مجلة العلوم البحتة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 03/05/2019 Revised 02/09/2019 Published online 11/12/2019

دراسة معدل التغيرات في بعض الخصائص الكيميائية والميكرو بيولوجية لعينات من عصير البرتقال المركز والمخفف أثناء تخزينها في درجات حرارة مختلفة

الطاهر عمر محمد الزوي[1] و *نجاح عمر الفيتوري[2]
[1] قسم علوم وتقنية الاغذية–كلية الزراعة – جامعة طرابلس، ليبيا
[2] قسم علوم الأغذية–كلية العلوم الهندسية و التقنية–جامعة سبها، ليبيا
*للمراسلة: a.elfeturi@uot.edu.ly

الملخص استهدفت هذه الدراسة تتبع التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية في عينات من عصير البرتقال المركز والمخفف أثناء تخزينها لمدة (3 أشهر) بدرجات حرارة (4 ، 20 و 30°م) . تم استخدام ثلاثة تركيزات مختلفة من العصير: (15% ، 30% و 65%)، بالإضافة الى عينتين من العصير المعقم بتركيز 30% و 65% تم تلقيحهما بسلالات نقية من الخمائر والأعفان (*Sacchromyces cerevisiae*) و (*Penicillium notatum*) على الترتيب. أظهرت نتائج الإختبارات الكيميائية حدوث تغيرات طفيفة في قيم الإختبارات مع ظهور اختلافات في هذه القيم بين الأشهر في عينات العصير بتركيز (65%). وبالنسبة للتركيز (15،30%) أظهرت النتائج ارتفاع النسبة المئوية للحموضة بمقدار (0.4–0.3%) مع انخفاض في النسبة المئوية للتركيز بمقدار (2–5%) . كما اشارت الاختبارات الميكروبيولوجية الى حدوث ارتفاع في العدد الكلي للميكروبات لعينات العصير بتركيز (30،15%) حيث بلغت (4.5×10^{2}و9.6×10^{3} و.م.ت/مل) ، (2.0×10و7.0×10^{4} و.م.ت/مل) على التوالي ، بينما انخفض العدد الميكروبي الكلي لعينات العصير بتركيز (15%) عند الشهر الثالث من التخزين حيث كانت (7.0×10^{4}و 8.0×10^{3} و.م.ت/مل)، ولم تشر النتائج الى وجود بكتيريا الكوليفورم بأي من العينات المدروسة. وهذا يعد مؤشر جيد لمدى التقيد باشتراطات الممارسات الصحية الجيدة والجودة الميكروبيولوجية العالية للمياه المستخدمة في عمليات التصنيع . أوضحت نتائج العزل خلال فترة التخزين ولجميع التراكيز وجود 3 أنواع من الأجناس البكتيرية والتي تتبع الاجناس:*Micrococcus* , *Bacillus* و*Lactobacillus* . أما فيما يتعلق بالخمائر و الأعفان فتبين النتائج أن معظم العزلات شملت عفن *Pencillium* ، إضافة إلى بعض الخمائر التابعة للأجناس : *Sacharomyces* ، *Rhodotorula* و *Torulopsis*. على الصعيد الآخر اظهرت نتائج عينات العصير المعقمة والملقحة بسلالات من خميرة *Sacchromyces cerevisiae* وعفن *Penicillium notatum* بتركيز (30% ، 65%) ارتفاع ملحوظ في العدد الميكروبي عند التركيز (30%) خلال أشهر التخزين ، في حين انعدمت عند التركيز (65%). يتضح من هذه الدراسة ان عصير البرتقال المركز (65%) غير المخفف قد احتفظ بجودة كيميائية وميكروبيولوجية عالية نسبيا لمدة 3 اشهر عند درجة 4 م مقارنة بعينات العصير المخفف وأن معدل التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية غير المرغوبة يتناسب طرديا مع ارتفاع نسبة التخفيف و درجة حرارة التخزين. كما لوحظ انه لم يتم عزل أي نموات بكتيرية او فطرية من العينات غير المخففة مقارنة بالعينات المخففة.

الكلمات المفتاحية: عصير البرتقال، درجة الحرارة.

Study the rate of changes in some chemical and microbiological properties of concentrated and diluted orange juice samples during storage at different temperatures

Altaher O. Alzwei[1] , *Najah O. Elfeturi[2]
[1] Food Science & Technology Department, Faculty of Agriculture, Tripoli University, Libya
[2] Food Technology Department, Faculty of Engineering and Technology, Sebha University, Libya
*Corresponding author: a.elfeturi@uot.edu.ly

Abstract This study to trace the chemical and microbiological changes in concentrated and diluted orange juice samples during storage for 3 months at temperatures of 4, 20 and 30 oC. Three different concentrations of juice (15%, 30% and 65%) were used, as well as two samples of sterile juice at 30% and 65% concentration, respectively, with pure strains of yeasts and molds (Sacchromyces cerevisiae and Penicillium notatum). The results of the chemical tests revealed slight changes in the values of the tests with differences in these values between the months in the juice samples at a concentration of (65%). For the concentration (15, 30%), the results showed a high percentage of acidity (0.4-0.3%) with a decrease in the percentage of concentration by (2-5%). Microbiological tests indicated an increase in the total number of microbes for juice samples at a concentration of 15,30% (4.5 x 102, 9.6 × 103C.F.u/ ml), (2.0 x 10, 7.0 × 104 C.F.u/ ml) respectively, while

the total microbial number of juice samples decreased by 15% at the end of the third months of storage (7.0 x104 and 8.0 × 103 C.F.u/ ml). The results did not indicate. The presence of coliform bacteria in any of the studied samples. This is a good indicator of adherence to the requirements of good health practices and the high microbiological quality of water used in manufacturing processes. The results of the isolating during the storage period at all the concentrations showed that there were 3 species of bacterial species that follow the species: Bacillus, Micrococcus and Lactobacillus. As for yeast and mold, the results showed that most of the isolates included Pencillium, as well as species of yeast: Sacharomyces, Rhodotorula and Torulopsis. On the other hand, the results of sterile and inoculated samples by Sacchromyces cerevisiae and Penicillium notatum (30% and 65%) showed a significant increase in the microbial number at concentration (30%) during the months of storage, while the was no microbial growth at the concentration of 65%. The concentrated orange juice (65%) did not dilute with relatively high chemical and microbiological quality for 3 months at 4 °C compared to diluted juice samples. The rate of chemical and microbiological changes was directly proportional to the high dilution and storage temperature. It was also observed that no bacterial or fungal strains were isolated from non-diluted samples compared to diluted samples.
Key words: orange juice, temperature.

المقدمة:

تعتبر الفاكهة جزءا من النظام الغذائي للإنسان على مر السنين و أيضا من المكملات الغذائية الموصى بها دوليا، وتلعب دور حيوي في تغذية الإنسان نظرا لاحتوائها على عوامل النمو الضرورية، إذ توفر كمية كبيرة من الفيتامينات والأملاح المعدنية ومضادات الأكسدة والألياف والتي تعتبر ضرورية للحمية الغذائية (Klee *et al.,* 2010)، (Wardlaw ,2004) . ويمكن أن يكون لاستهلاك الفواكه وعصائر الفاكهة تأثير إيجابي وسلبي على المستهلكين. وعصائر الفاكهة المصنعة تحت ظروف صحية يمكن أن تلعب دورا هاما في تعزيز صحة المستهلكين من خلال تثبيط سرطان الثدي ، و الوقاية من أمراض القلب ، والتهاب المسالك البولية (Hylemariam Mihiretie , Kassu Desta 2015) . ومرض السكري (Ndife *et al.,* (Aneja *et al.,* 2014) (2013 و (Jasmine , 2012) . يعد البرتقال مصدرا هاماً للمركبات النشطة بيولوجياً مثل الفينولات والكاروتينات (Vanamala *et al.*, 2006) (Ndife and Abbo, 2009) . إضافة الى فيتامين C و E (Galaverna (Patil *et al.*, 2009) *et al.*, 2008). وتؤدي هذه المركبات دوراً مهماً في حماية الأنظمة البيولوجية من خطر الأكسدة باعتبارها مضادات أكسدة نشطة وكوابح للجدور الحرة التي تسبب ضرراً لمكونات الخلايا الحية ، الأمر الذي يعتبر تفسيرا لحدوث العديد من الأمراض (Franke *et al.,* 2004) و(Klimczak *et al.,* 2007).

في غياب ممارسات التصنيع الجيدة إضافة إلى القيمة الغذائية من الفواكه وعصائر الفاكهة يجعل المنتج وسيلة جيدة للنمو الميكروبي (Hylemariam Mihiretie , Kassu Desta 2015) .إذ تحتوي عصائر الفاكهة على العديد من الأنواع الميكروبية خاصة الفطريات (الخمائر والأعفان) والتي تتواجد بشكل طبيعي على سطح الثمار الطازجة (Aneja *et al.,* 2014) و (Al-Hindi *et al.,* 2011). وحيث كون هذه الثمار عرضة للخدش أثناء الجني والنقل والتخزين والتداول والتعبئة والتسويق ، وبالتالي فإن ذلك يسهل الغزو الميكروبي للأنسجة الداخلية للثمار ويساهم في نقل بعض الأمراض الميكروبية، بالإضافة الى اعتبارها عاملا هاما من عوامل الفساد والتلف السريع لهذه المنتجات (Durgesh *et al.,* 2008). كما أن التلوث الميكروبي بواسطة المعدات أثناء التصنيع قد يساهم بدوره إلى حد كبير في تواجد مسببات الأمراض الميكروبية في العصائر المحضرة من هذه الثمار (Olivera *et al.,* 2006) ، (Nicolas ,2007) . إضافة إلى أن التلوث الميكروبي يمكن أن يؤدي إلى تغيرات غير مرغوبة في الطعم والنكهة وتغير في اللون وتشكيل مواد مسببة للحساسية وإنتاج مركبات سامة ، كما أن التلوث بواسطة الأعفان يمكن أن يؤدي إلى إنتاج السموم الفطرية (Dorota, 2014).

من العوامل الحساسة والحرجة المؤثرة على فساد العصائر (الرقم الهيدروجيني pH ، إمكانية الحد من الأكسدة ، النشاط المائي ، توفر المغذيات ، وجود المركبات المضادة للميكروبات والمنافسة بين الأحياء الدقيقة) حيث يعتبر (pH) والنشاط المائي من أهم العوامل المؤثرة على الفساد الميكروبي للعصائر والتي تشمل تغير في النكهة واللون والقوام والمظهر وإنتاج غاز CO_2 مما يؤدي إلى تدهور جودة المنتج (Kaddumukasa *et al.,* 2017) .

يتم الحد من الخسائر الاقتصادية الناجمة عن تلف عصائر الفواكه من خلال اتباع اشتراطات النظافة والممارسات الصحية والتصنيعية الجيدة قبل وأثناء تجهيز الثمار، إضافة إلى عملية تركيز العصير والمعاملة الحرارية (البسترة) والتخزين على درجات حرارة منخفضة كل ذلك يساعد على خفض عدد الميكروبات في المنتج النهائي ومع ذلك تعتبر هذه المنتجات ليست خالية من المشاكل الناجمة عن الفساد الميكروبي (Mihiretie and Desta, 2015).

أشارت العديد من الدراسات إلى أن الفطريات (الأعفان والخمائر) تتحمل الظروف الأسموزية العالية high-osmotic وانخفاض درجة الرقم الهيدروجيني (pH) ، كما أن بعضها تنمو بصورة جيدة في درجة حرارة التبريد وبالتالي يمكن أن تسبب تلفا للمنتجات المصنعة (Covadonga *et al.,* 2002) . من أهم أنواع الخمائر التي تم عزلها من عصائر الحمضيات : *Candida parapsilosis, Candida stellata Saccharomyces cerevisiae, Torulaspora delbrueckii, Zygosaccharomyces rouxii* . كما أن الأنواع التابعة لجنس *Rhodotorula, Pichia, Hanseniaspora, and Zygosaccharomyces bailli Metschnikowia* تعتبر شائعة أيضا (Hatcher *et al.,* ,2000).

أما فيما يتعلق بالأعفان فإنها تساهم بدورها في تلف هذه المنتجات إسوة بالخمائر ومن بينها الأنواع التابعة للاجناس : *Aspergillus sp., Eurotium, Alternaria, Cladosporium, Paecilomyces, and Botrytis* (Lawlor *et al.,* 2009).

إن تواجد عدد أكثر نسبيا من الخمائر بصورة مكثفة بعصائر الحمضيات مقارنة بالأعفان يعزى أساسا الى قدرة الأولى على مقاومة مستويات مرتفعة نسبيا من السكريات بالعصائر ، إضافة إلى قدرتها على النمو في درجات حرارة التبريد ، والأهم من ذلك فإن معظم الأعفان تتطلب توفر الأكسجين باعتبارها إجبارية هوائية مما يحد من انتشارها ونموها بالعصير إذ يتركز تواجدها على السطح العلوي حيث تتوفر كميات ضئيلة من الأكسجين . أما الخمائر فإنها على العكس من ذلك فهي اختيارية في احتياجاتها الهوائية مما يمكنها من الإنتشار و النمو في العصير Scholte (Dorota, 2014) (*et al.,* 2004).

إن القيمة القصوى والدنيا من الرقم الهيدروجيني (pH) لنمو الأعفان تعتمد على عوامل أخرى مثل النشاط المائي ودرجة الحرارة ونوع الأحماض المستخدمة وعلى سبيل المثال حمض الستريك والفوسفوريك والطرطريك التي تعزز النمو عند قيم منخفضة من الرقم الهيدروجيني (pH) ، إضافة ألى ذلك فإن بعض أنواع من البكتيريا خاصة مجموعة بكتيريا حمض اللاكتيك (*lactic acid*) تساهم بدورها في فساد العصائر غير المبسترة لما تتميز بها من قدرتها على تحمل الحموضة المرتفعة كما هو الحال بالأعفان (Oliveira ,2006). هذه الأنواع من البكتيريا تنتج بدورها بعض الأحماض العضوية مثل حمض الخليك والفورميك جنباً إلى جنب مع الإيثانول و CO_2 وغيرها من المركبات الوسطية التي تساهم في التغير غير المرغوب في نكهة العصير . (Anega *et al.,* 2014)

أوضحت الدراسات أن الأنواع البكتيرية الأكثر شيوعاً بالعصائر تتبع الأجناس : *Acetobacter, Alicyclobacillus, Bacillus, Gluconobacter, Lactobacillus, Leuconostoc, Cladosporium, Zymomonas, and Zymobacter.* (Lawlor *et al.,* 2009) *Paecilomyces, and Botrytis*.

على الرغم من الأهمية الإقتصادية لعصائر الحمضيات إلا أن هناك عدد قليل من الدراسات المهتمة بالتعرف على أنواع الخمائر السائدة بها ، عليه فإن هناك حاجة ماسة إلى مزيد من الدراسات، بالإضافة الى الدراسات المتعلقة بالعوامل التي تساهم في تلف هذه المنتجات . وهذا من شانه يساهم في توفير قاعدة بيانات قد تكون ذات قيمة لإختيار أفضل الطرق الفعالة للتقليل من الحمل الميكروبي والحد من نشاطها بعصائر الفاكهة وحماية صحة المستهلك من الأمراض الميكروبية المرتبطة بها.

اهداف الدراسة:

استهدفت هذه الدراسة تتبع التغيرات الكيميائية والميكروبيولوجية في عينات من عصير البرتقال المركز والمخفف أثناء تخزينها لمدة (3 أشهر) بدرجات حرارة (4 ، 20 و 30°م) ، بالإضافة الى دراسة مدى تأثير تركيز العصير على معدل نمو سلالات مختارة من الخمائر والأعفان بعينات من العصير الملقحة بها طوال فترة التخزين.

المواد وطرق العمل :

تم استخدام ثلاث تركيزات مختلفة من العصير: (15% ، 30% و 65%) بالإضافة الى عينتين من العصير المعقم تركيزهما 30% و 65% تم تلقيحهما ببعض الخمائر والأعفان وتحديدا :

(خميرة : *Sacchromyces cerevisiae* وعفن: *Penicillium notatum*) وذلك بهدف دراسة مدى تأثير تركيز العصير على معدل نمو الخمائر والأعفان بالعينات الملقحة أثناء فترة التخزين بدرجات حرارة مختلفة (4 ، 20 و 30°م).

1- المواد :

المادة المستخدمة في هذه الدراسة هو عصير البرتقال المركز (65%) الذي تم الحصول عليه من أحد المصانع الوطنية ، بالإضافة إلى بعض السلالات النقية من الأحياء الدقيقة من معمل ميكروبيولوجيا الأغذية بقسم علوم وتقنية الأغذية / كلية العلوم الهندسية والتقنية / جامعة سبها – ليبيا .

قسمت عينة العصير الى خمسة معاملات وذلك على النحو التالي:

أ- عصير مركز: (65%) مستخرج من البرتقال الطازج,والذي استخدم بمتابة عينة Control).

ب- عصير نصف مركز: (30%) ناتج عن تخفيف العصير المركز (65%) .

ج- عصير مخفف تركيزه : (15%) ناتج عن تخفيف العصير المركز (65%) .

د- عصير معقم بتركيز (30% و 65%) تم تلقيحهما بخميرة نوع : *Sacchromyces cerevisiae*

ه- عصير معقم بتركيز (30% و 65%) تم تلقيحهما بعفن نوع: *Penicillium motatum*

تم تخزين العينات المعاملة لفترة ثلاثة أشهر عند درجات حرارة (4 و 20 و 30°م) . وخضعت العينات المشار إليها الى إختبارات كيميائية وميكروبيولوجية بمعدل مرة كل شهر وباستخدام ثلاث مكررات .

