JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۹۹-۱۱۲
DOI: 10.22101/JRIFST.2020.195971.1110

مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

بررسی اثر افزودن *سودوموناس پوتیدا* بر کاهش لیمونین در تلخی‌زدایی کنسانتره‌های پرتقال و گریپ‌فروت و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی

یاسمین محمدی[۱]، پیمان رجایی[۲*]، محمدرضا اسحاقی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران
* نویسندهٔ مسئول (rajaei@iauvaramin.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

واژه‌های کلیدی
تلخی
سودوموناس پوتیدا
کنسانترهٔ پرتقال
کنسانترهٔ گریپ‌فروت
لیمونین

چکیده

تلخی آب مرکبات یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش بازارپسندی در تولید آب‌میوه می‌باشد. لیمونین به‌عنوان ترکیب مهم در تلخی آب مرکبات طی زمان نگهداری شناخته شده است. فرایندهای مختلفی ازجمله روش‌های شیمیایی، میکروبی و آنزیمی در کاهش این ترکیبات تلخ به‌کارگرفته شده‌اند. هدف از این تحقیق بررسی اثر باکتری *سودوموناس پوتیدا* بر کاهش میزان لیمونین و همچنین اندازه‌گیری خواص فیزیکوشیمیایی و حسی بود. باکتری *سودوموناس پوتیدا* با دو غلظت 10^2 و 10^4 (واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) به‌عنوان عامل کاهش تلخی در کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت موردبررسی قرار گرفت. همچنین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کنسانتره‌ها در زمان ۱۲۰ ساعت موردسنجش قرار گرفت. آزمون با ۶ نمونه در ۴ زمان مختلف، انجام شد. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. نتایج نشان داد که میزان رشد باکتری و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان لیمونین، مواد جامد محلول، کدورت و pH ($P<0/05$) و افزایش میزان اسیدیته داشته است ($P\leq0/01$). بعد از پاستوریزاسیون، جهت اطمینان از عدم برگشت تلخی، نمونه‌ها به مدت ۴۵ روز در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری‌شده و ویژگی‌های حسی در روز صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ موردارزیابی قرار گرفتند. در بین نمونه‌ها، تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین را در ۱۲۰ ساعت داشت و همچنین ازنظر پذیرش کلی و مزه امتیاز بیشتری نسبت به سایر تیمارها در زمان انبارداری ۴۵ روز داشته است و درنتیجه این دو تیمار به‌عنوان تیمار برتر شناخته شدند.

مقدمه

مصرف میوه و آب‌میوه در رژیم غذایی روزانه به‌دلیل داشتن ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات مغذی باعث کاهش خطر ابتلابه بسیاری از بیماری‌ها ازقبیل سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود. اثرات مفید میوه بر سلامت انسان‌ها به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعدد چون ویتامین C، پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدهاست. میوهٔ مرکبات به‌ویژه سرشار از این ترکیبات زیست فعال مفید برای سلامت بشر است (Maier & Dreyer, 1965). مصرف میوه‌ها و سبزی‌ها به‌عنوان منبع غنی از فیبر، مواد معدنی، ویتامین‌های محلول در آب، به‌ویژه ویتامین‌های C و A و دیگر مواد طبیعی

جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی انسان دارند (Chong, Jin, Chow, & Saint, 2010؛ شجاع، قاسم نژاد مرتضوی، ۱۳۹۰).

آژانس استانداردهای غذایی (FSA[1]) مصرف حداقل ۵ وعده میوه‌وسبزی در روز را یکی از عوامل رژیم غذایی سالم مطرح کرده است. براساس آخرین آمار درمورد سبد غذایی ایرانیان، سرانهٔ مصرف سالیانهٔ میوه‌وسبزی، یک چهارم استاندارد جهانی است. این در حالی است که ایران در تولید ۱۰ محصول اصلی باغی دنیا مقام اول تا دهم را دارد و بیش از ۱ درصد از میوه و مرکبات جهان را تولید می‌کند (وزارت جهاد کشاورزی-معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، ۱۳۹۰). این مسأله متخصصین صنایع غذایی را بر آن داشته است تا با توسعهