillus niger* و *notatium*

وبكتريا *Lactbacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* في عصائر

الفاكهة بتراكيز (30%)، (70%) خلال فترة التخزين (3 أشهر) فقد تبين من خلال نتائجه

ظهور تباين في النمو الجيد في العصير بتركيز (30%) 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 بتركيز سكرية عالية خلال فترة زمنية تفوق الـ 6 أشهر دون أن يتعرض إلى أي نوع من أنواع الفساد شريطة اتباع ظروف تخزين سليمة وصحيحة.

وجد الباحث (Burbianka, 1983) أن الأنواع التابعة للجنسين *Lactbacillus* و *Leuconostoc* وخاصة: *Leu. mesenteroides*، *Lac. planetarum*، *Leu.*، *dixtranicum*، *Lac. 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 (Sobczak and Siuchninska, 1983) أن بكتريا الجنس *Bacillus* والنوع *B. subtilis* تهاجم السكر وتخمره ببطء منتجة حمضاً دون غاز وكذلك بكتريا الجنس *Clostridium* والنوع *Cl. pasteurium* تحلل السكريات منتجة حمضاً وغازاً مما يشكلان رائحة كريهة في العصير وتجعله غير مناسب للاستهلاك البشري.

أيضاً تنمو *Lac. plantarum*، *Lac. brevis*، *Lac. fermentis* في عصائر الفاكهة المركزة وذلك من خلال 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 الأحياء الدقيقة.

ومن الفطريات:

Penicillium expansum, *Rhizopus sp*, *Gladosporium herbarum*,

Mucor sp, *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, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*.

وأيضاً بعض الخمائر المتوحشة مثل: *Kloeckera*, *Hansonula*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *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 البكتيريا) في مدة 198 يوماً وإن تخزين عصير البرتقال في درجة -18°م يؤدي إلى انخفاض عدد الأحياء الدقيقة.

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

1-8- تأثير التخزين على جودة العصائر 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%) والمخزنه بدرجة حرارة (4°م) ساهمت في الحد من نمو الأحياء الدقيقة في العصير أما في التراكيز المنخفضة فتحدث تغيرات كيميائية وخاصة تفاعلات الاسمرار اللانزيمي (تفاعل ميلارد) أثناء فترة التخزين إذ يحدث هذا التفاعل نتيجة وجود مركبات تحمل مجموعة كربونيل (سكريات مرجعة ، الداى استيل ، كحولات) مع المركبات التي تحمل مجموعة امين (بروتينات، حموض امينية) وينتج عن ذلك مركبات داكنة اللون تسبب تغيراً في طعم ورائحة ونكهة العصير .

1-9- الخمائر و العصير المتخمر:

أشار (Joshi and Sharma, 2009) إلى أن الطريقة التقليدية لإنتاج عصير التفاح المتخمر هو الاستفادة من الأحياء الدقيقة التي تحدث بشكل طبيعي والتي تكون موجودة على الفاكهة وأن الخمائر المسؤولة عن تخمير التفاح تنتمي إلى أنواع *Kloeckera*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* ، وهنا يجب أن تكون الخمائر المرغوب فيها والمسؤولة عن عملية التخمير بتركيز عالية لأنه إذا كانت بتركيز منخفضة من الممكن أن تنمو أحياء دقيقة غير مرغوب فيها و تنتج نكهات غير مرغوبة أو تجعل عصير التفاح خطيراً للاستهلاك البشري.

1-9-1- مواصفات الخميرة المستخدمة:

يجب أن تكون الخميرة المستخدمة قادرة على التخمر دون إنتاج مركبات غير مرغوب فيها وتتحمل تراكيز عالية من الكحول والسكر والسلفيت ومن السلالات الشائع استخدامها تنتمي إلى أنواع *Saccharomyces cerevisiae* , *Saccharomyces bayanus*

(Lea, 1989) إن اختيار سلالة الخميرة في البداية له تأثير في نكهة المشروبات المتخمرة

(Nurgel et al., 2002)(Joshi et al., 2002) (Downing, 1989) وخلال عملية

تخمير عصير التفاح فإن معدل ومحتوى الإيثانول والسكريات والمواد العفصية والاسترات والميتانول والأحماض الطيارة هي من بعض خصائص الجودة التي يمكن أن تتأثر بسلالة خميرة معينة (Joshi et al., 2002).

1-10- معالجة عصير التفاح قبل عملية التخمر:

يمكن معالجة عصير التفاح بطرائق مختلفة لتحسين المنتج اعتماداً على الجودة المطلوبة حيث يتم ضبط مكونات العصير من السكر والأحماض والمواد الغذائية وهذا يساعد على تعزيز عملية التخمر وتطوير نكهة وتركيز الكحول النهائي (Downing, 1989) حيث أن تركيز السكر يحدد أساساً نسبة الكحول في عصير التفاح النهائي إذ أن إضافة السكر بتركيز (10-11%) (w/w) إلى عصير التفاح (5-6%) (v/v) فيؤدي إلى تخمره وإعطائه كحول (Lea, 1989) ويجب أن تكون درجة الحموضة (3.2-3.8). وللحصول على ظروف تخمر أكثر كفاءة يجب اختيار سلالة خميرة مناسبة و مواد غذائية مختلفة مثل إضافة نيتروجين إلى العصير

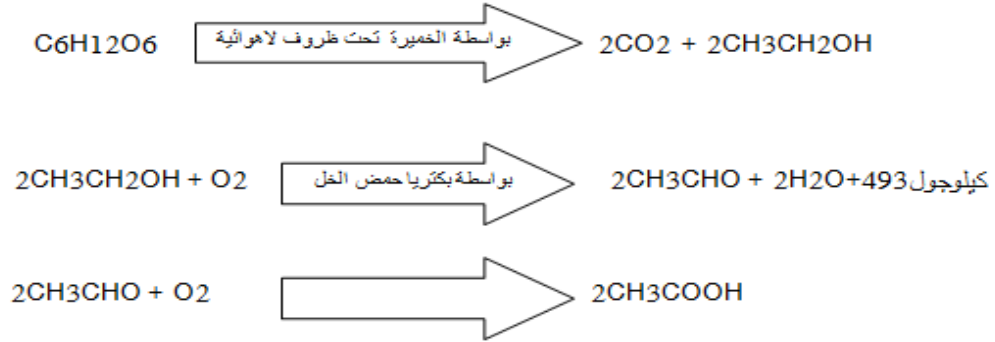
(Proulx and Nichols, 2003) كما يمكن إضافة سلفيت إلى عصير التفاح للقضاء على الأحياء الدقيقة الطبيعية الأخرى الغير مرغوب فيها (Downing, 1989) لأن إضافة السلفيت ينتج عنه غاز SO₂ وهو ضار بالأحياء الدقيقة ويسبب تلف الخلايا الوظيفية، ولا تضاف الخميرة إلى العصير حتى يتم استهلاك SO₂ من قبل الأحياء الدقيقة الغير مرغوب فيها (Jay et al., 2005). ويمكن أيضاً القضاء على الأحياء الدقيقة الغير مرغوب فيها عن طريق البسترة ولكن المعالجة الحرارية يمكن أن يكون لها آثاراً سلبية على نكهة عصير التفاح

(Choi and Nielsen, 2005).

بكتريا حمض الخل (*Acetobacter*):

بكتريا حمض الخل سالبة الغرام، عصوية، توجد غالباً على شكل خلية واحدة أو في أزواج وهي هوائية تتراوح درجة الحرارة المثلى لنموها ولإنتاج كمية جيدة من الحمض بين 26-31 °م (Tesfaye et al., 2002) و تستطيع ان تنمو في قيم pH منخفضة (3-4) وقيم pH (5.5-6.3) (Raspor and Goranovic, 2008).

يتم أكسدة الايتانول الناتج عن التخمر اللاهوائي للسكريات إلى حمض الخل بواسطة بكتريا حمض الخل التي تتبع إلى عائلة *Actobactriaceae* واجناس *Acetobacter* و *Gluconobacter* كما يمكن إنتاج حمض الخل من أكسدة الاسيت الدهيد (Lea, 1989). والتفاعل الكيميائي التالي يبين تحول السكر إلى ايتانول ومن ثم إلى حمض:



(García et al., 2009)

وتزداد درجة الحرارة في الوسط ويمكن أن يتأكسد حمض الخل إلى CO₂ في دورة ثلاثي كربوكسيل وهذه العملية غير مرغوب فيها عند إنتاج الخل لأنها تقلل من صفاته الناتجة وجودته لكنها يمكن أن تحدث عندما يكون تركيز الإيتانول محدوداً (Lea, 1989) وهذه العملية تدعى فوق الأكسدة وتقوم بهذه العملية فقط البكتريا التي تنتمي إلى *Acetobacter* لأن اثنين من الأنزيمات الرئيسة اللازمة هي غيروفيفية في *Gluconobacter* ويعتمد معدل إنتاج حمض الخل على درجة الحرارة ووجود الأوكسجين وتركيز الركيزة (إيتانول) وتركيز المنتج (حمض الخل) (García et al., 2009).

يؤثر تركيز الإيتانول على البكتريا سواء في بداية أو نهاية التخمر، فإذا كان تركيز الإيتانول الأولي مرتفعاً جداً يمكن أن تنخفض حيوية البكتريا، ويرجع ذلك إلى تأثير المضاد للميكروبات من الإيتانول، أما إذا كان تركيز الإيتانول الأولي منخفضاً جداً وصولاً إلى 0.1 - 0.2 % فهناك خطر تزايد عمليات فوق الأكسدة (Lea, 1989)، وإذا كان تركيز حمض الخل متزايداً خلال عمليات التخمر فإنه سيُخفض من درجة الحموضة ونتيجة لذلك يقل نشاط البكتريا وبالتالي يقل إنتاج حمض الخل (Raspor and Goranovic, 2008).

إن ارتفاع حموضة الخل (أعلى من 1.5 غ/ل) هي نتيجة تأثير بكتريا حمض الخل في الوسط وهذه نتيجة أكسدة الكحول الاتيلي إلى حمض الخل ويمكن أن يتأكسد حمض الخل إلى CO₂ من خلال بكتريا *Acetobacter acetic* أو *Acetobacter xylinum*

1-11- الأنزيمات المستخدمة في ترويق عصير التفاح:

يستخدم أنزيمي البكتيناز والأميلاز الجدول (4) للحصول على عصير رائق وهي تعمل عند إضافتها لعصير الفاكهة على تفكيك البكتين الموجود في العصير فتترسب بعضها ويتحول بعضها الآخر إلى مادة ذوابة وتتوقف الكمية التي ينبغي إضافتها من أنزيم البكتيناز على ظروف المعالجة وعلى فعالية الأنزيم النسبية.

الجدول (4) يبين استخدام أنزيمي البكتيناز والأميلاز في عصير التفاح:

المستخلص الأنزيمي	الكمية المضافة ل 1000 لتر عصير	درجة الحرارة التي يعمل عليها الأنزيم	الزمن (ساعة)
بكتيناز التفاح	0.5 كغ	50 °م	2
أميلاز	20-30 غ	50 °م	2

(Merai, 1991)

1-12- ثنائي الاستيل:

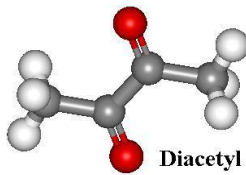
ثنائي الاستيل هو مركب كيميائي من المركبات vicinal di ketones حيث:
Vicinal: تعني المجاور.

Di: ثنائي.

Ketones: يوجد مجموعتين كيتونيتين ضمن المركب.

الاسم الشائع له (2,3) butanedione (Administrator, 2002).

وهو ناتج طبيعي لتخمير الحليب والمشروبات الكحولية وهو المسؤول عن نكهة الزبدة المثالية ويستخدم بشكل مفرد أو مع مواد كيميائية أخرى لإنتاج نكهات صناعية ، وهو سائل أصفر إلى أخضر أو مسحوق ، ينتج في البيرة طبيعياً من تحويل الغلوكوز إلى إيتانول عن طريق الخميرة خلال عملية التخمير ويوجد بشكل طبيعي بتركيز منخفضة في القهوة والخل ومنتجات الألبان والعسل والفواكه.



الصيغة المجملة: C₄H₆O₂

الصيغة الكيميائية له: CH₃-CO-CO-CH₃

الوزن الجزيئي: 86.09 دالتون

درجة الغليان : 88 °م

درجة الانصهار : -2 ، -4 °م

نقطة الاشتعال: 47° ف

كثافته في 15 م° هي 0.990

نقطة الوميض : 7 درجة حرارة مئوية

(Merck Index, 2009)

ثنائي استيل هو مادة منكهة يُرمز له في الاتحاد الأوروبي (EU 872 / 2012) ثم تصنيعه أول مرة قبل أكثر من 80 عاماً ويمكن الآن أن يكون موجوداً في حوالي 6000 من المنتجات الغذائية وتُستخدم لإعطاء الطعام نكهة الزبدة وقد تم تقييم مخاطر المستهلك المرتبطة بالتعرض لثنائي استيل من قبل لجنة الخبراء المشتركة بين منظمة FAO ومنظمة الصحة العالمية بشأن المواد المضافة للأغذية (JEFCA) (JEFCA, 1998) ولم يلاحظ أن هناك خوفاً من استخدام ثنائي الاستيل كمنكه في الغذاء.

1-13-اكتشاف ثنائي الاستيل:

تم اكتشاف ثنائي الاستيل من قبل العالم الفرنسي لويس باستور في عام 1860 من خلال أبحاثه على تخمر البيرة حيث كان يحدد الخميرة وهي على قيد الحياة في أوج نشاطها ، وفي وقت لاحق حصل الكيميائيون الأوروبيون على ثنائي الاستيل من مثيل اتيل كيتون عام 1920 وبعد فترة انتشرت المواد المنكهة الصناعية بسرعة والآن يتم إنتاج ثنائي الاستيل بشكل طبيعي من خلال عملية التخمر.

1-14-تواجد ثنائي الاستيل:

1-14-1- ثنائي الاستيل في الأطعمة:

يُعد ثنائي الاستيل والاسيتون من المركبات التي تعطي الزبدة المذاق المميز، و لهذا تقوم الشركات المصنعة والمنتجة للزبدة والسمن النباتي بإضافة ثنائي الاستيل والأسيتون جنباً إلى جنب مع بيتا كاروتين للحصول على اللون الأصفر وجعل المنتج النهائي بطعم الزبدة.

1-14-2- ثنائي الاستيل في المشروبات الكحولية:

يوجد ثنائي الاستيل بمستويات منخفضة في المشروبات الكحولية لا يمكن الشعور والإحساس بها في الفم ولكن يضيفي زيادة مستويات ثنائي الاستيل نكهة الزبدة أو الحلوى في المشروبات الكحولية ويوجد في بعض أنماط من البيرة (على سبيل المثال إن وجود ثنائي الاستيل في معظم البيرة المنتجة في الجزر البريطانية يمكن أن يكن مقبولاً أو مرغوباً فيه وعند مستويات منخفضة في بعض الحالات يكون معتدلاً وفي حالات أخرى يعتبر وجودها عيباً صناعياً غير مرغوب

فيها) ويتم إنتاج ثنائي الاستيل خلال عملية التخمير كمنتج ثانوي من حمض أميني أساسي (فالين) عندما تنتج الخميرة α اسيتولاكتات بعد امتصاص الخميرة لثنائي استيل وانخفاض مجموعات الكيتون ليتم تشكيل الاسيتون و 3،2 butanedione مركبات عديمة النكهة.

وتقوم الخميرة بامتصاص بقية ثنائي الاستيل الموجود بالبيرة الذي تم رفع درجة حرارته قليلاً لمدة يومين أو ثلاثة أيام بعد اكتمال عملية التخمير .

يُشجع صناع بعض أنواع النبيذ مثل مصنعي نبيذ كاردوني على تعزيز إنتاج ثنائي الاستيل لأنه يضيفي النكهة في هذه المشروبات الروحية وقد كان وجود ثنائي الاستيل في نبيذ كاردوني كالفرنسا معروفاً باسم قنابل الزبدة على الرغم من أن هناك اتجاهًا متزايداً نحو العودة إلى الانماط الفرنسية التقليدية تم قياس تراكيز من 0,005 ملغ/ل إلى 1,7 ملغ/ل (Martineau *et al.*, 1995) في خمور كاردوني و كانت الكمية اللازمة للشعور بنكهة ثنائي الاستيل أقل 0,2 ملغ/ل (Nielsen and Richelieu, 1999).

1-15- إنتاج ثنائي الاستيل:

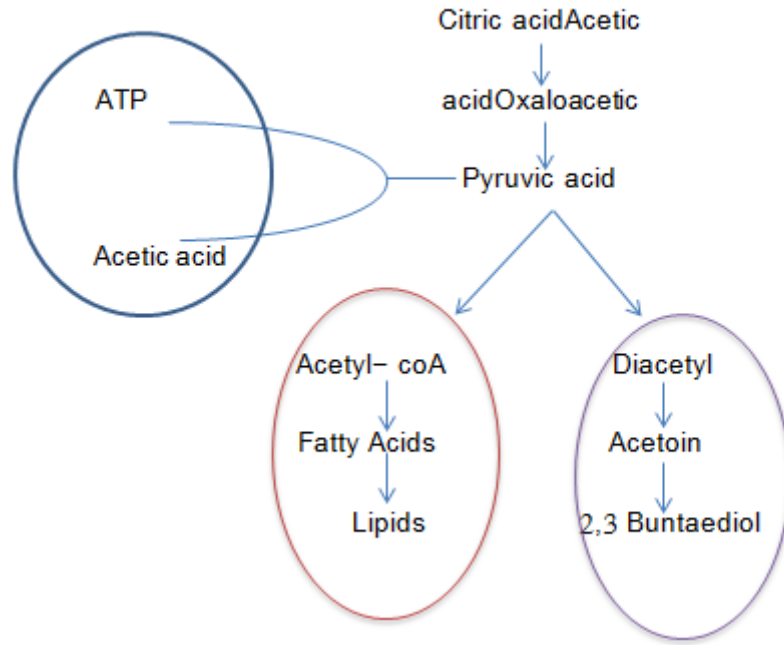
1-15-1- إنتاج ثنائي الاستيل بواسطة نزع الهيدرجين من 2، 3 بيوتانديول:

يتم إنتاج ثنائي الاستيل بواسطة نزع الهيدرجين من 2، 3 بيوتانديول و ينشأ الاسيتون في مرحلة متوسطة (Siegel and Eggersdorfer, 2005) بشكل طبيعي كمنتج ثانوي من التخمير (Speckman, and Collins, 1968) ويتم إنتاج وسط زرع الكريما أو وسط زرع الحليب أو وسط زرع الزبدة بواسطة حقن كريما مبسترة أو حليب مبستر في البداية بوسط زرع لبنني ليتم خفض درجة الحموضة المطلوبة (أو زيادة في الحموضة) وبعد ذلك يكتسب وسط زرع كريما الزبدة النكهة الحامضية وطعم ثنائي الاستيل من بكتريا حمض اللبن.

1-15-2- إنتاج ثنائي الاستيل بواسطة بكتريا حمض اللبن:

تعتبر البيروفات المستقلب الرئيسي وتستخدم لتخليق الدهون المستخدمة لبناء الأغشية الفوسوليبيدية وهي المكونات الأساسية لغشاء الخلية أو المستهلكة لإنتاج جزيئات الاسيتون ولذلك تعتبر عملية تشكيل هذه الجزيئات هامة لإزالة سموم الخلايا كما أن تشكيل جزيئات الاسيتون ضرورية لتنظيم درجة الحموضة داخل الخلايا ، كما يُستخدم حمض الليمون كمصدر للطاقة عن طريق بكتريا حمض اللبن ، يتم تحويل جزيئات استيل الفوسفات المتجمعة من البيروفات إلى حمض الخليك وإنتاج الفوسفات المستخدمة في تصنيع ATP (Wagner *et al.*, 2005) وعندما تكون الظروف ملائمة لنمو البكتريا تتحول البيروفات إلى دهون أو ثنائي الاستيل

اعتماداً على متطلبات الدهون والطاقة للخلية أما في حال عدم توافر الظروف الملائمة لنمو البكتيريا فتستخدم البكتيريا حمض الليمون لإنتاج مركبات الاسيتون الشكل (2).