2- طرق العمل :

أولا: الاختبارات الكيميائية :

أ- تقدير الحموضة الكلية:

تم تقدير الحموضة الكلية وفقاً للطريقة التي ذكرها (Elmer, 1978) .

ب- قياس الرقم الهيدروجيني pH:

تم قياس الرقم الهيدروجيني pH باستخدام جهاز meter pH (A.O.A.C, 2000)

ثانيا: الاختبارات الميكروبيولوجية :

أ- تم إجراء الإختبارات الميكروبيولوجية خلال فترة التخزين (3 أشهر) عند درجات حرارة:

(4 و 20 و 30°م) .

وذلك وفقا للطريقة المذكورة من قبل (Tournas, 2006) و باستخدام اوساط النمو المناسبة كما يلي :

أ- اختبار تقدير العد الكلي للميكروبات باستخدام بيئة الاجار المغذي Nutrient Agar (NA).

ب- اختيار تقدير الخمائر والفطريات باستخدام الوسط Potato Dextrose Agar (PDA) مع إضافة مضاد حيوي (Antibiotic) لمنع نمو البكتيريا.

ج- اختيار تقدير بكتيريا *E.coli* باستخدام الوسط MacConkey Agar (MCA)

أجريت التخفيفات المناسبة باستخدام ماء الببتون (0.1% pepton solution) وحضنت الأطباق عند درجات حرارة 25°م ، 37°م و 55°م وذلك لكل من الخمائر والأعفان وبكتيريا القولون والبكتيريا المتحملة للحرارة على التوالي .

تم إختيار عزلات نقية من الخمائر والأعفان والبكتيريا وفحصها مجهريا للتعرف على أهم الأجناس الميكروبية السائدة والنامية على بيئات الزرع السابقة .

1- تشخيص البكتيريا :

تم الفحص المجهري للعزلات البكتيرية وذلك بإستخدام (صبغ جرام) والإختبارات البيوكيميائية .

2- تشخيص الفطريات :

زرعت الفطريات المعزولة على بيئة Czapek Yeast Extract Agar (pH 6.7) والتحضين عند درجة حرارة 25 °م ، وتم التعرف على الصفات المورفولوجية من خلال لون المستعمرة والشكل والمظهر والحوامل الجرثومية والقدرة على تخمير السكريات وذلك وفقاً لـــ (Pitt, and Hocking ,2009) و(Samsom, 2010).

والعصائر غير المبستر الطازجة تغيرت بشكل كبير مما يؤثر على استقرار التخزين.

النتائج والمناقشة :

أولا: نتائج الاختبارات الكيميائية:

أظهرت النتائج بالجدول (1) حدوث تغيرات طفيفة في قيم الأختبارات لعصير البرتقال (65%) ، وهذا ناتج عن تأثير الاحياء الدقيقة ، حيث أن الاعداد الموجودة من الميكروبات لم تكن قادرة على تغير قيم هذه الإختبارات في العصير المركز . و بالنسبة للتركيز (30،15%) لوحظ انخفاض في نسبة التركيز خلال مدة التخزين وبشكل خاص عند درجة حرارة (20°م) حيث انخفض من 15% : 13% و 30% : 25% وذلك عند نهاية فترة التخزين ، وهذا يعود إلى النمو الجيد للميكروبات في عينات العصير . وارتفاع نسبة الحموضة (0.4:0.7%) وهذا الإرتفاع لم يؤثر على درجة الحموضة وهذا متعلق بطبيعة الوسط وطبيعة ظهور الحمض وهذا وفقا لمواصفات عصائر الفاكهة المنتجة والمعبر عنها بحمض الستريك بأن لاتزيد النسبة المئوية للحموضة عن 3.5% كحد أقصى ، هذه النتائج في دراستنا قد تشابهت مع نتائج (Pilo *et al.*, 2009) كما أظهرت الحموضة تباين كبير بين العينات التي تم تحليلها من عصيرالبرتقال تراوحت من (0.40 :1.40) 100مل/جم وكانت قيم pH في مدى 3.36- 3.72 %. كذلك مع نتائج دراسة التي أجراها (Divyashree *et al.*,2013) والتي تراوحت بين 0.25-0.39%)

وبالنسبة لعينات العصير الملقحة بسلالات ميكروبية كانت النتائج بالجدول (2،3،4،5) متقاربة مع النتائج المتحصل عليها بالنسبة لعينات العصير المركز والغير ملقح . وبينما أظهرت النتائج في جدول (6) عند التركيز (30%) ارتفاع ملحوظ في النسبة المئوية للحموضة خلال مدة التخزين (1.2:0.75%) وهذا متعلق بطبيعة الوسط وطبيعة ظهور الحمض.

كما تبين من خلال هذه النتائج أن النمو الجيد للميكروبات الملقحة في التراكيز المنخفضة من السكر تؤدي إلى فساد العصير المخزن

وتجعله غير قابل للإستهلاك وهذا ما أشار إليه (Kaddumukasa *et al.,* 2017). حيث أن انخفاض pH في عصائر الفاكهة يؤدي إلى نمو الخمائر وهذا الانخفاض يؤدي إلى ارتفاع في الحمل الميكروبي (Pilo *et al.,* 2009).

ثانيا: نتائج الاختبارات الميكروبيولوجية:

من خلال الزرع على كلاً من بيئة الآجار المغذي وبيئة الخمائر والفطريات تم حصر العدد الكلي للميكروبات (بكتيريا ، خمائر ، فطريات) الموجودة في عينات العصير المخزنة على درجات (4 ، 20 ، 30ْم) تبين مايلي:

(1) التركيز (65%) : من خلال القيم التي تظهر في الجدول رقم (2) نلاحظ ارتفاع في العدد الكلى للميكروبات عند كلاً من درجتي الحرارة (20 ، 30ْم) خلال مدة التخزين حيت بلغ (3.5 × 10 ← 2.8 × 10^2) و (3.5 × 10 ← 6.7 × 10^2) وحدة تكوين مستعمرة /مل على التوالي ، كذلك بينت النتائج ارتفاع طفيف في العدد الكلى عند (4ْم) خلال مدة التخزين (3.5 × 10 ← 4.5 × 10) وحدة تكوين مستعمرة /مل.