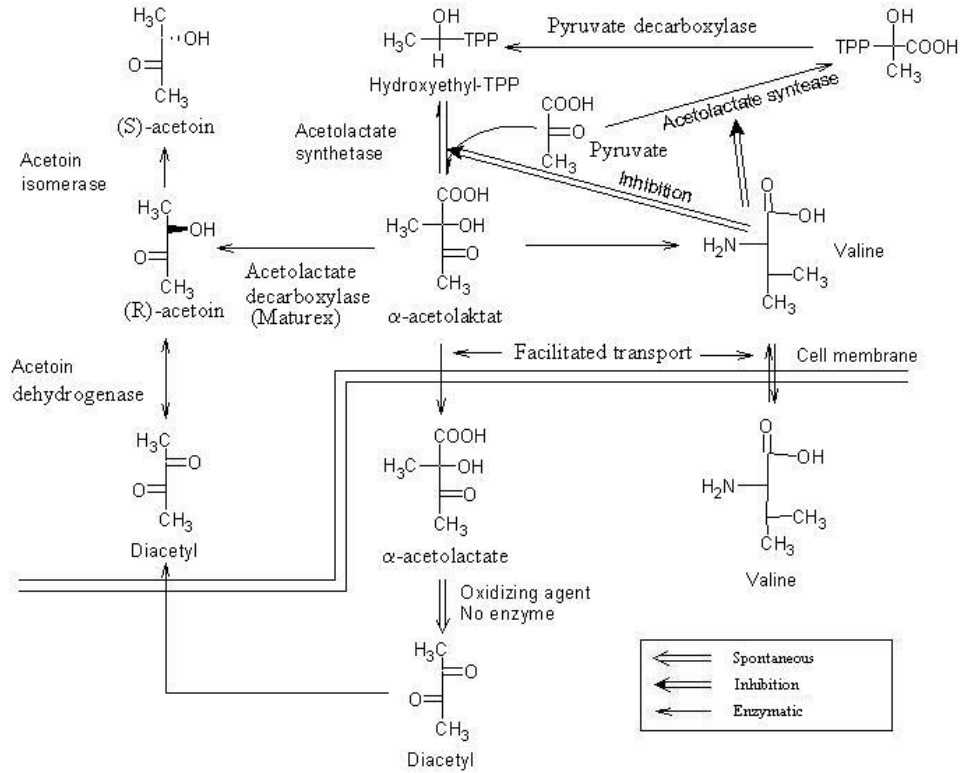


(Renouf *et al.*, 2006).

الشكل (2) مسارات تدهور حمض الليمون بواسطة بكتيريا حمض اللبن

1-15-3- إنتاج ثنائي الاستيل في الألبان:

يتم إنتاج الفا اسيتو لاكتات أساساً من بكتيريا حمض اللبن نتيجةً لعملية التمثيل الغذائي لحمض الليمون وهو أحد المكونات البسيطة في الحليب (Swindell *et al.*, 1996) وتم العثور على القدرة من الاستفادة من حمض الليمون فقط في بعض أنواع *Leuconostoc* وبشكل خاص في أنواع *Lactobacillus.lactis* ويعود ذلك إلى موازنة معادلات الأكسدة حيث يتم تحويل السكريات عبر البيروفات إلى حمض اللبن (Hugenholtz, 1993) بينما تتأكسد ركيزة حمض الليمون إلى α اسيتولاكتات وبعد ذلك إلى اسيتون عبر نزع الكربوكسيل من α اسيتولاكتات و قد أظهرت سلالات لبنية محددة *lactobacillus.lactis* معزولة من اوساط زرع الألبان أنها تنتج كميات كبيرة من α اسيتولاكتات من حمض الليمون على الرغم من افتقارها إلى أنزيم α اسيتولاكتات (Hugenholtz.and Starrenburg, 1992) وديكربوكسيلاز وهذه العملية في تخمر الالبان هي المسؤولة عن إنتاج مستويات عالية من ثنائي الاستيل والمنتجة مباشرة من نزع الكربوكسيل كيميائياً من α اسيتولاكتات الشكل (3).



(Swindell *et al.*, 1996)

الشكل (3) آلية تشكيل ثنائي الاستيل

1-15-4- إنتاج ثنائي الاستيل في البيرة :

يتم تحويل 2-اسيتولاكتات ببطء (Bartousky and Henschke, 2004) إلى ثنائي الاستيل بواسطة تفاعل كيميائي (عملية غير أنزيمية) ويتم تحويل ثنائي استيل إلى اسيتون بواسطة ثنائي الاستيل ريدوكتاز من خلايا الخميرة (Diderichsen *et al.*, 1990)

1-16- رأي المعهد الوطني والاتحاد الأوروبي في استخدام ثنائي الاستيل:

بين المعهد الوطني للصحة والسلامة (NIOSH) أنه عند استخدام ثنائي الاستيل كمنكه في صناعة الزبدة و في العديد من الأطعمة قد تكون خطيرة عند تسخينها واستنشاقها على مدى فترة طويلة (Turner *et al.*, 2011) إذ تعرض العمال في العديد من المصانع التي تقوم بتصنيع منكهات الزبدة إلى التهاب القصبات الإنسدادي وهو مرض خطير ونادر في الرئتين، علماً أن هناك قوانين في الهيئة التشريعية في كاليفورنيا تحظر استخدام ثنائي الاستيل

(Federal Register, 2009) وتوصي نشرة المعلومات الصحية أصحاب المصانع باستخدام تدابير السلامة المهنية لتجنب تعرض العمال للآثار التي قد تكون قاتلة من المنكهات والمواد الأخرى المنكهة للزبدة المحتوية على ثنائي الاستيل أو بدائله.

تشير الدراسة الأولية التي نُشرت عام 2012 إلى أن ثنائي الاستيل قد فاقم تأثير بيتا اميلويد وهي عملية مرتبطة بمرض الزهايمر. (More et al., 2012)

1-17-أسباب خطورة ثنائي الاستيل وسميته:

إن خطر ثنائي الاستيل يكمن في استنشاقه عندما يسخن في درجات حرارة عالية وفقاً لوكالة حماية البيئة إذ يحتوي البخار المُستنشق العشرات من المواد الكيميائية المنكهة، إحدى هذه المواد هو ثنائي الاستيل، اكتشف دكتور دانيال مورغان في المعهد الوطني لعلوم الصحة والبيئة بديل ثنائي الاستيل وهو 2,3-pentanedione وهو أيضاً خطير تسبب في إصابات للحيوانات وهو تقريباً مطابق في سميته لثنائي الاستيل.

1-18-الأمراض التي يسببها ثنائي الاستيل:

لا يوجد هناك مخاطر صحية كبيرة في الأطعمة التي تحوي ثنائي استيل لأن (FDA) قد صُنف ثنائي الاستيل من الأطعمة الآمنة للاستهلاك (Grass)

(Crowley and ElAmin, 2007) ولا يوجد هناك مخاوف بشأن استنشاق أبخرة ثنائي الاستيل من عامة الناس المستهلكين أو شم الأطعمة بنكهة ثنائي الاستيل في المنزل ولكن المخاوف تتبع من قضايا سلامة العمال والآثار المحتملة لاستنشاق ثنائي الاستيل والتي ظهرت أول مرة في منشأة لإنتاج الذرة الصفراء في أواخر عام 1990 حيث تعرض العمال لمشاكل تنفسية، إن مئات العمال في مصانع إنتاج الذرة الصفراء (البوشار) يصابون بمرض رئة عمال الذرة الصفراء بسبب إضافة ثنائي الاستيل كمنكه.

وهناك دراسة أجريت من قبل BASF تضمنت الاستنشاق الإجباري لثنائي الاستيل من قبل 3 مجموعات من الجرذان تضم كل مجموعة 10 جرذان خلال فترة زمنية وهي 4 ساعات. المجموعة الأولى من الجرذان أُجبرت على استنشاق التراكيز المنخفضة من ثنائي الاستيل (2.25 مغ/ال) بينما المجموعة الثانية والثالثة أُجبرت على استنشاق التراكيز المعتدلة (5.2 مغ/ال) والعالية (23.9 مغ/ال) على التوالي.

الجرذان التي تعرضت للتراكيز المنخفضة لم تمت أثناء الدراسة ، أما الجرذان التي تعرضت للتراكيز المعتدلة والعالية ماتت خلال سبعة أيام بعد التعرض.

كما ظهرت على الجرذان التي تعرضت للتراكيز المعتدلة و المرتفعة أعراض المرض وهذا دليل على جرح المنطقة التنفسية (Fama and Esq, 2007).

في آب عام 2000 م طلبت وزارة مقاطعة ميسسوري للصحة والخدمات المساعدة من المعهد الوطني للسلامة والصحة المهنية (NIOSH) التحري عن مرض الرئة الإنسدادى الحاد في عمال الذرة الصفراء العاملين في مصنع Glistler Mary Lee في كاسبر، ميسسوري وهناك خمسة معامل أخرى درست أيضاً من قبل (NIOSH).

أظهرت نتائج المعهد بالنسبة لمعمل Glistler Mary Lee في تشرين الثاني عام 2000 م أن العمال الذين حضروا خليط الزبدة الذي يحوي ثنائي الاستيل أصابهم نقص في سعة الرئة وفي بعض الحالات التهاب القصبات الإنسدادى (وهو مرض يصيب الرئتين ويتم توصيل القصبات مع نسيج حبيبي وهو مرض نادر ومهدد للحياة ويسبب ندبات في الشعب الهوائية الصغيرة في الرئة والتي يمكن أن تؤدي إلى تبادل أقل في الشعب الهوائية وعلى مر الزمن انسداد مجرى الهواء وقد يكون بعض الأفراد أكثر حساسية من غيرها لآثار استنشاق ثنائي الاستيل) ، أيضاً المعامل الخمسة الأخرى من الذرة الصفراء قُيِّمت من قبل (NIOSH) وكان عندها دليل مماثل من الخطر.

أجرى (NIOSH) دراسة على حيوانات مخبرية حيث أجبرت الجرذان على استنشاق الأبخرة من نكهة الزبدة الساخنة لمعمل Glistler Mary Lee وأظهرت النتائج إصابة شديدة لمجرى الهواء بعد 6 ساعات من التعرض.

أظهر تقييم (NIOSH) للقوة العاملة في معمل Glistler Mary Lee أن هناك علاقة بين التعرض لأبخرة المنكهات المستخدمة في عملية إنتاج الذرة الصفراء والانخفاض في وظيفة الرئة وحدث أيضاً مرض الرئة الإنسدادى لدى العمال في المصانع الأخرى التي تستخدم أو تُصنع مواد منكهة. وهكذا استنتج (NIOSH) أن التعرض لاستنشاق المنكهات الكيميائية الموجودة في الزبدة هو سبب الإصابة بأمراض الرئة المهنية.

1-18-1- ثنائي الاستيل المنكه في الزبدة والمرتبطة بالزهايمر والمواد الدهنية:

قد يؤدي ثنائي الاستيل إلى تفاقم التأثير على بروتين المخ بشكل غير طبيعي وهذا يكون مرتبط بمرض الزهايمر.

أجرى علماء في جامعة مينيسوتا في مينيابوليس تحليل ثنائي الاستيل وهي المادة الكيميائية التي سبق وتم ربطها إلى مشاكل في الجهاز التنفسي لدى عمال معامل الذرة الصفراء والمنكهات الغذائية، ووجدوا أن ثنائي الاستيل يمتلك بنية مماثلة لمادة تشكل بروتينات البيتا اميلويد أكثر من الاميلويد و تتجمع مع بعضها بشكل كتل لتشكل لويحات وهذه علامة منذرة لمرض الزهايمر في

الدماغ، وقد أراد الباحثون معرفة إذا كان ثنائي الاستيل سوف يجمع البروتينات بطريقة مماثلة لتشكيل اللويحات، حيث وجدوا أن ثنائي الاستيل يؤدي إلى زيادة في مستويات البيتا اميلويد (براكمها) مما يؤدي إلى آثار سامة على الخلايا العصبية وأظهرت التجارب أيضاً اختراق ثنائي الاستيل بسهولة حاجز الدم في الدماغ وهي طبقة من الخلايا التي من المفترض أن تمنع المواد الضارة من الدخول إلى المخ و تسمح فقط بدخول مواد مفيدة أخرى وتم العثور على مادة كيميائية للتخفيف من آثار غليكسالاز الأول وهو البروتين الذي يحمي الخلايا العصبية (Rosenberg, 2013).

ولكن الدراسة لم تظهر العلاقة السببية بين هذه المادة الكيميائية ومرض الزهايمر ولم يتم الحصول على النتائج إلا من انابيب الاختبار (More et al., 2012) وفي ضوء التعرض المزمّن للعمال ثنائي الاستيل فإن هذه الدراسة تثير احتمالاً مثيراً للقلق من سمية عصبية طويلة الأجل بواسطة ثنائي الاستيل.

1-19-1-التعرض والتحكم بثنائي الاستيل:

1-19-1-حدود التعرض

وضعت وكالات مثل (OSHA،NIOSH) معايير السلامة والمبادئ التوجيهية لحماية العمال من الأخطار بما في ذلك الأخطار المهنية على المستوى الاتحادي وتم تحديد حد التعرض (REL) أو عتبة القيمة الحدية (TLV) لثنائي الاستيل (OHS Online, 2010) و في آب (2011) اقترح المعهد الوطني للصحة والسلامة المهنية (NIOSH) حد التعرض (REL) وهي تعادل (5) أجزاء في البليون (PPb) خلال (8) ساعات في اليوم و(40) ساعة عمل خلال أسبوع لحماية العمال من التعرض قصير الأجل إلى ثنائي الاستيل.

1-19-2- الضوابط الإدارية:

- يجب اتخاذ ضوابط إدارية وتشكيل ممارسات عمل جيدة لمنع التعرض لثنائي الاستيل (NIOSH, 2003 a, b) و (OSHA, 2010 a, b) وتشمل هذه الضوابط ما يلي:
- 1- تجنب استخدام الهواء المضغوط لتنظيف المساحيق التي قد تحتوي على ثنائي الاستيل.
 - 2- استخدام حاويات محكمة الاغلاق لمنع المواد المنكحة من السقوط على الأرض أو انتشارها بالهواء.
 - 3- تحديد عدد الموظفين في المناطق التي يكون فيها تراكيز عالية من ثنائي الاستيل.
 - 4- تدريب الموظفين على كيفية التقليل من التعرض لثنائي الاستيل.

1-19-3-الممارسات المتبعة لتجنب التعرض لخطر ثنائي الاستيل:

- 1- استبدال ثنائي الاستيل بمواد منكهة أقل خطورة إذا كان ممكناً.
- 2- تجنب الغبار والبخاخات وأبخرة المواد المنكهة.
- 3- استخدام ضوابط هندسية.
- 4- استخدام عمليات إنتاج مغلقة.
- 5- عزل غرف الاختلاط والعمليات التصنيعية التي ينتج عنها تراكيز عالية من ثنائي الاستيل عن بقية أماكن العمل.
- 6- من الضروري استخدام أدنى درجات حرارة في العمليات التصنيعية التي تتطلب استخدام الحرارة.
- 7- يجب وضع بطاقة تحذير على الأوعية التي توضع فيها المواد المنكهة (ثنائي الاستيل)
- 8- يجب مراقبة تراكيز الهواء.
- 9- التدريب على استخدام جهاز التنفس الاصطناعي.
- 10- غسل الأيدي بالماء الفاتر والصابون بعد التعامل مع ثنائي الاستيل.
- 11- تقديم اختبارات التنفس (قياس التنفس).
- 12- ضمان السلامة المهنية عند تنظيف الخزانات وغيرها من الأجهزة .

1-20- مبررات البحث:

يصنف مركب ثنائي الاستيل من بين مركبات النكهة في منتجات الألبان، ولكن يصنف في عصير التفاح ومنتجاته من عوامل الفساد المؤدية إلى تدهور القيمة الغذائية وتدني الصفات الفيزيائية والحسية لعصير التفاح ومنتجاته ، من هنا تأتي أهمية هذه الدراسة لإيجاد الحلول المناسبة لمنع تشكله.

1-21-أهداف البحث:

- 1- عزل نوعي البكتريا *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactbacillus plantaum* من (مشتقات الالبان)
- 2- تصنيف الأنواع البكتيرية المعزولة.
- 3- تلقيح السلالات المعزولة بعصير التفاح ومنتجاته (عصير طبيعي - خل التفاح).
- 4- استخلاص ثنائي الاستيل وتقديره كمياً من عصير التفاح ومنتجاته (عصير طبيعي - خل التفاح) باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer).
- 5- دراسة تأثير حرارة التخزين ومدته على كمية ثنائي الاستيل المنتجة خلال فترة التخزين (6 أشهر).

2- مواد البحث وطرائق العمل:

مواد البحث:

- عصير التفاح المركز (70%) وخل التفاح من معمل عصير الجبل الطبيعي في محافظة السويداء.
- عصير تركيز (20%) مبستر وغير مبستر مستخرج من عصير التفاح المركز.
- عينات عصير التفاح ومركزاته وخل التفاح مبسترة و ملقحة بنوعي بكتريا *Lactbacillus plantaum* و *Leuconostoc mesenteroides*
- تم تخزين العينات لمدة ستة أشهر بدرجات حرارة مختلفة (4 و 20 و 30)°م والعينات الملقحة لمدة ثلاثة أشهر بدرجات حرارة (4 و 20)°م.

طرائق العمل:

- عزل بكتريا حمض اللبن:

عزلت بكتريا حمض اللبن من عينات غذائية (مشتقات الألبان) بعد عمل سلسلة من التخفيفات على وسط M17 لبكتريا حمض اللبن كروية الشكل وعلى وسط MRS لبكتريا حمض اللبن عصوية الشكل.

أجريت الاختبارات الحيوية الكيميائية (صبغة غرام واختبار الكاتلاز) وصنف نوعين من البكتريا باستخدام API 50 CHL وهي عبارة عن شرائح لتصنيف بكتريا حمض اللبن واستخدمت هذه الشرائح وفقاً لتعليمات الشركة الصانعة.

وتم مقارنة سلالات بكتريا حمض اللبن الناتجة مع سلالات نقية من بكتريا *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactbacillus plantaum* من مركز التقنية الحيوية في كلية الزراعة بدمشق.

1- الاختبارات الميكروبية: حسب (Sobczak, 1991)

استخدام أوساط زرع مختلفة وهي:

- 1- العد الكلي للأحياء الدقيقة على بيئة الاغار المغذي (Nutrient Agar)
- 2- العد الكلي للخمائر والفتور على بيئة ديكتروز البطاطا (PDA)
- 3- عد بكتريا حمض اللبن على بيئة (MRS-Agar).

2- الاختبارات الكيميائية:

1- قياس نسبة المواد الصلبة الذائبة حسب (AOAC, 1990)

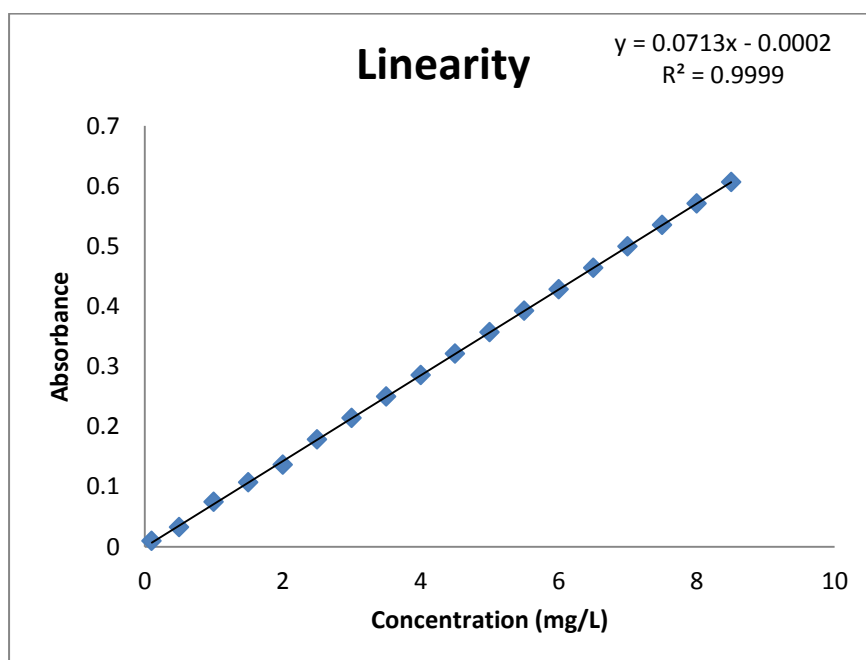
2- تعيين الحموضة المعيارية: حسب (AOAC, 1990)

$$\text{الحموضة المعيارية \%} = \frac{\text{عدد مل } NaOH \text{ المستهلكة } \times 0.1X \times \text{الوزن المكافئ للحمض السائد}}{1000X \text{ وزن العينة}} \times 100$$

3- تعيين درجة (pH): حسب (Drzazga . 1984) باستخدام جهاز تعيين الـ pH.

4- تعيين ثنائي الاستيل:

تم تقدير ثنائي الاستيل حسب (Grzybowski and Warowna, 1991) باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) على طول موجة 530 نانومتر واعتمادا على المخطط البياني الشكل (4) وفق الطريقة التالية:



الشكل (4) يبين المحلول القياسي لثنائي الاستيل

تم تقطير 300 مل من العينة بتركيز 12% وأخذ 25 مل من السائل المقطر وإضافة 10 مل من (محلول الفانافنتول + كحول اتيلي 95%) بتركيز 5% و 4 مل من (محلول كرياتين في ماءات البوتاسيوم 40%). وتم قياس الامتصاص الضوئي خلال مدة لا تتجاوز دقيقة واحدة على طول موجة 530 نانومتر.

وتم حساب تركيز ثنائي الاستيل في جميع العينات باستخدام محاليل قياسية ذات تراكيز مختلفة من ثنائي الاستيل (0.1-50 ppm).

3- النتائج والمناقشة:

3-1- التغيرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح تركيز 20% المبستر وغير المبستر خلال

فترة التخزين (6 أشهر):

أظهرت النتائج المبينة في الجدولين (5) و(6) وجود انخفاض في عدد الأحياء الدقيقة (العداكلي+الخمائروالفطور+بكتريا حمض اللبن) وذلك بدءاً من الشهر الثالث من التخزين في جميع درجات الحرارة انخفضت بالنسبة للعداكلي من $10^4 \times 2.1$ إلى $10^3 \times 3.0$ لعصير التفاح المبستر المخزن على درجة حرارة 4°م ومن $10^4 \times 1.7$ إلى $10^4 \times 1$ لعصير التفاح غير المبستر والمخزن على درجة حرارة 4°م وقد وصل هذا الانخفاض إلى 10×7 و 10×5 في نهاية فترة التخزين على الدرجة 4°م لكل من عصير التفاح المبستر وغير المبستر على التوالي.

كما تشير النتائج المبينة في الجدولين (5) و(6) إلى حدوث انخفاض مماثل في تعداد الخمائر والفطور في كل من عصير التفاح المبستر وغير المبستر بدءاً من الشهر الثالث وحتى الشهر السادس على كافة درجات حرارة التخزين.

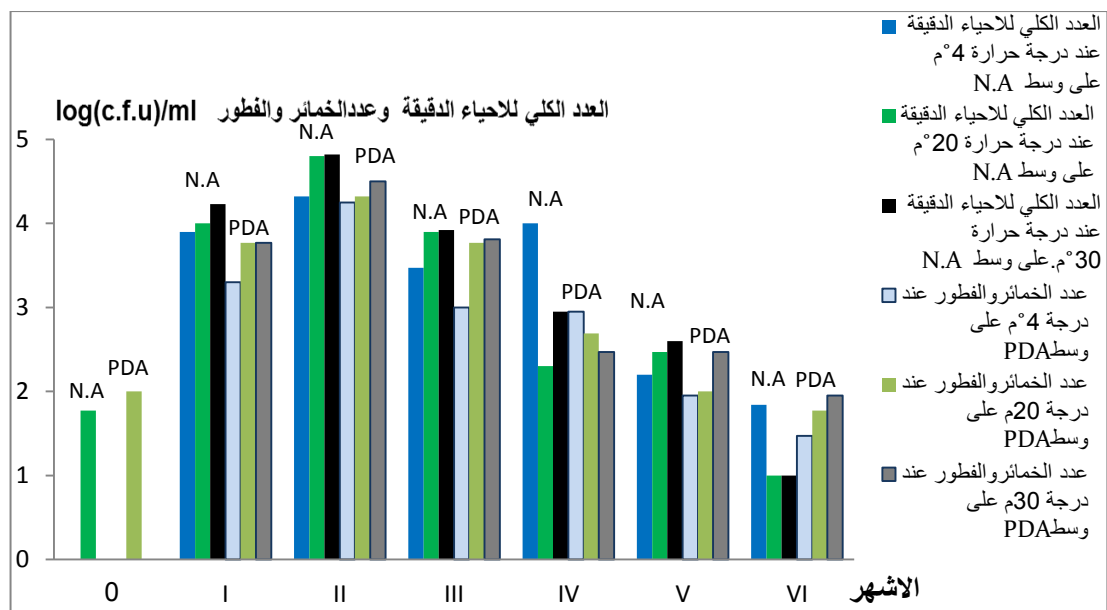
بالنسبة لبكتريا حمض اللبن فإن تعدادها يبدأ في الانخفاض في كافة الأوساط الزرعية وفي درجات حرارة التخزين المختلفة بدءاً من الشهر الثالث وحتى نهاية الشهر الرابع ولم تسجل النتائج وجود أي عدد لهذه البكتريا خلال الشهرين الأخيرين من التخزين في كل من عصير التفاح المبستر وغير المبستر والمخزن على درجات الحرارة المختلفة (4°م و 20°م و 30°م) وبهدف توضيح نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المبستر وغير المبستر تركيز 20% خلال ستة أشهر من التخزين على درجات الحرارة المختلفة (4°م و 20°م و 30°م) قمنا بترجمة نتائج الجدولين (5) و(6) على شكل أعمدة بيانية موضحة في الأشكال (5-6-7-8).

الجدول (5) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المبستر تركيز (20%) خلال فترة التخزين

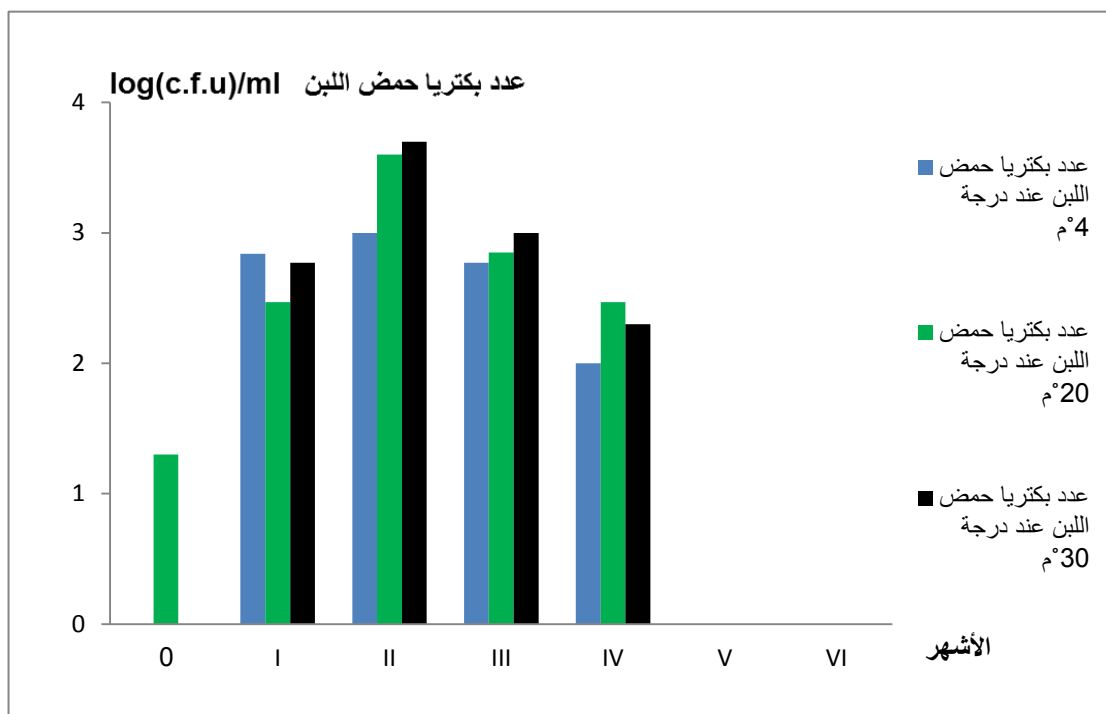
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة م°	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
10x2	² 10x1	10x8	20	0
² 10x7	³ 10x2	³ 10x8	4	1
² 10x3	³ 10x6	⁴ 10x1.0	20	
² 10x6	³ 10x6	⁴ 10x1.7	30	
³ 10x1	⁴ 10x1.8	⁴ 10x2.1	4	2
³ 10x4	⁴ 10x2.1	⁴ 10x6.4	20	
³ 10x5.1	⁴ 10x3.2	⁴ 10x6.7	30	
² 10x6.0	³ 10x1	³ 10x3.0	4	3
² 10x7.1	³ 10x6	³ 10x8.0	20	
³ 10x1	³ 10x6.6	³ 10x8.4	30	
² 10x1	² 10x9	³ 10x10	4	4
² 10x3	² 10x5	² 10x2	20	
² 10x2	² 10x3	² 10x9	30	
0	10 X9	² 10x1.6	4	5
0	² 10x1	² 10x3.0	20	
0	² 10x3	² 10x4.0	30	
0	10 X3	10 X7	4	6
0	10 X6	10 X1	20	
0	10 X9	10 X1	30	

الجدول (6) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح غير المبستر تركيز (20%) خلال فترة التخزين

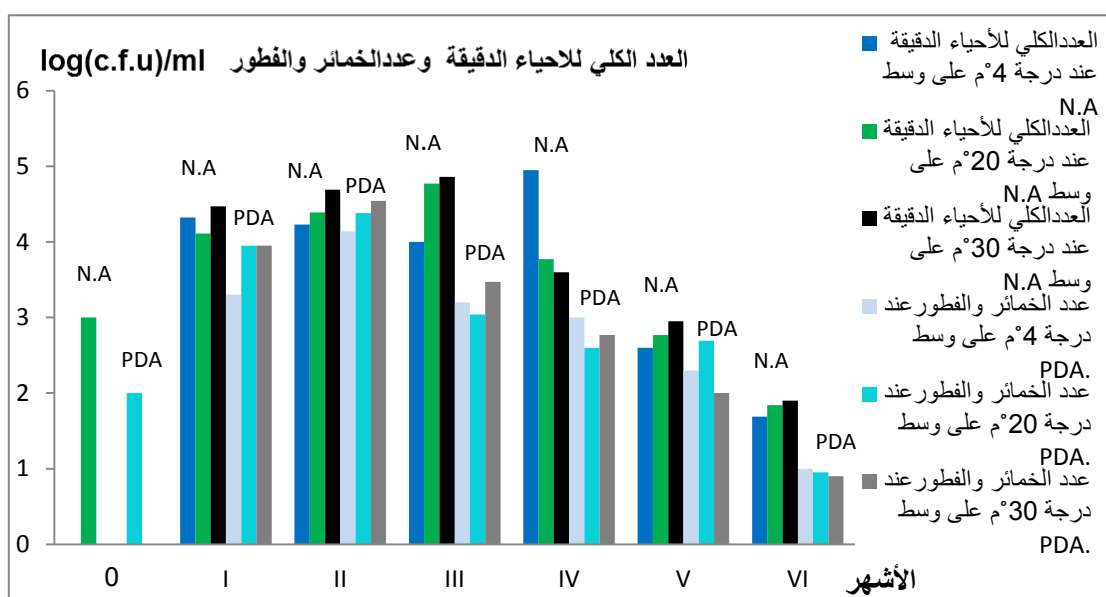
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة °م	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
10X2	² 10X1	³ 10X1.0	20	0
³ 10X1.1	³ 10X2	⁴ 10X2.1	4	1
³ 10X6.0	³ 10X9	⁴ 10X1.3	20	
³ 10X6.1	³ 10X9	⁴ 10 X3	30	
³ 10X1.5	⁴ 10X1.4	⁴ 10X1.7	4	2
³ 10X8.4	⁴ 10X2.4	⁴ 10X2.5	20	
³ 10X9.2	⁴ 10X3.5	⁴ 10X5.0	30	
² 10 X9	³ 10X1.6	⁴ 10X1.0	4	3
² 10X9.5	³ 10X1.1	⁴ 10 X6.0	20	
³ 10X1.5	³ 10 X3	⁴ 10X7.3	30	
10X6	³ 10X1	³ 10 X9	4	4
10X9.5	² 10X4	³ 10X6	20	
10X8	² 10X6	³ 10X4	30	
0	² 10X2	² 10X4	4	5
0	² 10X5	² 10X6	20	
0	² 10X1	² 10X9	30	
0	10X1	10X5	4	6
0	10X0.9	10X7	20	
0	10X0.8	10X8	30	



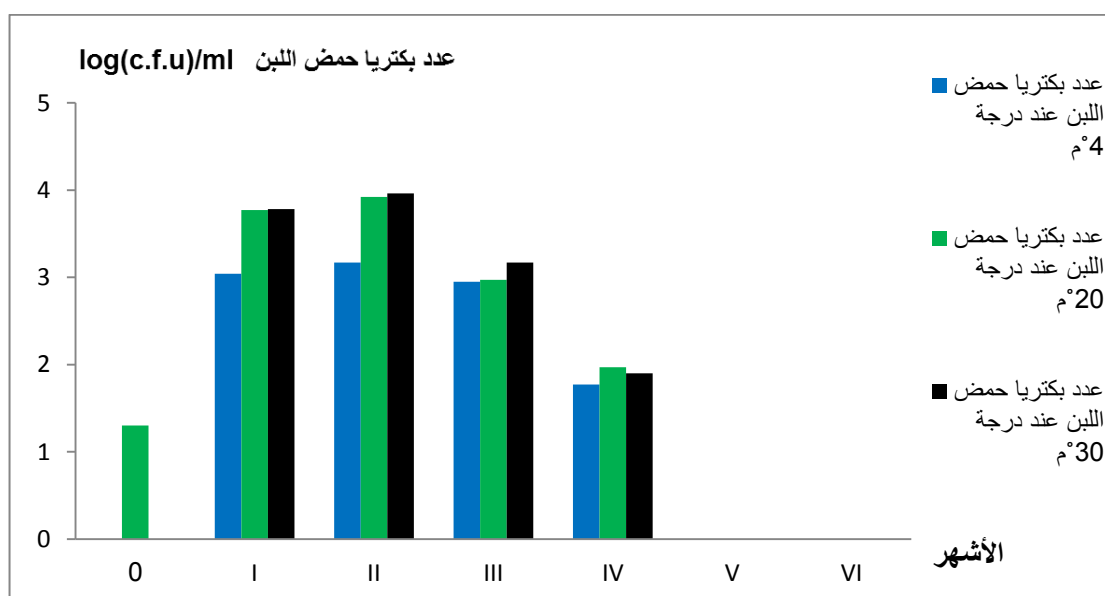
الشكل (5) العَدَد الكلي للأحياء الدقيقة وعداد الخمائر والفطور في عصير التفاح المبستر تركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة N.A او ابينة PDA



الشكل (6) عَدَد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبستر تركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة MRS



الشكل (7) العدد الكلي للأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور في عصير التفاح غير المبستر تركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة N.A أو ابينة PDA



الشكل (8) عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح غير المبستر تركيز 20% خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة IMRS

إن السبب في ارتفاع عدد الأحياء الدقيقة في الشهرين الأول والثاني من التخزين قد يعود إلى الوسط المغذي لنموها وتكاثرها ولكن يوجد تباين واضح في درجة النمو عند درجات الحرارة المختلفة والتي أظهرت أن درجة الحرارة المثالية لنمو الجراثيم هي 20°م.

أما بالنسبة إلى الانخفاض التدريجي في العدد الكلي للأحياء الدقيقة بدءاً من الشهر الثالث من التخزين يمكن تفسيره بزيادة تراكم النواتج السامة للاستقلاب الجرثومي الذي يؤدي إلى إيقاف تكاثرها وموتها.

وجاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج الباحثين (Grzybowski and Warowna, 1991).

3-2- التغيرات الكيميائية لعصير التفاح تركيز 20% المبستر وغير المبستر:

نلاحظ من النتائج المبينة في الجدولين (7) و(8) انخفاضاً ملحوظاً في تركيز المادة الصلبة في عينات عصير التفاح تركيز (20%) (المبسترة وغيرالمبسترة) وعند مختلف درجات حرارة التخزين (4 و 20 و 30)°م وقد كان الانخفاض واضحاً في تركيز المواد الصلبة الذائبة عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م وبشكل خاص عند الدرجة 20°م حيث انخفض التركيز من 20% إلى 13.9% و 13.7% في عصير التفاح المبستروغيرالمبسترعلى الترتيب في نهاية فترة التخزين 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 الجدولين (7) و(8) حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH خلال فترات التخزين المشار إليها وخاصة عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م حيث سجلت أدنى قيمة 3.77 عند الدرجة 30°م لشهر التخزين الأول لعصير التفاح المبستر.

وبيّنت النتائج أيضاً ارتفاع الحموضة بشكل طفيف مع مدة التخزين على درجتي حرارة (20 و 30)°م وكانت التغيرات أقل بالنسبة لدرجة حرارة (4°م) لعصير التفاح المبستر وغير المبستر حيث وصلت في نهاية التخزين إلى 3.45% و 3.85% على الترتيب ويظهر ذلك واضحاً بالشكلين (9 و 10).

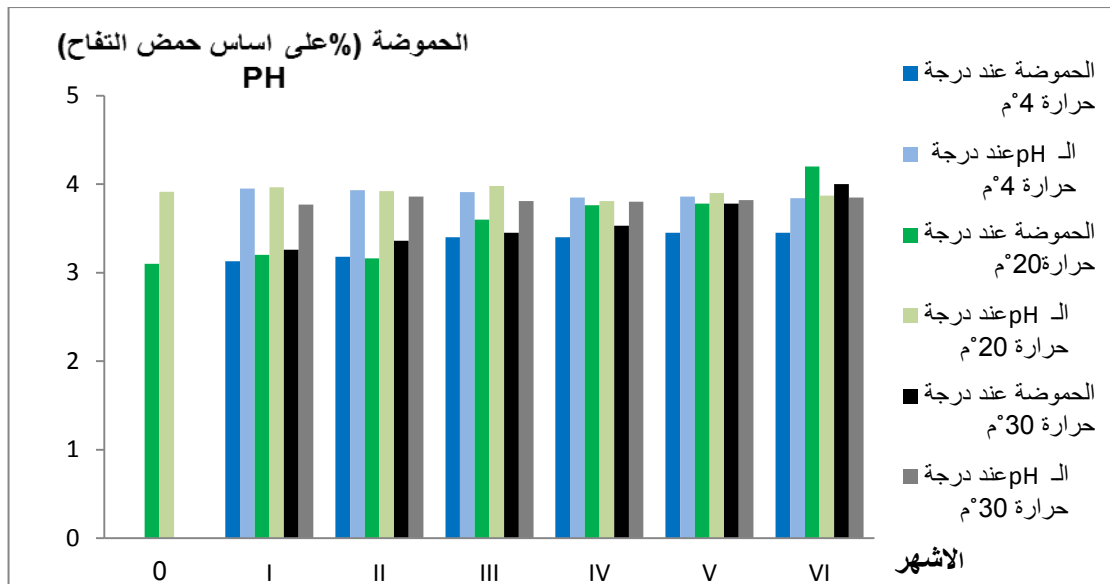
جدول (7) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المبستر بتركيز 20% خلال فترة التخزين

مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين م°	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	20	3.912	3.10	0.6
1	4	18.6	3.951	3.13	1.33
	20	18.1	3.963	3.20	2.1
	30	18.1	3.77	3.26	3.69
2	4	18.5	3.93	3.18	1.66
	20	17.0	3.92	3.16	2.88
	30	17.3	3.86	3.36	2.70
3	4	18.2	3.91	3.40	1.44
	20	16.2	3.98	3.60	3.10
	30	16.1	3.81	3.45	2.20
4	4	17.8	3.85	3.40	1.26
	20	14.7	3.81	3.76	2.60
	30	14.9	3.80	3.53	1.46
5	4	17.4	3.86	3.45	1.00
	20	14.1	3.90	3.78	0.70
	30	14.3	3.82	3.78	0.91
6	4	16.9	3.84	3.45	0.72
	20	13.9	3.87	4.20	0.42
	30	14.2	3.85	4.0	0.15

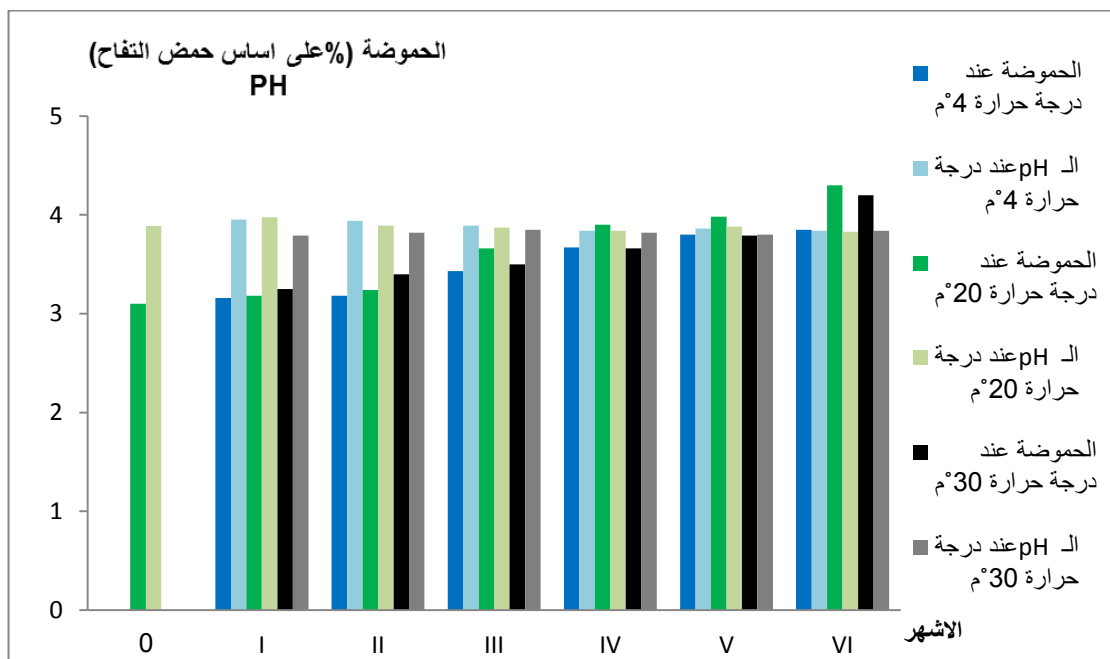
جدول (8) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح غير المبستر بتركيز 20%