أيضا بالنسبة لعدد الخمائر والفطريات على بيئة (P.D.A) ، نلاحظ أيضاً ارتفاع في عددها حيث بلغت (2.7 × 10 ← 1.7 × 10^2) و (2.7 × 10 ← 3.4 × 10^2) وحدة تكوين مستعمرة /مل بالنسبة لدرجتي الحرارة (20 ، 30ْم) على التوالي خلال مدة التخزين ، وارتفاع طفيف عند الدرجة (4ْم) حيث (2.7 × 10 ← 4.2 × 10) وحدة تكوين مستعمرة /مل .

ومن خلال هذه النتائج تبين أن العدد الأكبر من نمو الميكروبات تظهر في الشهر الأول من التخزين ومن تم تبقى على نفس المستوى خلال الشهر الثاني وبعدها تهبط في نهاية فترة التخزين . ومن خلال استخدام الحرارة تبين أنه أفضل حرارة لنمو الاحياء الدقيقة هي (20ْم) وأقلها نمواً هي درجة حرارة (4ْم) .

نستنتج من ذلك إن التركيز العالي (65%) عمل على الحد من نمو الميكروبات في نهاية فترة التخزين حيث أن الميكروبات الموجودة في العصير المركز لاتنتمي إلى الأحياء الدقيقة الاوسموفيلية . وهذا ما أشار إليه (Aneja *et.al.,*2014) (Mihiretie and Desta, 2015) أن أنخفاض قيم الـــ pH والمحتوى العالي من السكر في عصائر الفاكهة لا يسمح بنمو البكتيريا .

(2) التركيز (30%) : أيضاً أوضحت النتائج جدول (2) زيادة العدد الكلي للأحياء الدقيقة خلال كامل مدة التخزين وبشكل خاص عند درجتي الحرارة (20 ، 30ْم) حيث بلغ (4.5 × 10^2 ← 9.6 × 10^3) وحدة تكوين مستعمرة /مل. وبالنسبة لعدد الخمائر والفطريات نلاحظ أيضا ارتفاع في عددها خلال مدة التخزين حيث بلغت (1.5 × 10 ← 1.1 × 10^3) و (1.5 × 10 ← 2.3 × 10^3) وحدة تكوين مستعمرة /مل وذلك عند درجتي حرارة (20 ، 30ْم) على التوالي .أيضا أوضحت النتائج أن العدد الميكروبي كان في تزايد خلال مدة التخزين وجاء هذا مطابقاً لنتائج (Goll, 1988). حيث أن التراكيز المنخفضة لم يعيق نمو الأحياء الدقيقة في الوسط .

(3) التركيز (15%) : بينت النتائج التي تظهر في الجدول (3) زيادة كبيرة في العدد الميكروبي الكلي خلال شهري التخزين (الأول والثاني) وبشكل خاص عند درجتي (20 ، 30ْم) حيث (2.0 × 10 ← 4 × 10^4) و (2.0 × 10 ← 7 × 10^4) وحدة تكوين مستعمرة /مل عند درجتي حرارة (20 ، 30ْم) على التوالي .

وانخفاض العدد الميكروبي خلال الشهر الأخير من التخزين حيث (4.0 × 10^4 ← 1.6 × 10^3) و (7.0 × 10^4 ← 8 × 10^3) وحدة تكوين مستعمرة /مل وذلك عند درجة حرارة (20 ، 30ْم) على التوالي . فيما نلاحظ أقل زيادة عند الدرجة 4ْم (2.0 × 10 ← 5.0 × 10^2) وحدة تكوين مستعمرة /مل . كذلك بينت النتائج ارتفاع في عدد الخمائر والفطريات خلالمدة التخزين وخاصة عند درجتي حرارة (20 ، 30ْم) .

هذه النتائج تتشابه مع النتائج التي توصل إليها (Nma and Ola, 2013) في نيجيريا وفيها بلغ العدد الكلي للبكتيريا في عينات عصير البرتقال 3.5 × 10^2 ← 7.1 × 10^3 وحدة تكوين مستعمرة /مل . ونتائج (Ndife *et al.,*2013) عند الكشف عن التلوث الميكروبي لعينات العصير في الأسواق النيجيرية حيث بلغ pH 3.40 : 4.08 ومتوسط النسبة المئوية للحموضة بلغ 0.40 ، 0.68 ، 0.85 ، 1.06% ، وأن العدد الكلي للبكتيريا الهوائية في العصير The viable microbial counts (1.0 x 102 to 5.2 x 102 cfu/100 ml) وكان اقل من الحد المسموح به . وتراوحت عدد الفطريات والخمائر بين 1.1×10^1 و 4.7×10^1 وحدة تكوين مستعمرة/100مل . والعدد الكلي للبكتيريا في عينات عصير الفواكه في ليبيا 1 ، 3×10^5 وبمتوسط 5×10^4 وحدة تكوين مستعمرة/مل (Ghenghesh *et al .,* 2005) .

نستنتج مما سبق أن الزيادة الكبيرة غي عدد الميكروبات خلال الشهر (الأول والثاني) من التخزين دلالة على النمو الجيد للميكروبات حيث أن التركيز (15%) ودرجة الحرارة مناسبة لنموها . وأن انخفاض عدد الميكروبات في الشهر الأخير من التخزين نتيجة لأفراز بعض المواد من الميكروبات التي ادت الى قتلها في نهاية فترة التخزين .