خلال فترة التخزين

مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين °م	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	20	3.889	3.10	0.6
1	4	18.0	3.951	3.16	1.21
	20	17.8	3.975	3.18	2.4
	30	17.6	3.79	3.25	3.70
2	4	18.4	3.94	3.18	1.31
	20	17.0	3.89	3.24	2.63
	30	17.1	3.82	3.40	3.71
3	4	18.2	3.89	3.43	1.38
	20	15.8	3.87	3.66	3.00
	30	16.2	3.85	3.50	2.11
4	4	17.6	3.84	3.67	1.28
	20	14.3	3.84	3.90	2.80
	30	14.6	3.82	3.66	1.67
5	4	17.1	3.86	3.80	1.20
	20	14.0	3.88	3.98	1.01
	30	14.2	3.80	3.79	0.96
6	4	16.9	3.84	3.85	0.82
	20	13.7	3.83	4.30	0.51
	30	14.0	3.84	4.20	0.13



الشكل (9) تأثير الشروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المبسترتركيز (20%)



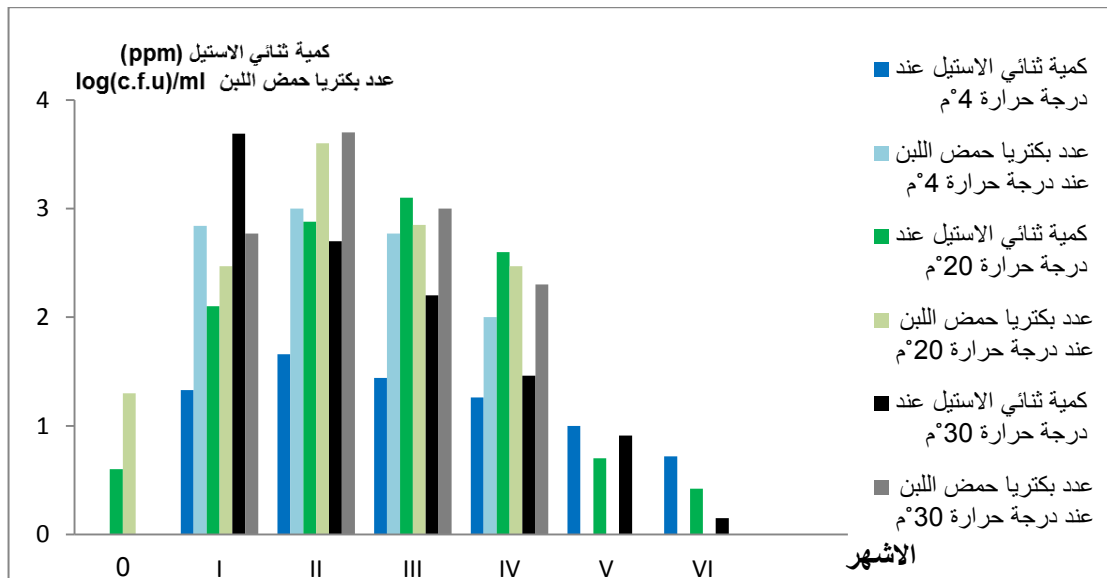
الشكل (10) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح غير المبسترتركيز (20%)

ويعود ارتفاع الحموضة إلى زيادة النشاط الجرثومي الذي يؤدي بدوره إلى ارتفاع الأحماض العضوية وهذه الزيادة لا تتأثر في درجة pH ويعود السبب في ذلك إلى طبيعة هذا الوسط وانخفاض معدل التأين في الأحماض العضوية ووجودها غالباً بصورة غير متأينة يجعل دخولها

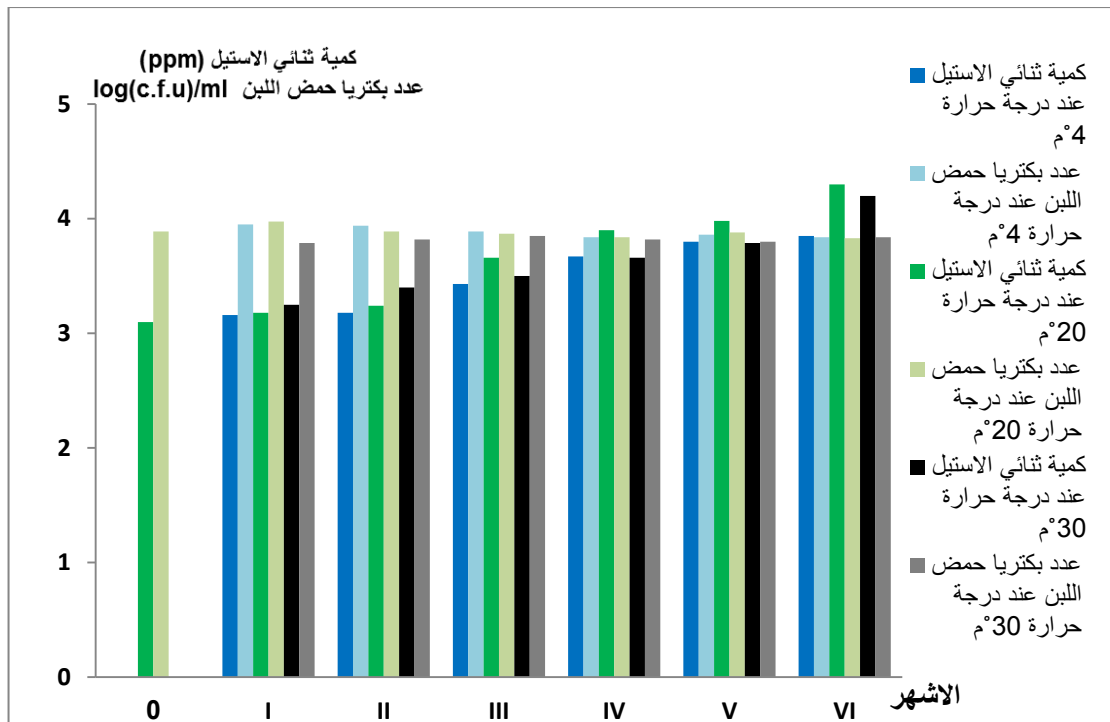
إلى الخلية أسهل مما يؤدي إلى خفض حموضة السيتوبلازما وتخليتها. وهذا ما توافق مع نتائج الباحثين (Drzazga, 1984 و Horubawa, 1986) في دراساتهم عن الحموضة.

ويلاحظ أيضاً من الجدولين (7 و 8) أن كمية ثنائي الاستيل المتشكلة في عينات عصير التفاح بتراكيزها المختلفة تتعلق بشروط التخزين المشار إليها، فعينات عصير التفاح المبستر تركيز 20% سجلت ارتفاعاً ملحوظاً في الشهر الأول من التخزين وخاصة على درجة حرارة 30°م كما هو موضح في الشكلين (11 و 12) حيث وصلت إلى 3.69 ppm (جدول رقم 7). كما سجلت عينات عصير التفاح غير المبستر تركيز 20% ارتفاعاً ملحوظاً في الشهر الثاني من التخزين وخاصة على درجة حرارة 30°م حيث وصلت إلى 3.71 ppm (جدول رقم 8). ومع نهاية الشهر الثالث يبدأ ثنائي الاستيل بالانخفاض تدريجياً لتصل إلى قيم منخفضة جداً بالشهر السادس.

جدول رقم (7) و (8)



الشكل (11) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبستر تركيز 20%



الشكل (12) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح غير المبستر مركز 20%

يعود هذا الانخفاض إلى قدرة الأحياء الدقيقة الموجودة في وسط النمو إلى تحويل ثنائي الاستيل إلى مشتقات أخرى (Burbińska *et al.*, 1983).

3-3- التغيرات الميكروبيولوجية والكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر خلال فترة تخزين (6 أشهر):

3-3-1- التغيرات الميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر: فيما يتعلق بعينات عصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر فإن النتائج المشار إليها في الجدولين (9-10) تبين بوضوح حدوث ارتفاع طفيف في عدد الأحياء الدقيقة وذلك حتى نهاية الشهر الثاني من التخزين عند درجتي حرارة (20 و 30)°م إذ وصلت بالنسبة (للعذ الكلي) إلى $10^3 \times 7$ و $10^3 \times 6$ خلال تخزين عصير التفاح المبستر المركز 70% على التسلسل ووصلت إلى $10^3 \times 10$ و $10^3 \times 1$ خلال تخزين عصير التفاح غير المبستر المركز 70% على التسلسل ووصلت بالنسبة لتعداد الخمائر والفطور $10^3 \times 8$ و $10^3 \times 8.6$ خلال تخزين عصير التفاح المبستر المركز 70% على التسلسل و $10^3 \times 3$ و $10^3 \times 2$ خلال تخزين عصير التفاح غير المبستر المركز 70% على التسلسل.

ووصلت بالنسبة لبكتريا حمض اللبن 10×7^2 على درجتي حرارة (20 و 30)°م خلال تخزين عصير التفاح المبستر المركز 70% على التسلسل و 10×1^3 و 10×1.1^3 خلال تخزين عصير التفاح غير المبستر المركز 70% على نفس درجتي الحرارة ثم تختفي في نهاية فترة التخزين كما هو مبين في الأشكال (13- 14- 15- 16) وهذه النتائج تتوافق مع نتائج (Goll, 1988).

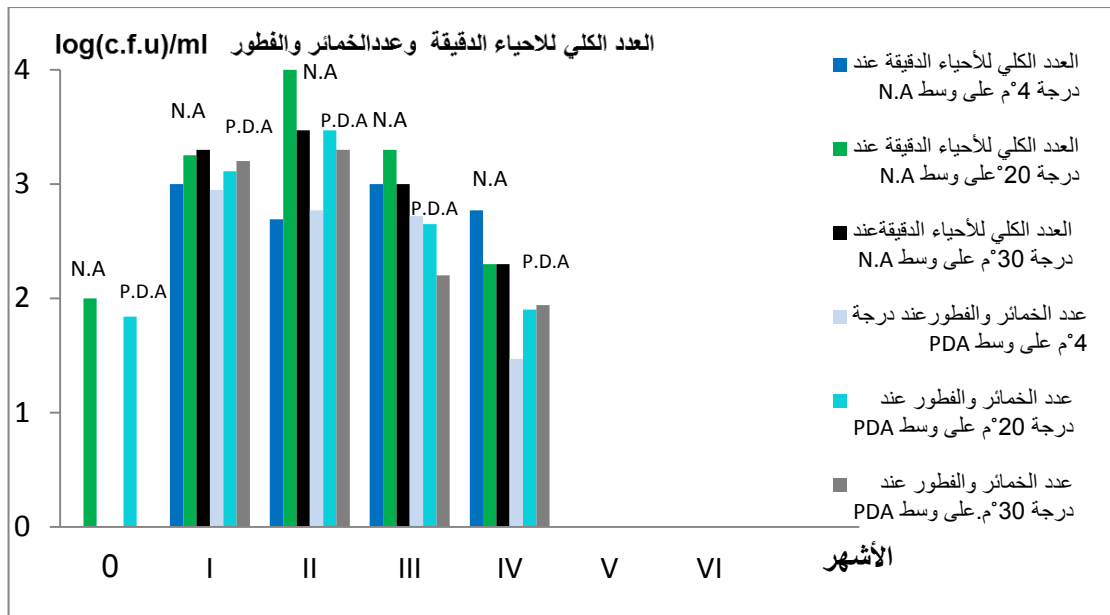
أما بالنسبة للعينات المخزنة على الدرجة 4°م فإن الزيادة أو النقصان طفيف جداً بعدد الأحياء الدقيقة يمكن إهمالها ميكروبيولوجياً (Burbianka *et al.*, 1983).

جدول (9) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المركز (70%) المبستر خلال فترة التخزين

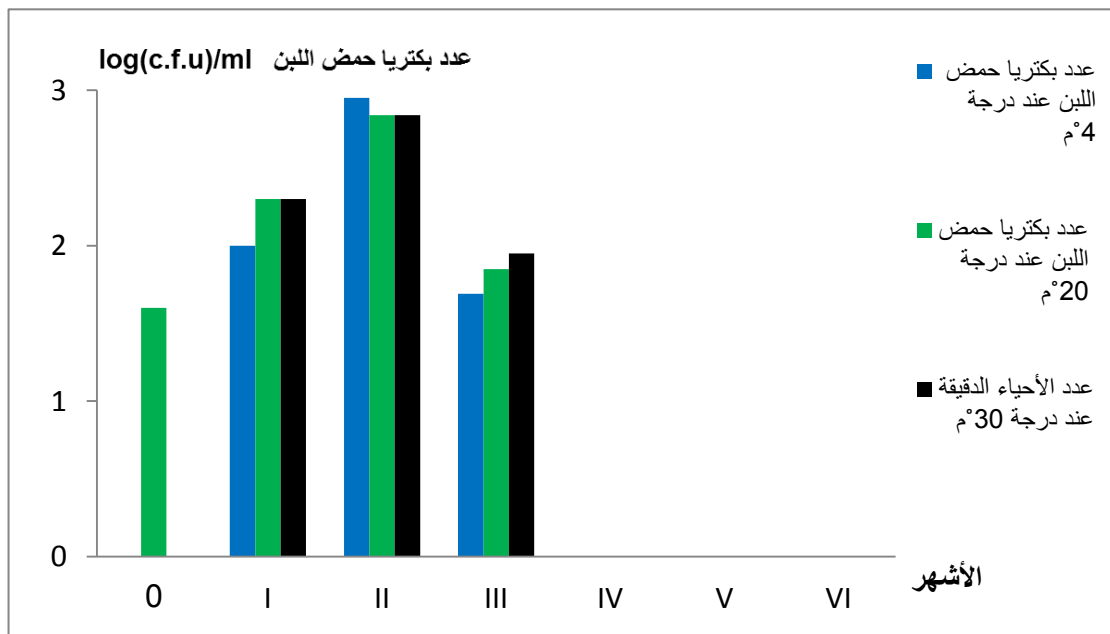
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة °م	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
10X4	10X7	10×1^2	20	0
10×1^2	10×9^2	10×1.0^3	4	1
10×2^2	10×1.3^3	10×1.8^3	20	
10×2^2	10×1.6^3	10×2^3	30	
10×9^2	10×7.2^2	10×1^3	4	2
10×7^2	10×8^3	10×7^3	20	
10×7^2	10×8.6^3	10×6^3	30	
10X5	10×5.3^2	10×1^3	4	3
10×7.2	10×4.5^2	10×2^3	20	
10×9.1	10×1.6^2	10×8.4^3	30	
0	10X3	10×6^2	4	4
0	10X8	10×2^2	20	
0	10X8.8	10×2^2	30	
0	0	0	4	5
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	6
0	0	0	20	
0	0	0	30	

جدول (10) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في عصير التفاح المركز (70%) غير المبستر خلال فترة التخزين

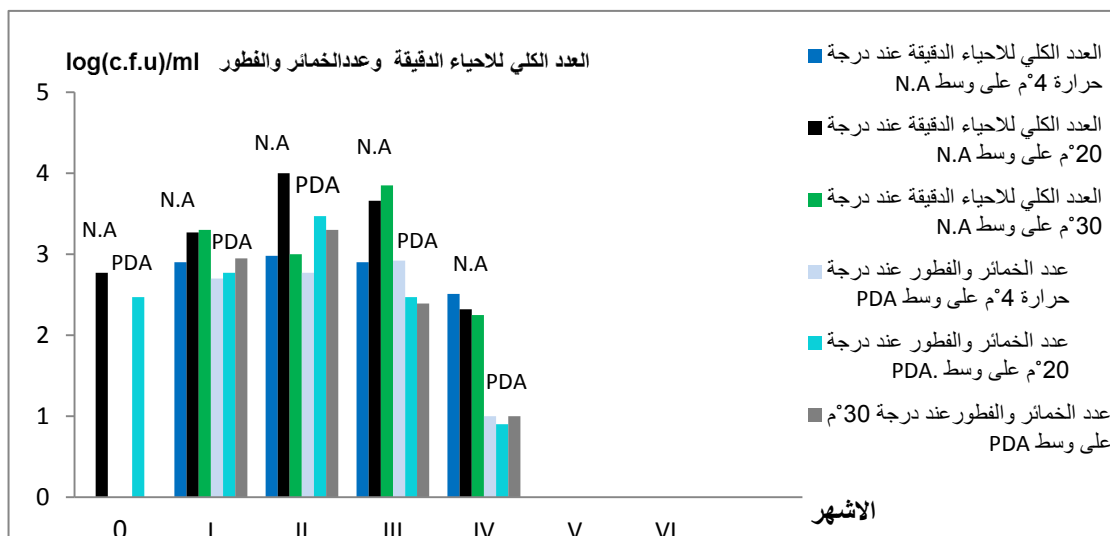
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة م°	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
² 10X1	² 10X3	² 10X6	20	0
² 10X1	² 10X2.4	² 10X2.5	4	1
² 10X1	² 10X6	³ 10X1.9	20	
² 10X1	² 10X9.1	³ 10X2	30	
² 10X8	² 10X6	² 10X5	4	2
³ 10X1	³ 10X3	³ 10X10	20	
³ 10X1.1	³ 10X2	³ 10X1	30	
10X4.1	² 10X8.4	² 10X8	4	3
10X3	² 10X3	³ 10X4.6	20	
10X1	² 10X2.5	³ 10X7.2	30	
0	10X1	² 10X3.3	4	4
0	10X0.8	² 10X.2.1	20	
0	10X1	² 10X1.8	30	
0	0	0	4	5
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	6
0	0	0	20	
0	0	0	30	



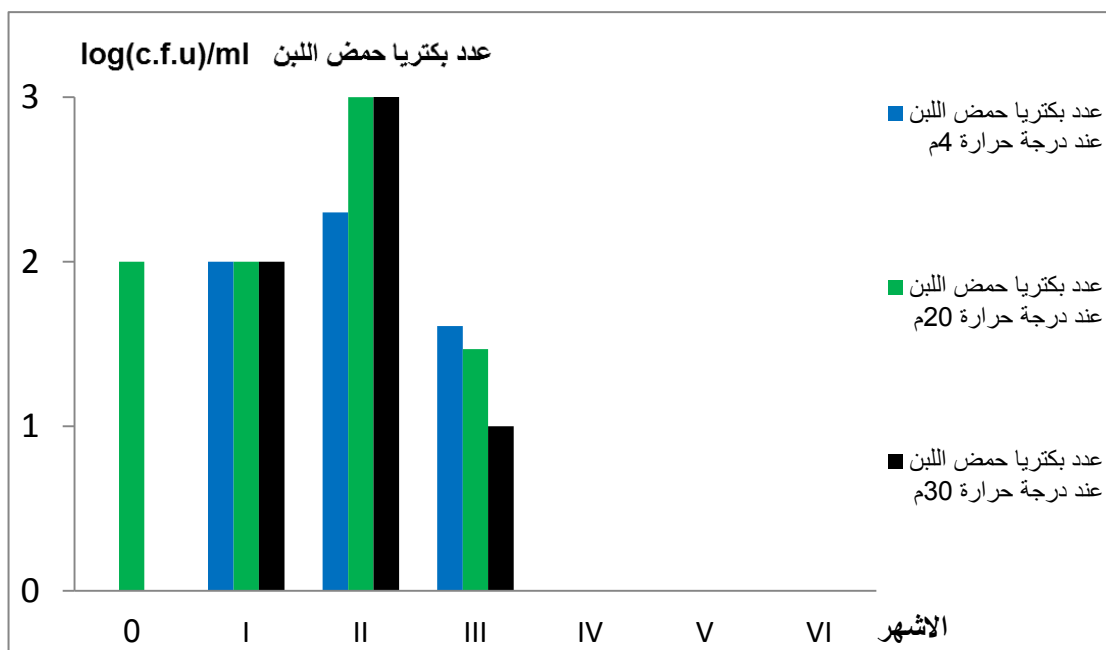
الشكل (13) العدد الكلي للأحياء الدقيقة و عدد الخمائر والفطور في عصير التفاح المركز (70%) المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة N.A او ابينة PDA



الشكل (14) عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70%) المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابينة MRS



الشكل (15) العدد الكلي للأحياء الدقيقة و عدد الخمائر والفطور في عصير التفاح المركز (70%) غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A او ابيئة PDA



الشكل (16) عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70%) غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة MRS

3-3-2- التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبستر وغير المبستر:

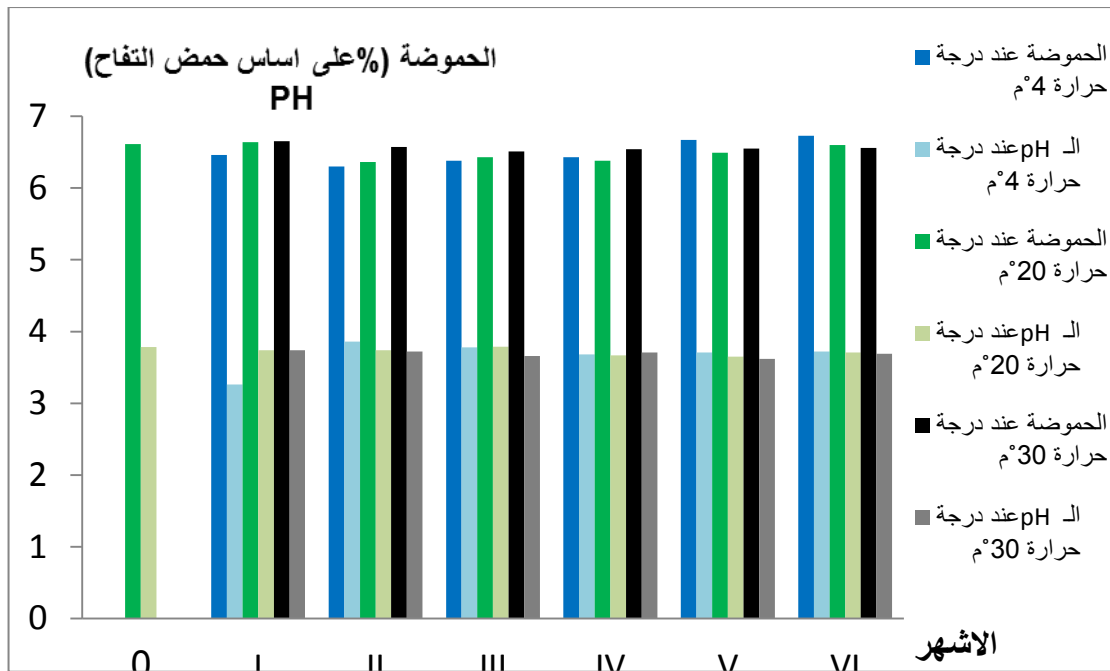
يلاحظ من النتائج المبينة في الجدولين (11) و(12) انخفاضاً طفيفاً في تركيز المادة الصلبة الذائبة في عينات عصير التفاح المركز (70%) (المبستر وغيرالمبستر) وعند مختلف درجات حرارة التخزين (4 و20 و30)°م ، وكان ذلك أكثر وضوحاً عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م وبشكل خاص عند الدرجة 20°م الأكثر ملائمة لنمو الأحياء الدقيقة حيث انخفض التركيز من 70% إلى 68.9% في نهاية الشهر السادس من التخزين ويعود سبب ذلك إلى وجود نموات للأحياء الدقيقة في هذا الوسط استهلكت مكونات العصير التي تشكل المادة الصلبة الذائبة وهذا يتوافق مع (Downing, 1989)، كما أظهرت النتائج في الجدولين (11) و (12) حدوث انخفاضاً طفيفاً في قيم pH والحموضة خلال فترات التخزين المشار إليها وخاصة عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م حيث انخفضت قيم pH إلى 3.65 و 3.62 خلال تخزين عصير التفاح المبستر والمركز 70% لمدة ستة أشهر على التسلسل ووصلت الحموضة إلى 6.60% و 6.56% عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م في الشهر السادس من تخزين عصير التفاح المبستر والمركز 70% على التسلسل الجدول رقم (11) وإلى 6.49% و 6.43% في الشهر السادس من تخزين عصير التفاح المبستر والمركز 70% على التسلسل الجدول رقم (12) كما هو مبين في الشكلين (17) و(18).