(4) تقدير عدد بكتيريا *E.coli* :

أجرى تقدير عدد بكتيريا *E.coli* بهدف اختبار مدى نظافة المياه المستخدمة في عملية التصنيع (غسيل الآلات والاجهزة) ، حيث بينت النتائج بالجدول (2) نتيجة الاختبار الذي يؤكد نظافة المياه المستحدمة وصلاحيتها حيث انه لايوجد لهذه البكتيريا لأنه لم تظهر أية نموات على الأطباق عند عملية الزراعة على بيئة ماكونكى آجار . وهذه النتيجة تطابق مع نتائج التي تحصل عليها (Nma and Ola,2013) .

(5) بالنسبة لعينات العصير الملقحة بسلالات من خمائر *Sccharomyces cerevisiae* وفطر *Penicillium notatum* في تراكيز مختلفة (30% ، 65%) وبدرجات حرارة التخزين (4 ، 20 ، 30°م) . قد بينت النتائج في الجدول (3، 5) عدم نمو الميكروبات في العصير المركز(65%) بعد الشهر الأول من التخزين ، مما يدل على أن التراكيز العالية من السكر والحمض عملت على قتل هذه الميكروبات في وقت أقل من الشهر . أيضا أوضحت النتائج في الجدول (4،6) لعينات العصير (30%) ارتفاع في العدد الميكروبي بشكل عام خلال أشهر التخزين وهذا مايؤكد على النمو الجيد للخمائر والفطريات في مثل هذه الأوساط، وجاء ذلك مطابقا لما ذكره (Merai , 1991).

تشخيص البكتيريا:

من خلال الإختبارات البيوكيميائية وصبغ جرام تم التعرف على 3 أنواع من الأجناس البكتيرية والتي تشمل , *Bacillus sp.* (*Micrococcus sp. , Lactobacillus*) .

تشخيص الفطريات:

تبين أن معظم عزلات الخمائر والأعفان التي تم عزلها من عينات عصير البرتقال كانت تشمل فطريات *Pencillium*، *Sacharomyces* ، *Rhodotorula* ، *Torulopsis* وتوافقت هذه النتيجة مع ما وجده (Nma and Ola ,2013) .

الخلاصة

النتيجة التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة تشير إلى أن هناك الحاجة لوضع قواعد جديدة للشركات المصنعة لعصائر الفاكهة وضرورة التفتيش على أماكن العمل ومسؤلي الصحة العامة يجب أن تكون منتظمة ومتكررة للتأكد من اتباع القواعد من قبل الشركات المصنعة وتطبيق تحليل المخاطر ونقاط التحكم الحرجة HACCP.

جدول (1) معدل التغير في بعض الخصائص الكيميائية لعصير البرتقال تركيز(15 ، 30 ، 65%) خلال فترة التخزين عند درجات حرارة مختلفة.

%التركيز	الزمن (شهر)	الحرارة	%التركيز	%للحموضة	pH
		4	65.0	1.40	3.40
	0	**20**	65.0	1.40	3.40
		30	65.0	1.40	3.40
		4	65.0	1.50	3.50
	1	**20**	64.6	1.60	3.60
		30	64.8	1.60	3.70
%65		**4**	65.0	1.45	3.50
	2	**20**	64.2	1.60	3.60
		30	64.7	1.80	3.65
		4	64.9	1.00	3.60
	3	**20**	64.2	1.20	3.70
		30	64.4	1.26	3.75
		4	30.0	0.75	3.60
	0	**20**	30.0	0.75	3.60
		30	30.0	0.75	3.60
		4	29.5	0.74	3.70
	1	**20**	28.9	0.76	3.80
%30		**30**	29.0	0.75	3.75
		4	28.5	0.74	3.60
	2	**20**	27.0	0.80	3.60
		30	28.5	0.75	3.50
		4	28.2	0.70	3.60
	3	**20**	25.5	0.72	3.65
		30	28.0	0.72	3.55
		4	15.0	0.42	3.68
	0	**20**	15.0	0.42	3.68
		30	15.0	0.42	3.68
		4	15.0	0.42	3.60
	1	**20**	14.5	0.45	3.50
%15		**30**	14.3	0.46	3.50
		4	14.8	0.50	3.60
	2	**20**	14.4	0.46	3.62
		30	14.1	0.48	3.90
		4	14.0	0.60	3.60
	3	**20**	13.3	0.52	3.70
		30	13.8	0.71	3.95

جدول (2) معدل التغير في العدد الكلي و أعداد الخمائر والاعفان و الايشريشيا كولاي(E. coli) في عينات عصير البرتقال تركيز (15 ، 30 ، 65%) خلال فترة تخزين عند درجات حرارة مختلفة.

الزمن (شهر)	درجة الحرارة	%65			%30			%15		
		العد الكلي	الخمائر والاعفان	E. coli	العد الكلي	الخمائر والاعفان	E. coli	العد الكلي	الخمائر والاعفان	E. coli
	4	3.5×10	2.7×10	0	4.5×10^{2}	1.5×10	0	2.0×10	1.0×10	0
0	20	3.5×10	2.7×10	0	4.5×10^{2}	1.5×10	0	2.0×10	1.0×10	0
	30	3.5×10	2.7×10	0	4.5×10^{2}	1.5×10	0	2.0×10	1.0×10	0
	4	5.0×10	3.3×10	0	9.1×10^{2}	5.0×10^{2}	0	8.0×10^{2}	5.5×10^{2}	0
1	20	2.0×10^{2}	1.2×10^{2}	0	9.9×10^{2}	6.2×10^{2}	0	2.0×10^{3}	1.7×10^{3}	0
	30	6.9×10^{2}	3.4×10^{2}	0	9.7×10^{2}	2.0×10^{2}	0	6.0×10^{3}	3.2×10^{3}	0
	4	1.0×10^{2}	3.8×10^{2}	0	9.6×10^{2}	5.6×10^{2}	0	9.2×10^{2}	6.6×10^{2}	0
2	20	2.9×10^{2}	1.6×10^{2}	0	9.7×10^{2}	7.0×10^{2}	0	4.0×10^{4}	3.1×10^{3}	0
	30	7.8×10^{2}	4.1×10^{2}	0	9.64×10^{2}	8.2×10^{2}	0	7.0×10^{4}	5.0×10^{3}	0
	4	4.5×10	4.2×10	0	9.47×10^{2}	6.5×10^{2}	0	5.0×10^{2}	3.9×10^{2}	0
3	20	2.8×10^{2}	1.7×10^{2}	0	9.68×10^{3}	1.1×10^{3}	0	1.6×10^{3}	8.5×10^{2}	0
	30	6.7×10^{2}	3.4×10^{2}	0	9.61×10^{3}	2.3×10^{3}	0	8.0×10^{3}	3.0×10^{3}	0