جدول (11) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% المبيستر خلال فترة التخزين

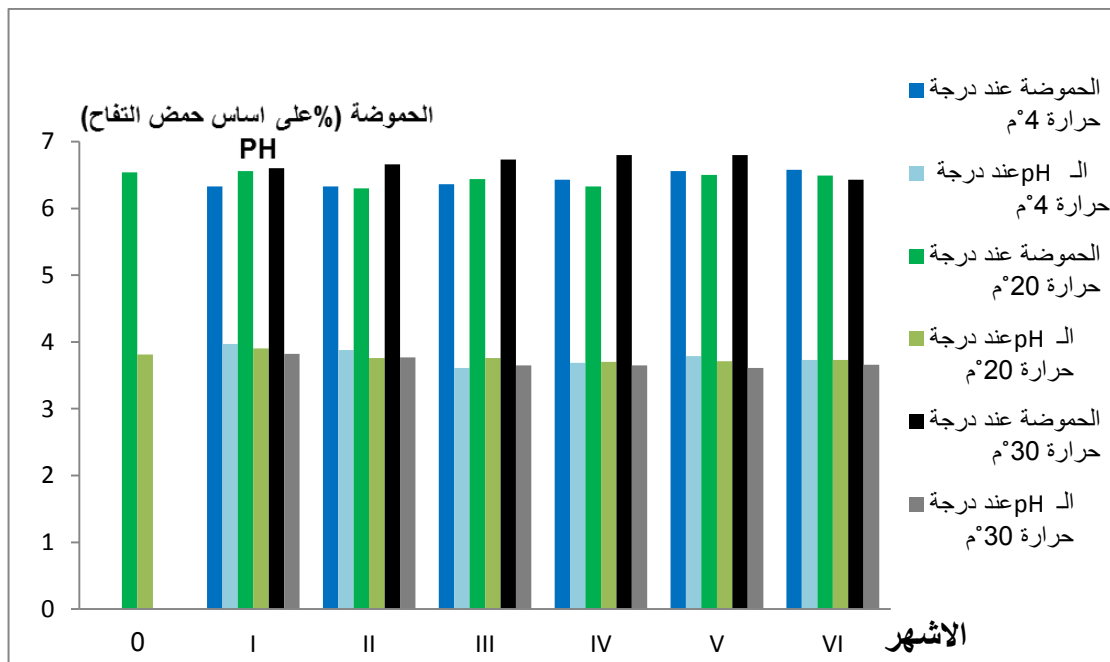
مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين م°	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	70	3.784	6.61	1.10
1	4	70	3.263	6.46	1.20
	20	69.5	3.741	6.64	1.35
	30	69.7	3.74	6.65	1.46
2	4	70	3.86	6.30	1.26
	20	69.2	3.74	6.36	1.38
	30	68.6	3.72	6.57	1.49
3	4	69.6	3.78	6.38	1.36
	20	68.8	3.79	6.43	1.41
	30	68.1	3.66	6.51	1.42
4	4	69.6	3.68	6.43	0.80
	20	68.5	3.67	6.38	0.90
	30	68.6	3.71	6.54	0.62
5	4	69.9	3.71	6.67	0.60
	20	69.1	3.65	6.49	0.70
	30	69.0	3.62	6.55	0.56
6	4	69.9	3.72	6.73	0.30
	20	68.9	3.71	6.60	0.40
	30	69.9	3.69	6.56	0.35

جدول (12) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لعصير التفاح المركز 70% غير المبستر خلال فترة التخزين

مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين °م	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	70	3.812	6.54	1.10
1	4	70	3.969	6.33	1.20
	20	69.3	3.902	6.56	1.38
	30	69.1	3.82	6.60	1.48
2	4	69.8	3.88	6.33	1.30
	20	68.9	3.76	6.30	1.44
	30	68.1	3.77	6.66	1.52
3	4	69.3	3.61	6.36	1.30
	20	68.2	3.76	6.44	1.48
	30	68.1	3.65	6.73	1.66
4	4	69.4	3.69	6.43	0.6
	20	68.3	3.70	6.33	0.50
	30	68.1	3.65	6.80	0.41
5	4	69.6	3.79	6.56	0.50
	20	68.7	3.71	6.50	0.58
	30	68.3	3.61	6.80	0.46
6	4	68.6	3.73	6.58	0.44
	20	68.9	3.73	6.49	0.46
	30	68.6	3.66	6.43	0.33



الشكل (17) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز (70%) المبستر

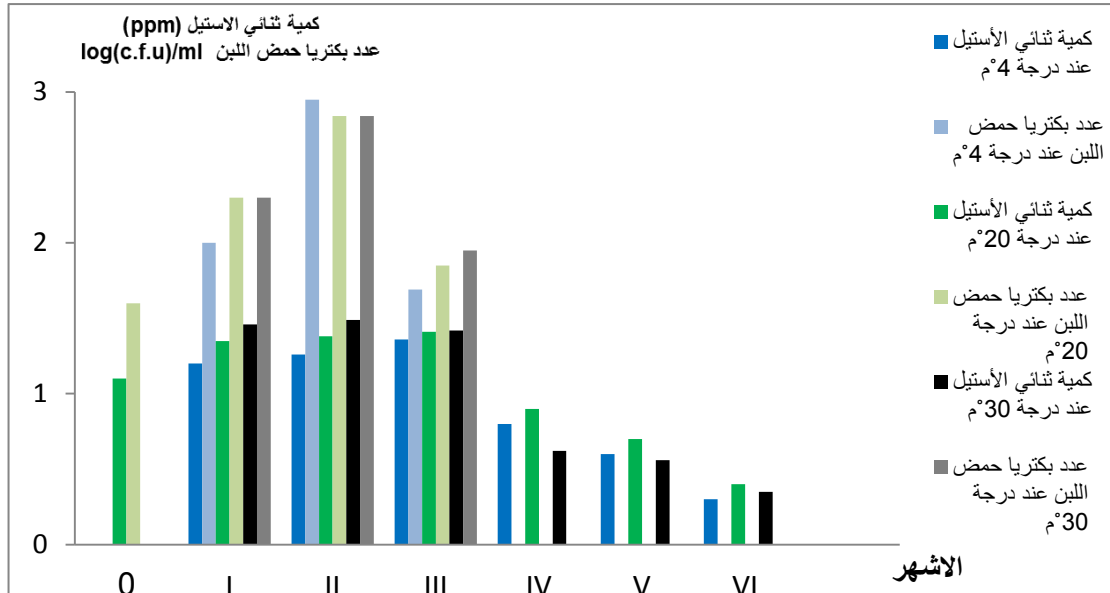


الشكل (18) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز (70%) غير المبستر

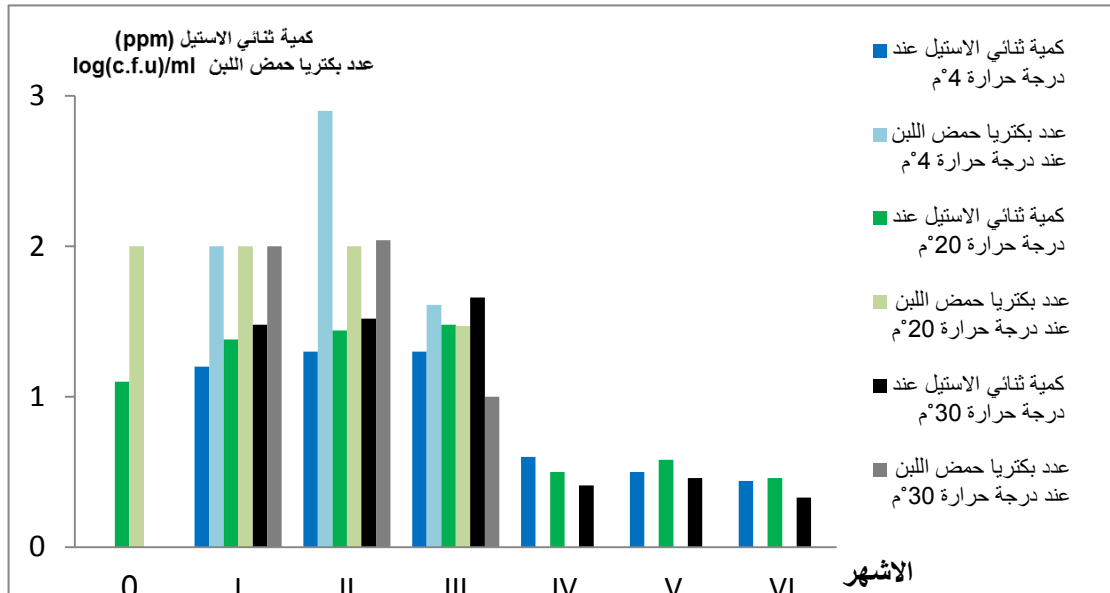
يلاحظ في الجدولين (11 و 12) أن كمية ثنائي الاستيل المتشكلة خلال تخزين عصير التفاح المبستر وغير المبستر المركز 70% كانت أقل مقارنة بسابقتها (عينات عصير تفاح تركيز 20% المبستر وغير المبستر) حيث سجلت النتائج ارتفاعاً خلال الأشهر الأولى من التخزين وخاصة

عند درجة حرارة 30° م حيث بلغت في الشهر الثاني 1.49 ppm (جدول 11) و 1.66 ppm في الشهر الثالث على نفس درجة حرارة التخزين (جدول 12).

كما أشارت النتائج إلى انخفاض قيم تشكيل ثنائي الاستيل في الأشهر الأخيرة من التخزين وكما هو مبين بالشكلين (19 و 20).



الشكل (19) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتيريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% المبستر



الشكل (20) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتيريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز 70% غير المبستر

إن كميات ثنائي الاستيل المتشكلة في أوساط النمو المشار إليها تتناسب مع عدد الأحياء الدقيقة الموجود فيها وهذا يتوافق مع نتائج (Sobczak and siuchninsk, 1983) حيث توصل إلى هذه النتائج من خلال دراساته وأبحاثه على عصائر التفاح.

3-4- التغيرات الميكروبيولوجية والكيميائية لخل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترة تخزين (6 أشهر):

3-4-1- التغيرات الميكروبيولوجية لخل التفاح المبستر وغير المبستر:

تشير النتائج المدونة في الجدولين (13) و(14) إلى وجود انخفاض ملحوظ في عدد الأحياء الدقيقة وعدد الخمائر والفطور وعدد بكتريا حمض اللبن في عينات خل التفاح المبسترة وغير المبسترة في مختلف درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م حيث وصلت بالنسبة إلى العد الكلي للأحياء الدقيقة إلى 10 x 9.1 و 10 x 8.6 و 10 x 8.1 خلال تخزين خل التفاح المبستر على درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (13) وإلى 10 x 1.9 و 10 x 2 و 10 x 1 خلال تخزين خل التفاح غير المبستر درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (14) وذلك خلال الأشهر الثلاثة الأولى من التخزين

ووصلت بالنسبة لتعداد الخمائر والفطور إلى 10 x 1 و 10 x 6 و 10 x 7 خلال تخزين خل التفاح المبستر على درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (13) و 10 x 1 و 10 x 5 و 10 x 2.1 خلال تخزين خل التفاح غير المبستر درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (14)

ووصلت بالنسبة لبكتريا حمض اللبن إلى 10 x 2 و 10 x 1 و 10 x 1 خلال تخزين خل التفاح المبستر على درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (13) و 10 x 5 و 10 x 3.3 و 10 x 2.5 خلال تخزين خل التفاح غير المبستر درجات الحرارة (4 و 20 و 30)°م الجدول (14)

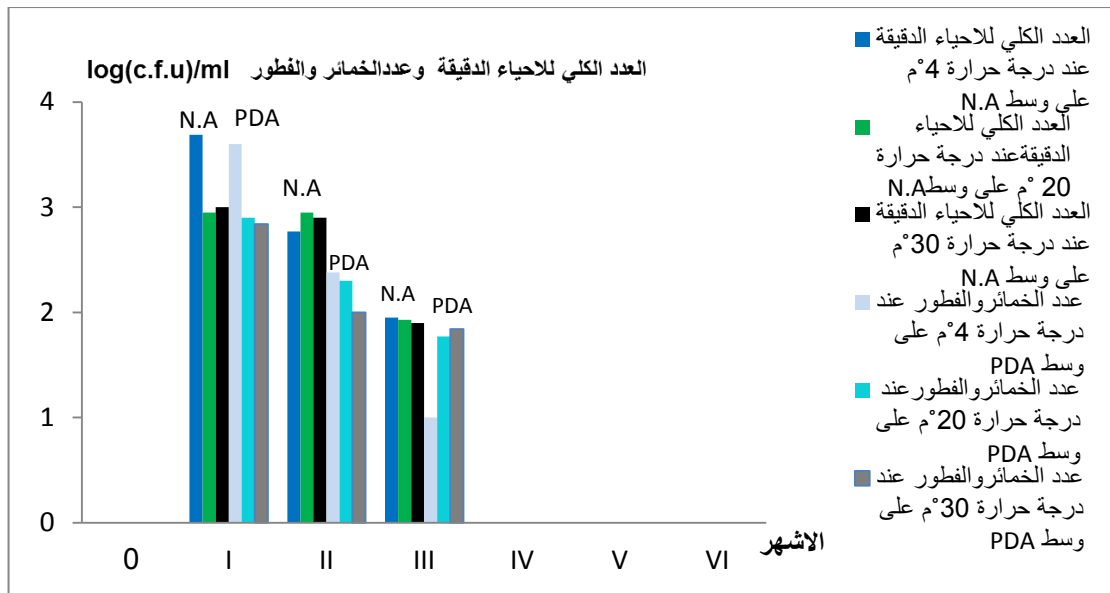
كما بينت النتائج عدم وجود الأحياء الدقيقة في الأشهر الثلاثة الأخيرة من التخزين كما هو مبين في الأشكال (21-22-23-24) ربما يعود السبب لتوفر الظروف الملائمة لنمو تلك الأحياء الدقيقة في الأشهر الأولى وخاصة في الشهر الأول ويلاحظ أيضاً في الجدولين (13) و(14) أن البسترة لم تؤثر في عدد الأحياء الدقيقة في عينات الخل.

جدول (13) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في خل التفاح
المبستر خلال فترة التخزين

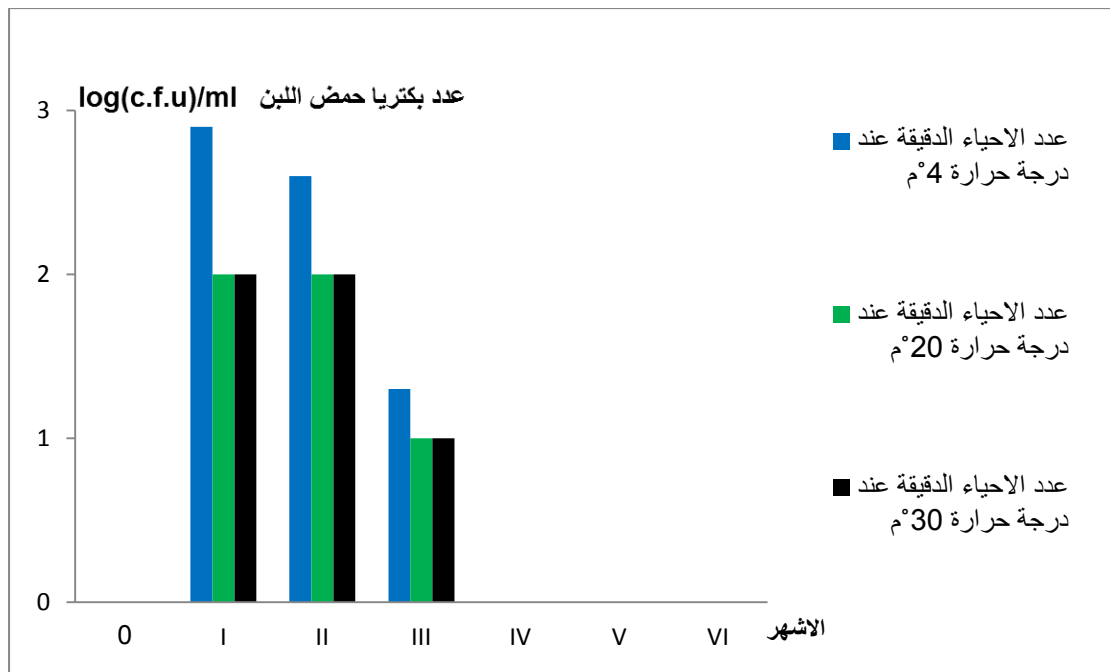
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة م°	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
0	0	0	20	0
² 10x8	³ 10x4	³ 10x5	4	1
² 10x1	² 10x8	² 10x9	20	
² 10x1	² 10x7	³ 10x1	30	
² 10x4	² 10x2.4	² 10x6	4	2
² 10x1	² 10x2	² 10x9	20	
² 10x1	² 10x1	² 10x8	30	
10x2	10x1	10x9.1	4	3
10x1	10x6	10x8.6	20	
10x1	10x7	10x8.1	30	
0	0	0	4	4
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	5
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	6
0	0	0	20	
0	0	0	30	

جدول (14) يبين نتائج التغيرات الميكروبيولوجية على أوساط الزرع المختلفة في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين

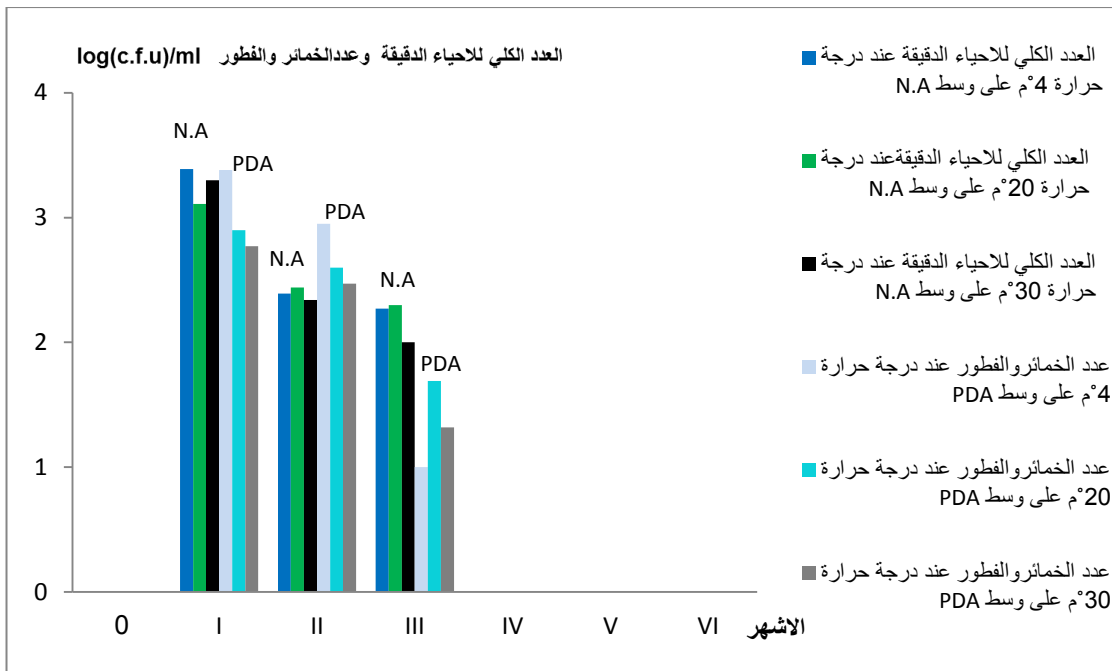
العد الكلي للأحياء الدقيقة على أوساط مختلفة خلية/مل			درجة الحرارة م°	مدة التخزين شهر
MRS (عد بكتريا حمض اللبن)	PDA (عد الخمائر والفطور)	N.A (العد الكلي للأحياء الدقيقة)		
0	0	0	20	0
² 10x1	³ 10x2.4	³ 10x2.5	4	1
³ 10x1.2	² 10x8	³ 10x1.3	20	
³ 10x2	² 10x6	³ 10x2	30	
10x9	² 10x9	² 10x2.5	4	2
10x6	² 10x4	² 10x2.8	20	
10x6.1	² 10x3	² 10x2.2	30	
10x5	10x1	² 10x1.9	4	3
10x3.3	10x5	² 10x2	20	
10x2.5	10x2.1	² 10x1	30	
0	0	0	4	4
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	5
0	0	0	20	
0	0	0	30	
0	0	0	4	6
0	0	0	20	
0	0	0	30	



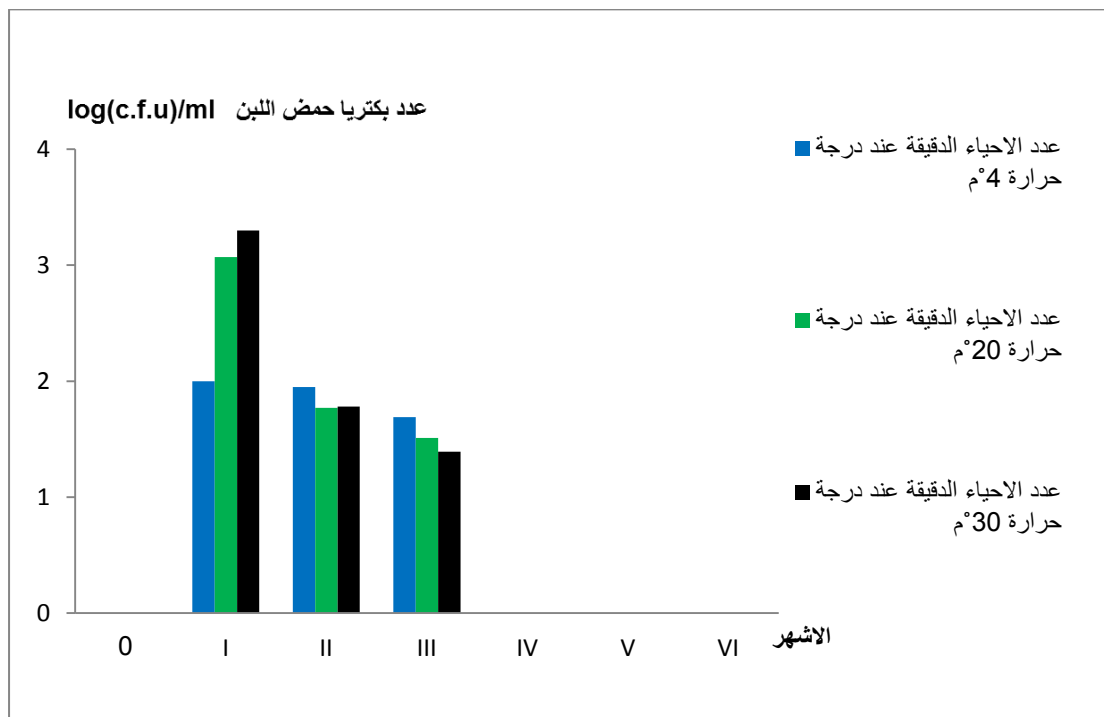
الشكل (21) العدد الكلي للأحياء الدقيقة و عدد الخمائر والفطور في خل التفاح المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A \ و ابيئة PDA \



الشكل (22) عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة MRS \



الشكل (23) العدد الكلي للأحياء الدقيقة و عدد الخمائر والفطور في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة N.A او ابيئة PDA



الشكل (24) عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح غير المبستر خلال فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة ابيئة MRS

3-4-2- التغيرات الكيميائية لخل التفاح المبستر وغير المبستر:

يلاحظ من النتائج الموضحة في الجدولين (15) و(16) انخفاضاً في تركيز المواد الصلبة الذائبة عند درجات حرارة التخزين (4 و20 و30)°م ، وكان ذلك أكثر وضوحاً عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م وبشكل خاص عند الدرجة 20°م الأكثر ملائمة لنمو الأحياء الدقيقة ويعود سبب ذلك إلى أن تكاثر الأحياء الدقيقة في هذا الوسط أدى إلى استهلاك مكونات خل التفاح التي تشكل المادة الصلبة الذائبة حيث بلغت في الشهر الخامس من التخزين 15.9% لخل التفاح المبستر وغير المبستر وهذا متوافق مع نتائج (Downing, 1989) .

كما بينت النتائج المسجلة في الجدولين (15) و(16) خلال فترة التخزين على مختلف درجات الحرارة (4 و20 و30)°م وخاصة عند درجتي الحرارة 20°م و 30°م تذبذباً في درجة pH من 2.58 إلى 2.77 في عينات خل التفاح المبستر ومن 2.65 إلى 2.00 في عينات خل التفاح غير المبستر ويظهر ذلك واضحاً في الشكلين (25) و(26) .

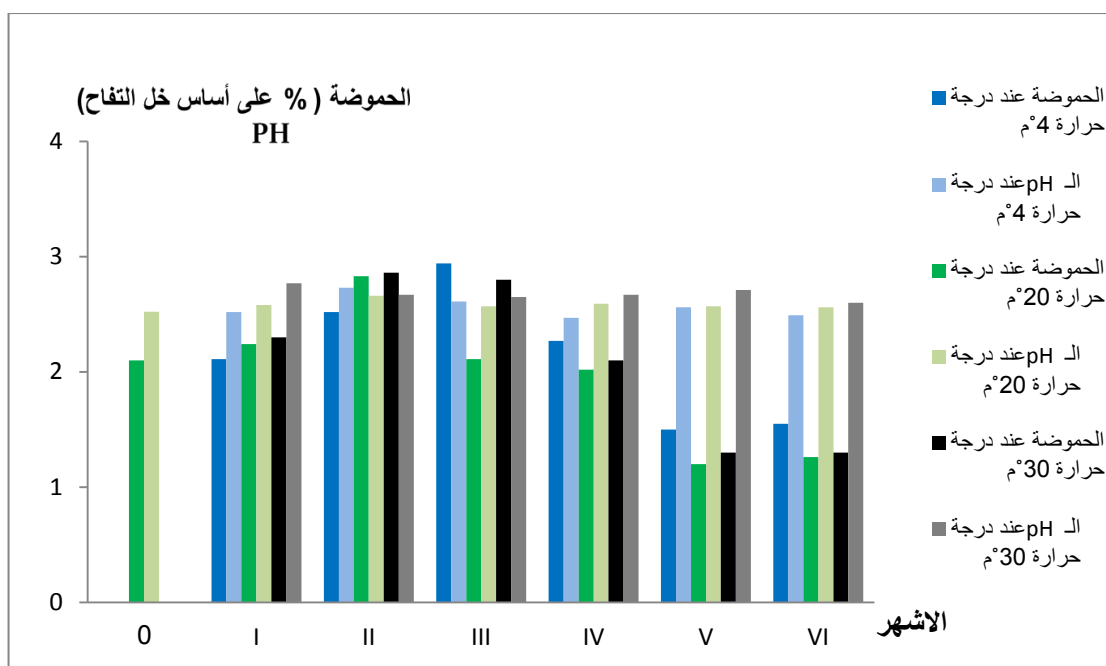
وأظهرت النتائج أيضاً المدونة في الجدولين (15) و(16) عدم الاستقرار في نسبة الحموضة لخل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترة التخزين حيث سجلت أعلى قيمة 2.94% عند درجة حرارة 4°م في الشهر الثالث من التخزين وأدنى قيمة كانت 1.2% عند درجة حرارة 20°م في الشهر الخامس من التخزين وذلك لخل التفاح المبستر وأظهرت النتائج أيضاً أعلى قيمة 2.56% خلال الشهر (0) من التخزين وأدنى قيمة 1.05% عند درجة حرارة 4°م خلال الشهر الرابع من التخزين وذلك لخل التفاح غير المبستر كما هو موضح في الجدول (16) والشكل (26).

جدول (15) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لخل التفاح المبستر خلال فترة التخزين

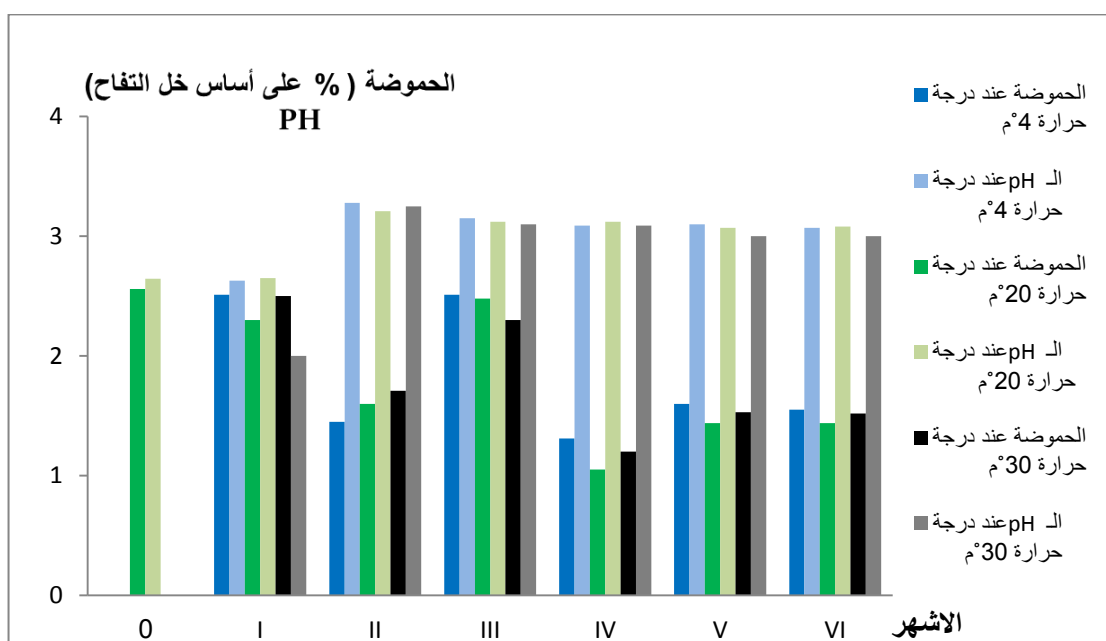
مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين °م	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	16.7	2.521	2.1	0
1	4	16.7	2.52	2.11	0
	20	16.7	2.58	2.24	0
	30	16.7	2.77	2.30	0
2	4	16.5	2.73	2.52	0
	20	16.2	2.66	2.83	0
	30	16.0	2.67	2.86	0
3	4	16.5	2.61	2.94	0
	20	16.0	2.57	2.11	0
	30	16.0	2.65	2.80	0
4	4	16.4	2.47	2.27	0
	20	16.0	2.59	2.02	0
	30	16.0	2.67	2.10	0
5	4	16.4	2.56	1.5	0
	20	15.9	2.57	1.2	0
	30	15.8	2.71	1.3	0
6	4	16.4	2.49	1.55	0
	20	16.0	2.56	1.26	0
	30	16.0	2.60	1.3	0

جدول (16) يبين نتائج التغيرات الكيميائية لخل التفاح غيرالمبستر خلال فترة التخزين

مدة التخزين شهر	درجة حرارة التخزين م°	التركيز %	pH	الحموضة %	ثنائي الاستيل (ppm)
0	20	16.7	2.645	2.56	0
1	4	16.7	2.63	2.51	0
	20	16.7	2.65	2.30	0
	30	16.7	2.00	2.50	0
2	4	16.5	3.28	1.45	0
	20	16.2	3.21	1.60	0
	30	16.0	3.25	1.71	0
3	4	16.5	3.15	2.51	0
	20	16.0	3.12	2.48	0
	30	16.0	3.10	2.30	0
4	4	16.4	3.09	1.31	0
	20	16.0	3.12	1.05	0
	30	16.0	3.09	1.20	0
5	4	16.4	3.10	1.6	0
	20	15.9	3.07	1.44	0
	30	15.8	3.0	1.53	0
6	4	16.4	3.07	1.55	0
	20	16.0	3.08	1.44	0
	30	16.0	3.0	1.52	0



الشكل (25) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح المبستر



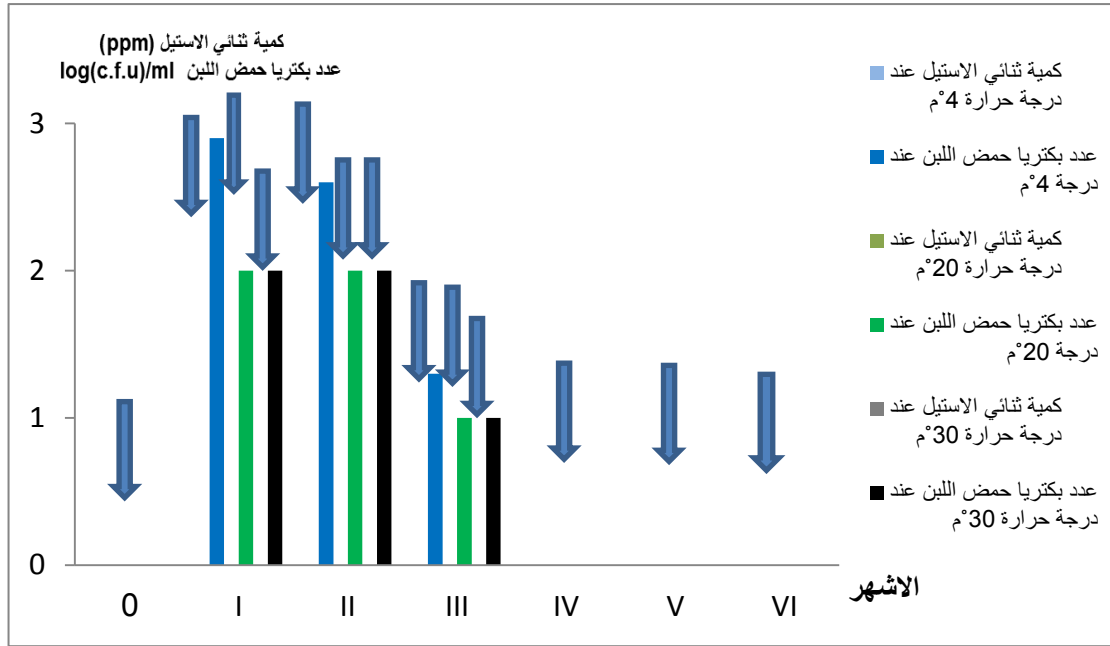
الشكل (26) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح غير المبستر

ويرجع سبب ارتفاع الحموضة في خل التفاح المبستر إلى زيادة نشاط الأحياء الدقيقة الذي يؤدي بدوره إلى ارتفاع نسبة الأحماض العضوية المتشكلة.

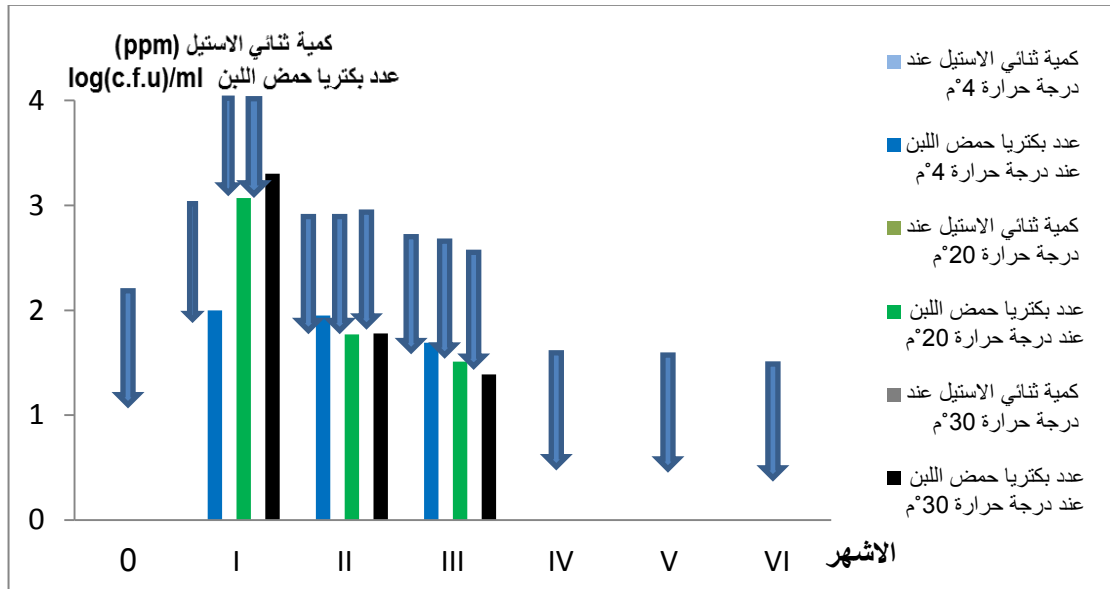
وبالمقابل فإن انخفاض الحموضة في خل التفاح المبستر وغير المبستر ناتج عن نشاط الأحياء الدقيقة التي تقوم بأكسدة حمض الخل إلى CO₂ وهذا يتوافق مع الباحث

(Burbianka, 1983) الذي توصل إلى ذلك من خلال دراساته على الخل .

وأظهرت النتائج أيضاً في الجدولين السابقين (15) و(16) إلى عدم تشكل ثنائي الاستيل في خل التفاح المبستر وغير المبستر خلال فترات التخزين المشار إليها سابقاً وعلى مختلف درجات الحرارة وكما هو مبين بالشكلين (27) و(28)



الشكل (27) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر



الشكل (28) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح غير المبستر

ويعود السبب إلى انخفاض عدد بكتريا حمض اللبن المسؤولة عن تشكيل ثنائي الاستيل أو عدم وجودها وجاءت هذه النتائج متوافقة مع الباحث (Tesfaye *et al.*, 2002) في دراساته على خل التفاح.