جدول (3) معدل التغير في بعض الخصائص الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات العصير المعقم تركيز (65%) والملقح بخميرة: *Saccharomyces cerevisiae*

الاختبار	فترة التخزين (شهر)											
	0			1			2			3		
	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م
التركيز%	65.0	65.0	65.0	65.0	64.8	64.7	65.0	64.8	64.8	65.0	65.0	64.8
الحموضة الكلية*	1.4	1.4	1.4	1.3	1.2	1.2	1.3	1.2	1.15	1.3	1.2	1.2
pH	3.40	3.40	3.40	3.77	3.61	3.74	3.40	3.38	3.36	3.25	3.25	3.25
العدد الكلي للميكروبات	1.0×10^{4}	1.5×10^{4}	1.6×10^{4}	0	0	0	0	0	0	0	0	0

جدول (4) معدل التغير في بعض الخصائص الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات العصير المعقم تركيز (30%) والملقح بخميرة: *Saccharomyces cerevisiae*

الاختبار	فترة التخزين (شهر) 0			1			2			3		
	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م	4 °م	20 °م	30 °م
التركيز%	30.0	30.0	30.0	30.0	29.0	29.0	30.0	28.0	28.5	29.0	27.0	28.0
الحموضة الكلية*	0.75	0.75	0.75	0.75	0.74	0.90	1.00	0.80	1.10	1.00	0.90	1.20
pH	3.60	3.60	3.60	3.70	3.67	3.65	3.39	3.36	3.27	3.14	3.12	3.42
العدد الكلي للميكروبات	$\times10^{4}$11.	2.8×10^{4}	3.5×10^{4}	3.0×10^{4}	3.4×10^{5}	6.0×10^{5}	6.0×10^{4}	8.0×10^{5}	1.1×10^{6}	4.0×10^{5}	2.0×10^{6}	1.8×10^{6}

جدول (5) معدل التغير في بعض الخصائص الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات العصير المعقم تركيز(65%) والملقح بفطر *Penicillium notatum*

الاختبار	فترة التخزين (شهر) 0			1			2			3		
	4	20	30	4	20	30	4	20	30	4	20	30
التركيز%	65.0	65.0	65.0	65.0	64.9	64.8	65.0	64.9	64.7	65.0	65.0	64.8
الحموضة الكلية*	1.40	1.40	1.40	1.50	1.40	1.40	1.40	1.30	1.35	1.40	1.40	1.40
pH	3.40	3.40	3.40	3.38	3.42	3.41	3.37	3.42	3.37	3.20	3.25	3.31
العدد الكلي للميكروبات	$^{2}\times$105.6	$^{2}\times$103.8	$^{2}\times$104.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

جدول (6) معدل التغير في بعض الخصائص الكيميائية و الميكروبيولوجية لعينات العصير المعقم تركيز 30% المعقم والملقح بفطر *Penicillium notatum*

الاختبار	فترة التخزين (شهر) 0			1			2			3		
	4	20	30	4	20	30	4	20	30	4	20	30
التركيز%	30.0	30.0	30.0	30.0	29.0	29.0	30.0	28.0	27.0	29.6	26.0	27.0
الحموضة الكلية*	0.75	0.75	0.75	0.75	0.85	0.85	0.75	0.95	1.05	0.85	0.95	1.15
pH	3.60	3.60	3.60	3.63	3.56	3.66	3.35	3.82	3.35	3.15	3.25	3.33
العدد الكلي للميكروبات	$\times10^{2}$2.0	2.0×10^{2}	2.8×10^{2}	3.0×10^{3}	8.4×10^{3}	1.0×10^{4}	2.0×10^{3}	5.0×10^{5}	1.8×10^{6}	5.0×10^{5}	3.0×10^{4}	1.5×10^{6}

Microbiological quality of fresh unpasteurized fruit juices. Food Science & Nutrition, 1-8.

[15]- Klee, H. J. (2010). Improving the Flavor of Fresh Fruits: Genomics, Biochemistry, and Biotechnology, Biochemistry, and Biotechnology," New Phytologist, 187(1):44-56.

[16]- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M., Gliszczynska-Swiglo, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. Journal of Food Composition and Analysis, 20, 313– 322.

[17]- Lawlor, K. A., Schuman, J. D., Simpson, P. G. and Taormina, P. J. (2009). Microbiological spoilage of beverages," in *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, W. H. Sperber and M. P. Doyle, Eds., Food Microbiology and Food Safety, 245–284.

[18]- Mihiretie, H. and Desta, K. (2015). Microbiological Criteria and Quality of Fruits and Fruit Juices in Ethiopia and International Experience. Medical Microbiology & Diagnosis , 4:4 .

[19]- Ndife J, Abbo E (2009). Functional foods: prospects and challenges in Nigeria. J. Sci. Technol. 1(5):1-6.

[20]- Ndife, J., Awogbenja, D. and Zakari, U. (2013). Comparative evaluation of the nutritional and sensory quality of different brands of orange-juice in Nigerian market. Journal of Food Science. 7(12):479-484.

[20]- Nicolas, B., Razack, B. A., Yollande, I., Aly, S., Tidiane, O. C. A., Philippe, N. A., DeSouza, C. and Sababénédjo, T. A. (2007). Street-Vended Foods Improvement: Contamination Mechanisms and Application of Food Safety Objective Strategy: Critical Review. Pakistan Journal of Nutrition.6 (1):1-10.

[21]- Nma, O. N. and Ola, A. A. (2013). Microbiological Analysis of some Packaged Fruit Juices sold in Port Hacourt Metropolis, Nigeria. Nature and Science, 11 (4):30-40.

[22]- Obire, O., Ramesh .R. Putheti., Dick, A. A and Okigbo, R. N. (2008). Biotechnology Influence for the Production of ethyl Alcohol (Ethanol) from Waste Fruits. e-Journal of Science & Technology (e-JST), 3:17-32

[23]- Odu, N. N. and Ameweiye. N. B. (2013) . Microbiological Quality Of Street-Vended-Ready-To-Eat "Bole" Fish In Port Harcourt Metropolis. New York Sci. Journal, 6 (2):92-101.

[24]- Okigbo, R. N. and Obire, O. (2009). Mycoflora and production of wine from fruits of soursop (*Annona Muricata* L.) International Journal of Wine Research 1:1–9.

[25]- Oliveira, J. C., Setti-Perdigao, P., Siqueira, K. A. G., Santos, A. C. and Miguel, M. A. L. (2006). Microbiological characteristics of orange juices," Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 26 (2): 241– 245.

[26]- Paterson, R. R. M. and Lima, N. (2010). "How will climate change affect mycotoxins in food?" Food Research International, 43(7): 1902–1914.

[27]- Patil, S., Bourke, P., Frias, J. M., Tiwari, B. K. and Cullen, P. J. (2009). Inactivation of

المراجع

[1]- Al-Hindi, R. R., Al-Najada, A. R. and Mohamed, S. A. (2011) . Isolation and identification of some fruit spoilage fungi: Screening of plant cell wall degrading enzymes. African Journal of Microbiology, 5(4) : 443-448.

[2]- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists , 17ed, Maryland. USA.

[3]- Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., Kumar, V. and Kaur, M.(2014). Microbes Associated with Freshly Prepared Juices of Citrus and Carrots. International Journal of Food Science. Volume 2014 ,Article ID 408085.

[4]- Arias, C. R., Burns, J. K., Friedrich, L. M., Goodrich, M. R. and Parish, M. (2002). Yeast Species Associated with Orange Juice: Evaluation of Different Identification Methods. Applied and Environmental Microbiology, 68:1955-61.

[5]- Codex general standard for fruit juices and nectar (Codex STAN 247-2005).Codex alimentarius Geneva, Switzerland.

[6]- Dorota, K. (2015). Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms . BioMed Research International.

[7]- Durgesh, P. M., Ranjana, G. K. and Varsha K. V. (2008). Microbiological Analysis of Street Vended Fruit Juices from Mumbai City, India. Internet Journal of Food Safety, 10:31-34.

[8]- Elmer, H. M. (1978). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Interdisciplinary books and periodicals for the professional and Layman Food and Agro-Industry ,ISSN 1906-3040.

[9]- Franke, S. I. R.; Pra, D., Erdtmann, B.; Henriques, J. A. P., and Silva, J. Influence of orange juice over the genotoxicity induced alkylating agents: an in vivo analysis. Mutagenesis, 20: 279–283.

[10]- Galaverna, G.; Silvestro, G. D., Cassano, A.; Sforza, S.; Dossena, A.; Drioli, E.; and Marchehelli, R. (2008). A new integrated membrane process for the production of concentrated blood orange juice: Effect of bioactive compounds and antioxidant activity. Food Chemistry, 106 , 1021-1030.

[11]- Ghenghesh, K. S., Belhaj, K., El-Amin, W. B., El-Nefathi, S. E. and Zalmum, A. (2005). Microbiological quality of fruit juices sold in Tripoli–Libya .Food Control ,(16): 855–858.

[12]- Hatcher, W. S., Jr., M. E. Parish, J. L. Weihe, D. F. Splittstoesser, and B. B.Woodward. (2000). Fruit beverages, In F. P. Downes and K. Ito (ed.), Methods for microbial examination of food. American Public Health Association, Washington, D.C. 565–568.

[13]- Jasmine, Y. S. (2012). Comparison of Sugar Content in Bottled 100% Fruit Juice versus Extracted Juice of Fresh Fruit. *Food and Nutrition Sciences*, 3:1509-1513.

[14]- Kaddumukasa Phoebe P. , Imathiu Samuel M., Mathara Julius M., Nakavuma Jesca L. (2017). Influence of physicochemical parameters on storage stability:

and Airborne Fungi, Central bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 339–359.

[32]- Singh D, Sharma R.R. (2007). Postharvest diseases of fruit and vegetables And their management. In: Prasad, D. (Ed.), Sustainable Pest Management. Daya Publishing House, New Delhi, India.

[33]- Sospedra, I., Rubert, J.; Soriano, J. M. and Manes, J. (2012). Incidence of microorganisms from fresh orange juice processed by squeezing machines," Food Control, 23(1): 282–285.

[34]- Tournas, V. H.; Heeres, J. and Burgess, L. (2006). "Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices," *Food Microbiology*, 23(7): 684–688.

[35]- Wardlaw, G.M. (2004). Perspectives in Nutrition. (6th ed.). McGram Hill Companies, New York, U.S.A.

Escherichia coli in orange juice using ozone. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10 : 551–557.

[28]- Pitt, I. J. and Hocking, A. D. (2009). Fungi and Food Spoilage, Springer, New York, NY, USA, 3rd edition.

[29]- Rivas, A., Rodrigo, D., Mart´ınez, A., Barbosa-Canovas, G. V. and Rodrigo, M. (2006) . Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. LWT—Food Science and Technology, 39(10) :1163–1170.

[30]- Samson, R. A.; Houbraken, J.; Thrane, U.; Frisvad J. C, and Andersen, B.(2010). Food and Indoor Fungi. CBS Laboratory Manual Series 2.Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

[31]- Scholte, R.; Samson, R. and Dijskterhuis, J. (2004). "Spoilage fungi in the industrial processing of foods," in Introduction to Food-