3-5- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح الملقحة بـ

Lactobacillus plantarum و *Leuconostoc mesenteroides* :

3-5-1- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح تركيز (20%) الملقحة

بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* :

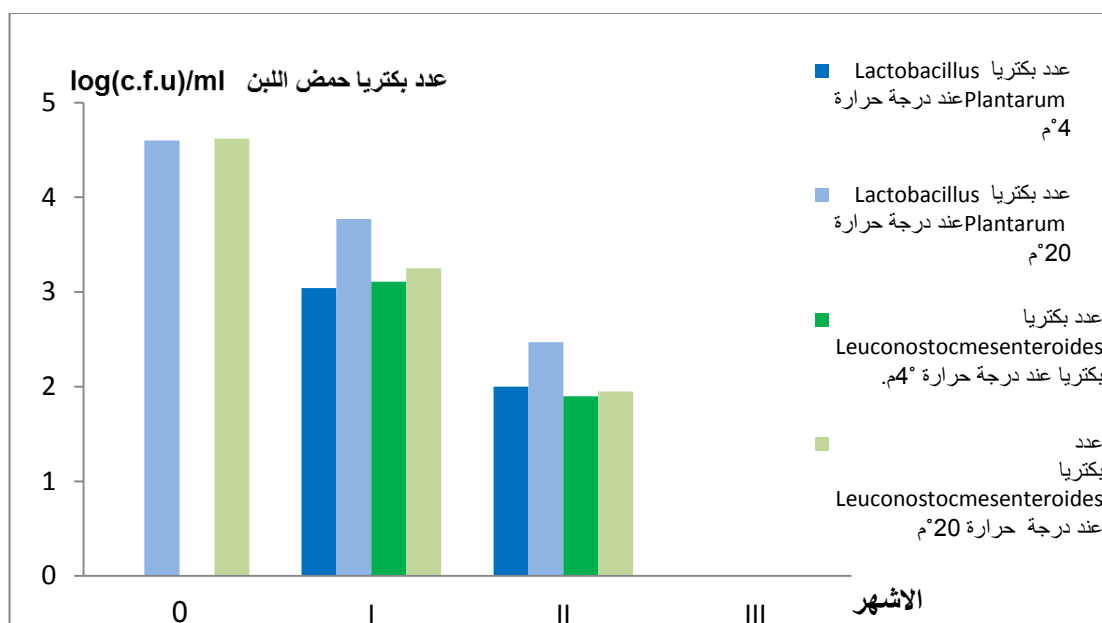
تشير النتائج في الجدولين (17) و(18) إلى أن بكتريا حمض اللبن انخفضت مع بداية الشهر الأول من التخزين حيث بلغت 1.1×10^3 في عينات عصير التفاح تركيز (20%) الملقحة بـ *Lactobacillus Plantarum* جدول (17) و 1.3×10^3 في عينات عصير التفاح تركيز (20%) الملقحة بـ *Leuconostoc mesenteroides* جدول (18) ووصلت إلى حدودها الدنيا في الشهر الثالث من التخزين ويظهر ذلك واضحاً في الشكل (29)

جدول (17) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح بتركيز (20%) الملقح بـ *Lactobacillus plantarum*

الاختبارات	فترة التخزين (شهر)					
	0		1		2	
	20 °م	4 °م	20 °م	4 °م	20 °م	4 °م
التركيز %	20	20	20	20	20	20
الحموضة %	3.17	3.19	3.18	3.39	3.49	3.53
pH	3.87	3.95	3.12	3.92	3.74	3.66
ثنائي الاستيل (ppm)	0.71	1.81	2.20	1.8	2.10	1.0
عدي بكتريا حمض اللبن خلية/مل	4×10^4	1.1×10^3	6×10^3	1×10^2	3×10^2	0

جدول (18) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح بتركيز (20%) الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides*

فترة التخزين (شهر)							الاختبارات
3		2		1		0	
20 °م	4 °م	20 °م	4 °م	20 °م	4 °م	20 °م	
20	20	20	20	20	20	20	التركيز %
3.50	3.53	3.49	3.39	3.18	3.19	3.17	الحموضة %
3.73	3.66	3.74	3.92	3.12	3.95	3.87	pH
0.89	0.83	1.71	1.50	1.98	1.62	0.71	ثنائي الاستيل (ppm)
0	0	10×9	10×8	³ 10×1.8	³ 10×1.3	⁴ 10×4.2	عدد بكتريا حمض اللبن خلية/مل

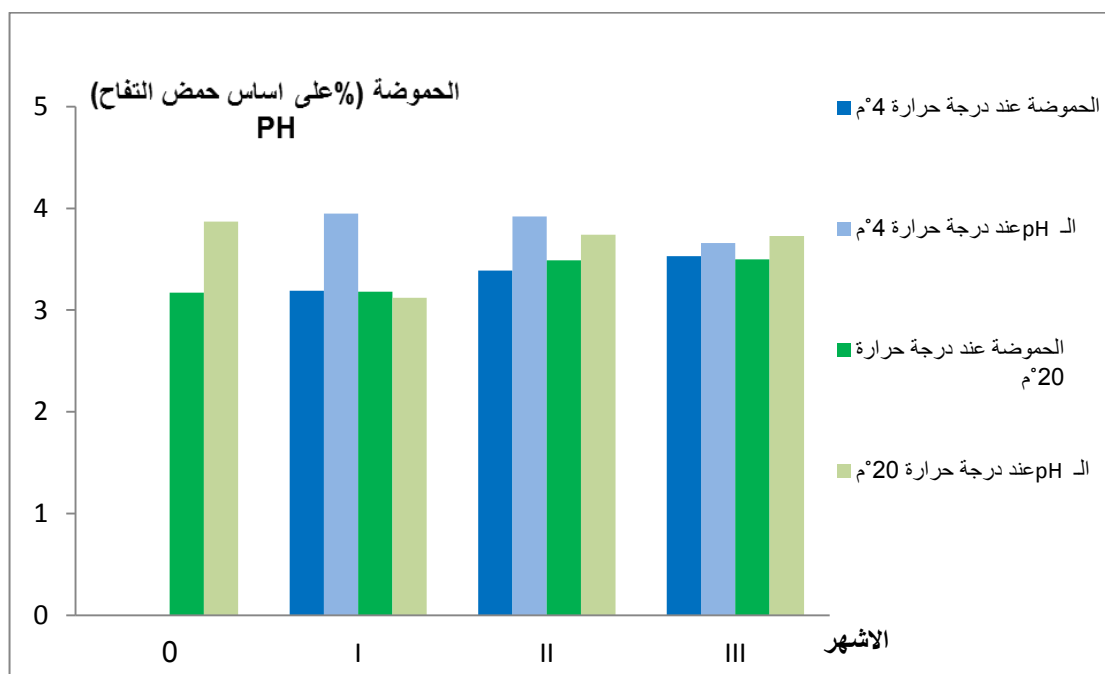


الشكل (29) تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المبستر (20%) الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactobacillus plantarum* بيئة MRS

وربما يعود هذا الانخفاض إلى زيادة تراكم النواتج السامة للاستقلاب الجرثومي الذي يؤدي إلى قتل الخلية.

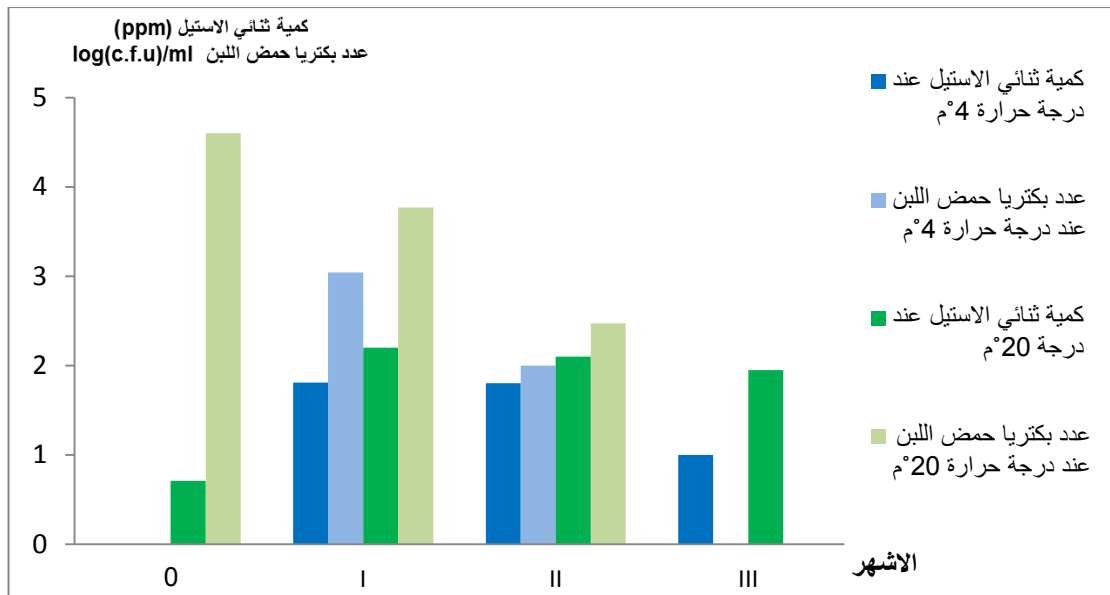
كما تظهر النتائج في الجدولين (17) و (18) بوضوح عدم وجود تغيرات في تركيز المواد الصلبة الذائبة في عينات عصير التفاح تركيز 20% الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* مع حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH على درجتي الحرارة المختلفتين (4 و 20)°م حيث انخفضت من 3.87 في بداية تخزين عصير التفاح تركيز (20%) الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* إلى 3.73 في نهاية التخزين عند درجة حرارة 20°م.

وأظهرت النتائج أيضاً ارتفاعاً طفيفاً في قيمة الحموضة من 3.17% في بداية التخزين إلى 3.53% و 3.50% في الشهر الثالث على درجتي حرارة (4 و 20)°م على الترتيب و يظهر ذلك واضحاً في الشكل (30).

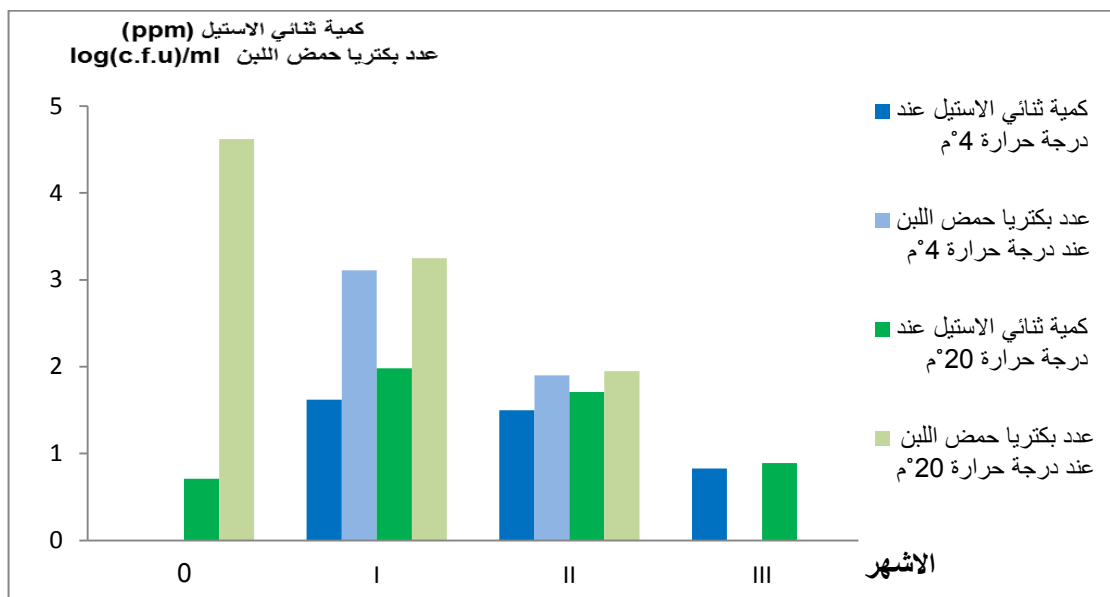


الشكل (30) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactobacillus plantarum*

كما يلاحظ من نتائج الجدولين 17 و 18 وجود ارتفاع في كمية ثنائي الاستيل المتشكلة حيث بلغت 2.20 ppm و 1.98 ppm في الشهر الأول من التخزين على درجة حرارة 20°م لعصير التفاح تركيز 20% الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* ولوحظ أيضاً انخفاض كمية ثنائي الاستيل المتشكلة في الشهر الثالث من التخزين كما هو موضح في الشكلين (31) و (32).



الشكل (31) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ *Lactobacillus plantarum*



الشكل (32) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل وعدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح تركيز (20%) الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides*

يعود سبب هذا الانخفاض إلى قدرة الأحياء الدقيقة الموجودة في وسط النمو إلى تحويل ثنائي الاستيل إلى مشتقات أخرى.

3-5-2- النتائج الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات عصير التفاح المركز (70%)
الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*:

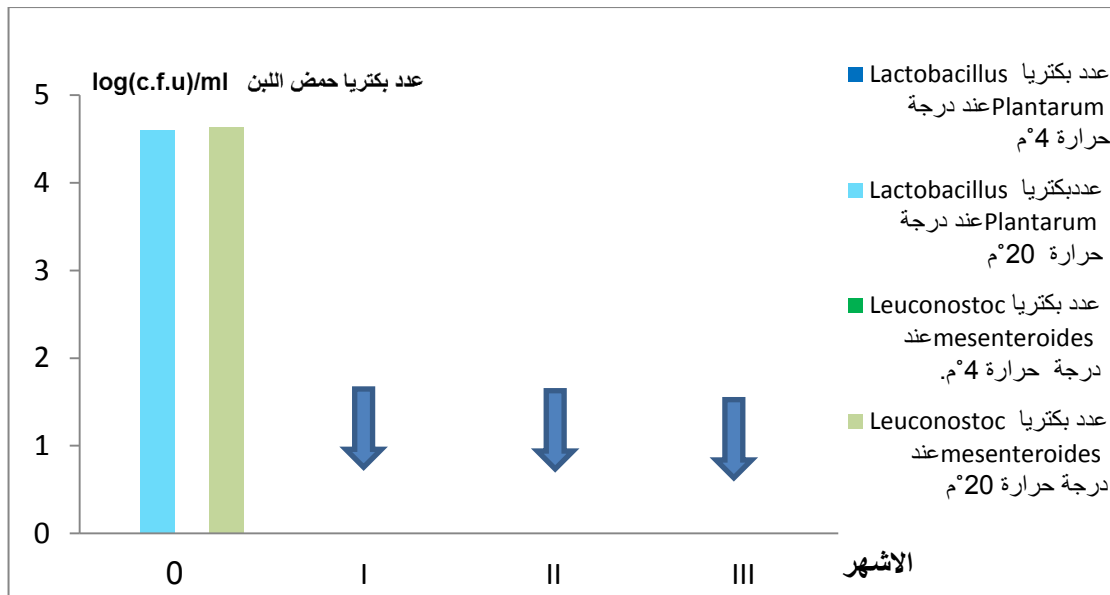
تشير النتائج في الجدولين (19) و (20) إلى عدم نمو بكتريا حمض اللبن بدءاً من الشهر الأول وحتى الشهر الثالث من التخزين على درجتي الحرارة (4 و 20)°م كما هو مبين في الشكل (33).

جدول (19) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين على التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ *Lactobacillus plantarum*

فترة التخزين (شهر)							الاختبارات
3		2		1		0	
20°م	4°م	20°م	4°م	20°م	4°م	20°م	
69.7	70	69.8	70	69.8	70	70	التركيز %
6.50	6.53	6.49	6.39	6.48	6.33	6.67	الحموضة %
3.73	3.66	3.74	3.92	3.71	3.41	3.75	pH
2.71	2.60	2.60	2.66	2.35	2.46	1.10	ثنائي الاستيل (ppm)
0	0	0	0	0	0	4.0x10 ⁴	عد بكتريا حمض اللبن خلية/مل

جدول (20) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين على التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لعصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides*

فترة التخزين (شهر)							الاختبارات
3		2		1		0	
20°م	4°م	20°م	4°م	20°م	4°م	20°م	
69.7	69.9	69.6	69.9	69.6	70	70	التركيز %
6.50	6.53	6.49	6.39	6.48	6.33	6.67	الحموضة %
3.73	3.66	3.74	3.92	3.71	3.41	3.75	pH
2.71	2.60	2.60	2.66	2.35	2.46	1.10	ثنائي الاستيل (ppm)
0	0	0	0	0	0	4.3x10 ⁴	عد بكتريا حمض اللبن خلية/مل



الشكل (33) تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70% الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* بيئة MRS)

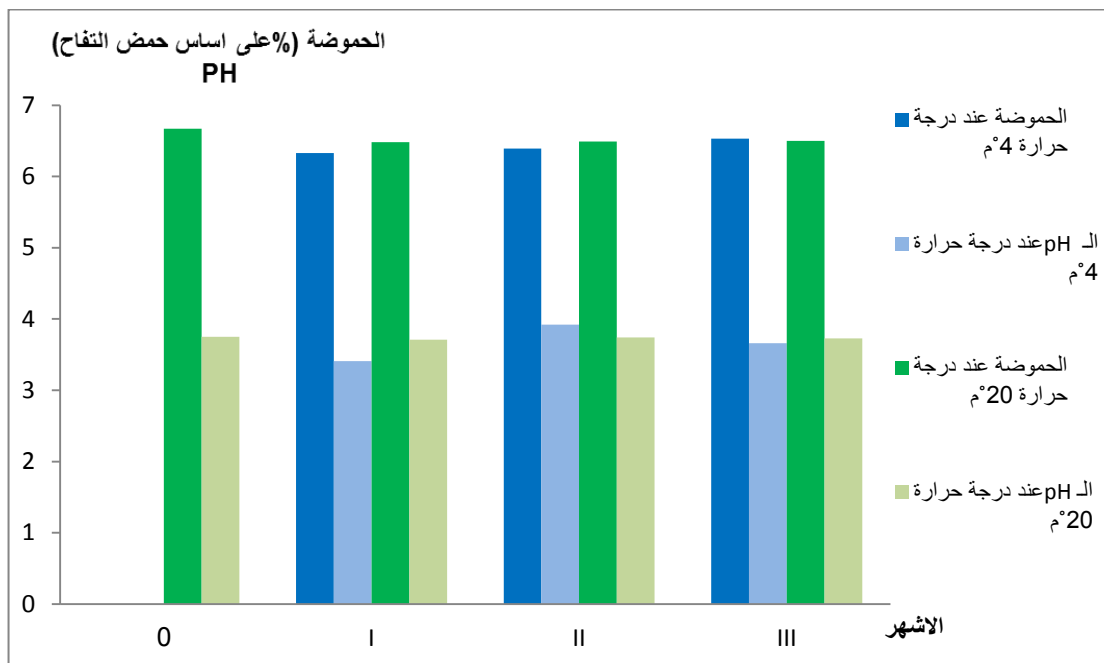
يرجع سبب عدم نمو الأحياء الدقيقة في نهاية الشهر الأول من التخزين إلى أن بكتريا حمض اللبن غير اسموفيلية والتي لا تتحمل التراكيز العالية من السكر وهذا يتوافق مع نتائج

(Merai, 1991) و (Duzewski, 1991) الذين أشارو بوضوح إلى ذلك من خلال أبحاثهم ودراساتهم على عصائر التفاح المركزة.

كما تشير النتائج في الجدولين (19) و (20) إلى وجود انخفاضاً طفيفاً في تركيز المواد الصلبة الذائبة في عينات عصير التفاح المركز 70% الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* حيث بلغت 69.8 على درجة حرارة 20°م خلال الشهر الثاني من التخزين بالنسبة لعصير التفاح المركز 70% الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* ووصلت إلى 69.9% و 69.6% على درجتى حرارة (4 و 20)°م على التسلسل خلال الشهر الثاني من التخزين بالنسبة لعصير التفاح المركز 70% الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides*.

كما أظهرت النتائج في الجدولين السابقين (19) و (20) حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH وعلى درجتى الحرارة (4 و 20)°م إذ وصلت قيمة pH إلى 3.41 في نهاية الشهر الأول من التخزين على الدرجة 4°م في كلا الحالتين.

أما بالنسبة للحموضة فقد أشارت النتائج إلى حدوث انخفاض من 6.67% في بداية التخزين إلى 6.53% و 6.50% في نهاية الشهر الثالث من التخزين على درجتي الحرارة (4 و 20 °م في كلا الحالتين ويظهر ذلك واضحاً في الشكل (34).



الشكل (34) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في عصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*

وتشير النتائج أيضاً إلى ثبات قيم ثنائي الاستيل خلال فترة التخزين بسبب ارتفاع السكر والحموضة وبالتالي عدم وجود بكتريا حمض اللبن ويظهر ذلك واضحاً في الجدولين (19) و (20) وفي الشكل (35).



الشكل (35) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في عصير التفاح المركز (70%) الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*

3-5-3- النتائج الميكروبيولوجية والفيزيوكيميائية لعينات خل التفاح الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*:

أشارت النتائج في الجدولين (21) و(22) إلى انخفاض نمو بكتريا حمض اللبن في الشهر الأول لتختفي بدءاً من الشهر الثاني من التخزين وذلك على درجتي الحرارة (4 و 20)°م من

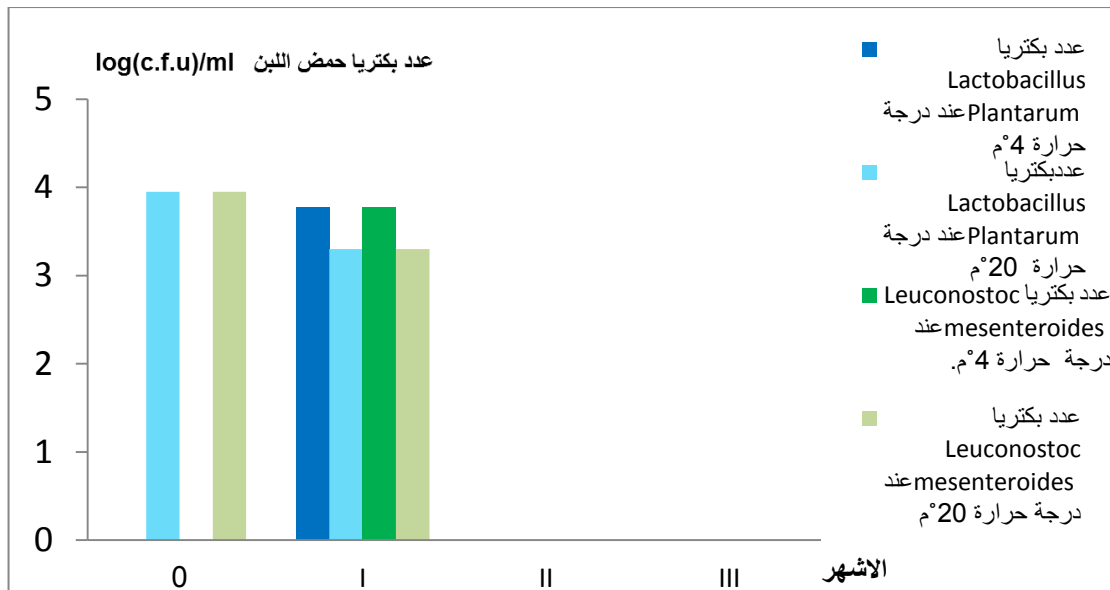
$10^9 \times 3$ في بداية التخزين إلى الصفر في نهاية التخزين لخل التفاح الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* الجدول (21) ومن $10^8 \times 3$ من بداية التخزين إلى الصفر في نهاية التخزين لخل التفاح الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides* الجدول (22) وكما هو موضح في الشكل (36).

جدول (21) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لخل التفاح الملقح بـ *Lactobacillus plantarum*

فترة التخزين (شهر)							الاختبارات
3		2		1		0	
°م 20	°م 4	°م 20	°م 4	°م 20	°م 4	°م 20	
16.0	16.5	16.2	16.5	16.7	16.7	16.7	التركيز %
0.93	1.11	0.79	0.96	1.17	1.26	2	الحموضة %
2.66	2.62	2.71	2.76	2.63	2.74	2.53	pH
0	0	0	0	0	0	0	ثنائي الاستيل (ppm)
0	0	0	0	10×2^3	10×6^3	10×9^3	عد بكتريا حمض اللبن خلية/مل

جدول (22) يبين تأثير زمن وحرارة التخزين في التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية لخل التفاح الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides*

فترة التخزين (شهر)							الاختبارات
3		2		1		0	
°م 20	°م 4	°م 20	°م 4	°م 20	°م 4	°م 20	
16.0	16.5	16.2	16.5	16.7	16.7	16.7	التركيز %
0.93	1.11	0.79	0.96	1.17	1.26	2	الحموضة %
2.66	2.62	2.71	2.76	2.63	2.74	2.53	pH
0	0	0	0	0	0	0	ثنائي الاستيل (ppm)
0	0	0	0	10×7.0^3	10×6.6^3	10×8^3	عد بكتريا حمض اللبن خلية/مل



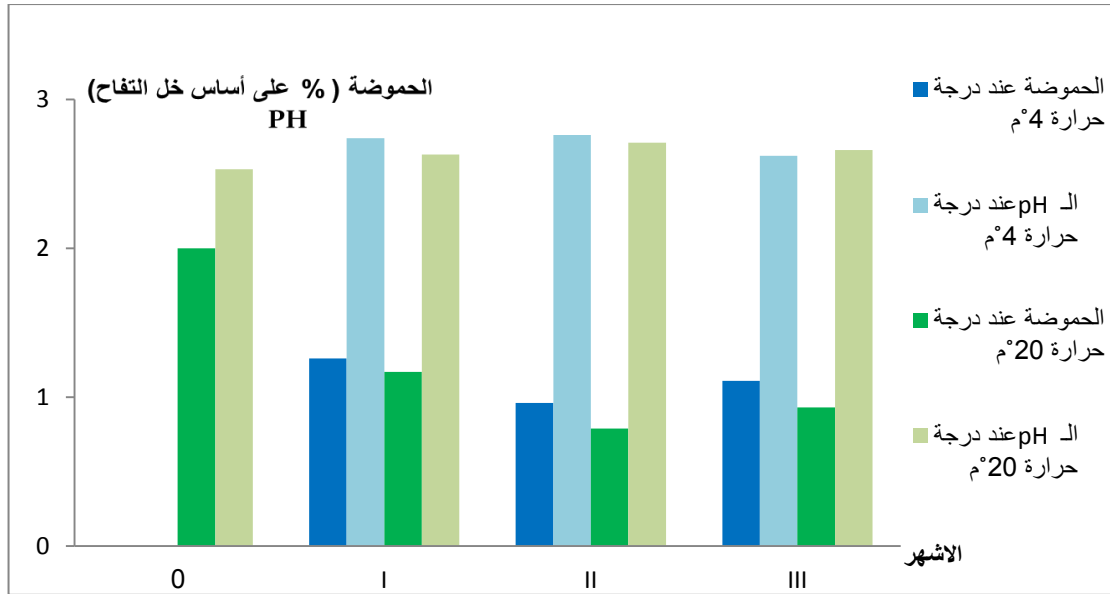
الشكل (36) تأثير شروط التخزين في عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح المبستر الملقح بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* بيئة MRS

ويعود سبب الانخفاض التدريجي في عدد الأحياء الدقيقة بدءاً من الشهر الثاني من التخزين إلى زيادة تراكم المفرزات السامة للاستقلاب الجرثومي الذي يؤدي إلى قتل الخلية.

أظهرت النتائج في الجدولين (21) و(22) حدوث انخفاض طفيف في تركيز المواد الصلبة الذائبة في عينات خل التفاح الملقحة بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* وبشكل خاص عند الدرجة 20°C إذ وصلت نسبة المواد الصلبة الذائبة إلى 16% في عينات الخل لكلا المرحلتين.

كما تشير النتائج في الجدولين (21) و(22) إلى حدوث تغيرات طفيفة في قيم pH خلال فترات التخزين المشار إليها (4 و 20)°م إذ ارتفعت قيمة pH من 2.53 في بداية التخزين وإلى 2.66 في نهاية التخزين لكلا المرحلتين.

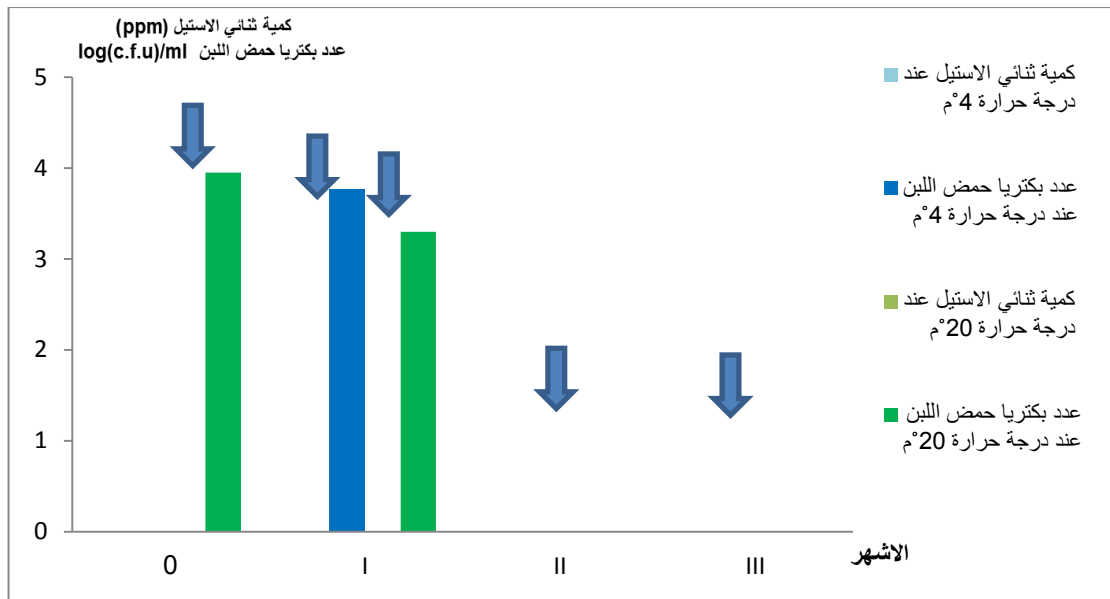
ويلاحظ أيضاً من النتائج المدونة في الجدولين (21) و(22) انخفاض في قيمة الحموضة بشكل طفيف من 2% من بداية التخزين إلى 1.11% و 0.93% في الشهر الثالث من التخزين على درجتَي حرارة 4°C و 20°C على الترتيب ويظهر ذلك واضحاً في الشكل (37).



الشكل (37) تأثير شروط التخزين في الحموضة المعيارية و pH في خل التفاح الملحق بـ *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*

إن انخفاض الحموضة ناتج عن نشاط الأحياء الدقيقة التي تقوم بأكسدة حمض الخل إلى CO₂ وهذا يتوافق مع (Burbianka, 1983) في دراساته على الخل.

أما بالنسبة للمركب ثنائي الاستيل فإن النتائج المبينة في الجدولين (21) و(22) والموضحة في الشكل (38) تشير بوضوح إلى عدم تشكل ثنائي الاستيل خلال فترات التخزين المشار إليها سابقاً وعلى درجتَي الحرارة المختلفتين (4 و 20°م)



الشكل (38) تأثير شروط التخزين في كمية ثنائي الاستيل و عدد بكتريا حمض اللبن في خل التفاح الملقح بـ *Leuconostoc mesenteroides* و *Lactobacillus plantarum*

ويعود ذلك إلى انخفاض عدد بكتريا حمض اللبن المسؤولة عن تشكيل ثنائي الاستيل أو عدم تواجدها (Tesfaye *et al.*, 2002).

4-الاستنتاجات:

- 1- أفضل درجة حرارة للتخزين هي الدرجة 4°م للخل والعصير المبستر تركيز 70% وذلك للحد من تشكل ثنائي الاستيل وحتى تكون التغيرات الكيميائية و الميكروبيولوجية أقل مايمكن .
- 2- يعد ارتفاع كمية ثنائي الاستيل في عصير التفاح 20% ولاسيما عند التخزين على الدرجة 20°م مؤشراً على انخفاض مواصفات العصير المخزن ومن ثم عدم صلاحيته للاستهلاك.
- 3- ثبات قيم ثنائي الاستيل خلال فترة التخزين في عصير التفاح تركيز 70%.
- 4- عدم تشكل ثنائي الاستيل خلال فترة التخزين في جميع أنواع الخل.

5-المقترحات:

- 1- تخزين عصير التفاح بتركيزه المختلفة وخل التفاح ضمن ظروف وشروط صحية سليمة (التخزين على درجة حرارة 4م°).
- 2- إجراء دراسة تأثير بكتريا حمض اللبن (*Lactobacillus Plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides*) في عصير التفاح ومنتجاته غير المبسترة.
- 3- اتباع الطرائق التكنولوجية الصحيحة من تعقيم وبسترة وتصفية أثناء مراحل تصنيع العصير من الفاكهة حيث أن هذه المراحل تعمل على القضاء على الأحياء الدقيقة وإبطال عمل الأنزيمات.

6-المراجع العربية:

- الجندي، ممتاز، 1975. الصناعات الغذائية، حفظ وتصنيع الاطعمة (جامعة القاهرة- كلية الزراعة).
- الموصلي، حسين، 2001. تصنيع وحفظ عصائر الفاكهة ومركزاتها، دمشق.
- حلابو، سعداحمد سعد ، زكي محمد بديع، عادل، علي احمد بخيت، محمود. 1995. تكنولوجيا الصناعات الغذائية، اسس حفظ وتصنيع الاغذية، المكتبة الاكاديمية،القاهرة،مصر.
- سفر، عادل، مرعي، عبدالوهاب، 1994. فساد الاغذية، الجزء النظري، منشورات مطبعة.
- قطنا، هشام، 1978. ثمار الفاكهة (انتاجها وتداولها وتخزينها).
- مرعي، عبد الوهاب، 1997. مخطوطة كتاب فساد الاغذية (جامعة دمشق - كلية الزراعة).

- Administrator. 2002. Do you dread diacetyl? Tips on taming those unwanted butterscotch flavors and aromas. Diacetyl: Homebrew Science, November.
- Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official Methods of Analysis, 15 ed 22.060. AOAC Washington D.C.U.S.A.
- Bartousky EJ, Henschke PA. 2004. The 'buttery' attribute of wine--diacetyl--desirability, spoilage and beyond.Int J food Microbiol, 96(3):235-52.
- Bates, B.P., Morris, J.R., Crandall, P.G. (2001). Principles and practices of small - and medium - scale fruit juice processing. [online] Rome: Publishing and Multimedia Service, FAO. Available from: <http://www.fao.org/Docrep/005/Y2515e/y2515e00.htm#toc> [2010-12-29].
- Beech, F., M.F. Kieser, A. Polland, 1965. Der Einfluss der Lagertemperatur auf die Qualitat von Apfelsaft-konzentraten. Flussiges Obst., 1:18.
- Burbianka, M. 1983. MikrobiologiaZywnos ci – Warszawa POLAND.
- Chen, S.C., Nagy, S. and Shaw, P.E. 1992. Physicochemical principles for the concentration and freezing of fruit juices. In Fruit Processing Technology, Editors, Agscience, Inc, Auburndale, Florida. 23-25.
- Choi, L.H., Nielsen, S.S. (2005). The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality. Journal of Food Quality, 28:13–29.
- Crowley, L. and ElAmin, H. 2007. Europe takes wait-and-see stance on diacetyl Flavouring.
- Diderichsen B, Wedsted U, Hedegaard L, Jensen BR, Sjolmc. 1990. Cloning of aldB, which encodes alpha-acetolactate decarboxylase, an exoenzyme from Bacillus brevis.J Bacteriol, 172(8):4315-21.
- Downing, D.L. (1989). Apple cider. In: Downing, D.L. (Ed.) Processed apple products. 169–188. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Doymaz, I. 2009. An experimental study on drying of green appels. Drrying Technology 45:1956-1962.

- Drzazga, B. 1984. Analiza techniczna w przetworstworstwie I warzyw
Copyright by Wydawnictwa Szkolne I pedagogiczne Warszawa- Poland.
- Duenas, M., Irastorza, A., Fernandez, C., Bilbao, A., Del Campo, G.
(1997). Influence of apple juice treatments on the cider making process.
Journal of the Institute of Brewing, 103:251–255.
- Duzewski, M. 1991. Studia nad drożdżami osmofilnymi Zesz. Nauk.
SGGW, AR, Warszawa, Poland.
- Eberhardt, M.: Lee, C., Liu, R.H.2000.Antioxidant activity of fresh
apples. Nature, 405:903-904.
- Fama, R. and Esq. 2007. Beware Diacetyl: The Next Legal Quagmire.
October/November.
- FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission (2000). Proposed draft
revised regional standard for vinegar. [online] Available from:
ftp://ftp.fao.org/codex/cceuro22/cl00_18e.pdf [2011-01-05].
- Federal Register. 2009. 21 January issue.
- García, I., Santos-Dueñas, I.M., Jiménez-Ot, C., Jiménez-Hornero, J.E.,
Bonilla-Venceslada, J.L. (2009). Vinegar engineering. In: Solieri, L.,
Giudici, P. (Ed.) Vinegars of the World. 97–120.
- 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.
- Hollman, P., van Trijp, J., Buysman, M., Gaag, M., Mengelers, M., de
Vries, J., Katan, M.1997. Relative bioavailability of the various
antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Let,
418:152-156.
- Horubawa, A. 1986. Essential Food Reservation, Lublin, Poland.
- Hugenholtz J.(1993) Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS
Microbiol. Rev. 12:165–178.

- 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.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. (2005). *Modern food microbiology*. 7th edition. Springer Science Business Media, Inc. New York.
- Jayaprakasha, G.K and Patil, B.S. 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, 101, 410-418.
- JEFCA, 1998. Evaluation of certain food additives. The fifty-first meeting of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series:891. WHO, Geneva.
- Joshi, V.K., Sharma, S. (2009). Cider Vinegar: microbiology, technology and quality. In: Solieri, L., Giudici, P. (Ed.) *Vinegars of the World*. 197–207. Italy: Springer-Verlag.
- Joshi, V.K., Sandhu, D.K., Thakur, N.S., Walia, R.K. (2002). Effect of different sources of fermentation on flavour profile of apple wines by descriptive analysis. *Acta Alimentaria*, 31:221–226.
- Kaleta, A. and Gornicki, K. 2010. Evaluation of drying models of apple(var.Mcintosh) dried in a convective dryer.*International Journal of Food Science and Technology* 45:891-898.
- Kaya. A., Aydin, O., and Demirtas, C. 2007. Drying kinetics of red delicious apples. *Biosystems Engineering* 96:517-524.
- Kilara, A., Van Buren, J.P. (1989). Clarification of apple Juice. In: Downing, D.L. (Ed.) *Processed apple products*. 83–96. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Konja, G. and Lovric, T. 1993. Berry Fruit Juices. In *Fruit Juices Processing Technology*.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., Aromaa, A. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 76:560-568.

- Lea, A.G.H., Drilleau, J.F. (2003). Cidermaking. In: Lea, A.G.H, Piggott, J.R. (Ed.). *Fermented Beverage Production*, 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Lea, A.G.H. (1989). Cider vinegar. In: Downing, D.L. (Ed.) *Processed apple products*. 279–301. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Martineau B, Henick-Kling T, Acree T (1995). "Reassessment of the Influence of Malolactic Fermentation on the Concentration of Diacetyl in Wines". *Am Soc Enol Vitic* 46 (3): 385–8.
- Marvin, L., J. Speck, 1976. *Compendium of methods for the microbiological examination of food*. American Public Health Association, Washington.
- Merai, A. (1991). Microbiological and chemical change of apple juice processing and apple juice concentrate during respiration SGGW-AR, Warso, Poland.
- Merck Index. 2009. 11th Edition, 2946.
- More SS, Vartak AP and Vince R, 2012. The butter flavorant, diacetyl, exacerbate β -amyloid cytotoxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 25, 2083-2091.
- Nielsen JC, Richelieu M (February 1999). "Control of flavor development in wine during and after malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*". *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (2): 740–5.
- NIOSH. (2003a). Diacetyl, 2557. Washington, DC:DHHS, CDC, NIOSH.
- NIOSH. (2003b). Preventing lung disease in workers who use or make flavorings (NIOSH Publication No.2004-110). Washington, DC: DHHS, CDC, NIOSH.
- Nurgel, V., Erten, H., Canbaş, A., Cabaroğlu, T., Selli, S. (2002). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strains on fermentation and flavour compounds of white wines made from cv. Emir grown in Central Anatolia, Turkey. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29:28–33.
- OHS Online. (2010). California becomes first state to set safety guidelines for diacetyl.
- OSHA. (2010a). Occupational exposure to flavoring substances: Health effects and hazard control. Washington, DC: DOL, Author.

- OSHA. (2010b). Worker alert: Diacetyl and substitutes. Washington, DC: DOL, Author.
- Proulx, A., Nichols, L. (2003). Cider, making, using and enjoying sweet and hard cider. 3rd edition. North Adams: Storey Publishing.
- Raspor, P., Goranovič, D. (2008). Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28:101–124.
- Renouf, V; Claisse, O; Miot-Sertier, C and Lonvaud-Funel, A, 2006. LAB evolution during winemaking: use of rpoB gene as a target for PCR-DGGE analysis. *Food Microbiol.* 23, 136-145.
- Robert. 2014. 12 Reasons Why Apple Cider Vinegar Will Revolutionize Your Health.
- Rosenberg, M.D. 2013. A Bag of Popcorn, a Can of Beer, and Diacetyl: A Recipe for Alzheimer's?.
- Salunkhe, D.K., Bolin, H.R. and Reddy, N.R.1991.Storage, Processing and Nutritional Quality of Fruits and Vegetables, 2nd ed., Vol. 1: Fresh Fruits and Vegetables (323P.P) and Vol. 2: Processed Fruits and Vegetables (195P.P). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Scantan, B.S. 2003. Mechanical Engineering, University of Louisiana at Lafayette.
- Siegel, H.; Eggersdorfer, M. (2005), "Ketones", Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Wiley-VCH.
- 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 reserved, chem.,ferm, 4:30, Warso, Poland.
- Speckman, R. A.; Collins, E.B. "Diacetyl biosynthesis in Streptococcus diacetilactis and Leuconostoc citrovorum" *J. Bacteriol.* 1968, 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.
- Tesfaye, W., Morales, M.L, García-Prailla, M.C., Troncoso, A.M. (2002). Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 13:12–21.
- Timoumia, S., Mihoubia, D., Zagrouba, F. Shrinkage. 2007. Vitamin C degradation and aroma losses during infra-red drying of apple slices. *LWT* 40, 1648-1654.
- Turner. (2011). "Ultra-prolonged activation of CO₂-sensing neurons disorients mosquitoes". *Nature* 474: 87–91.
- Van_Arsdel, W.B. 1973. *Food Dehydration Vol. II*. The AVI Publish. Cpo., Inc. pp. 158, 192.
- Velic, D., Planinic, S., Tomas, S. and Bilic, M. 2004. Influence of air flow velocity on kinetics of convection apple drying. *Jornal of Food Engineering* 64:97-102.
- Wagner, N; Hon Tran, Q; Richter, H; Selzer, PM and Uden, 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-temperaturabhängige veränderungen sensorischer und nichtesensorischer qualitäts – erkmale VoV Apfel-saftkonzentraten. *Mitt klosterneuburg*, 5/6: 367.
- Willett, W. 1995. Diet, nutrition, and avoidable cancer. *Environ Health Perspect*, 103: 165-170.
- Wu, X., Beecher, G.R, Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agric Food Chem*, 52:4062-37.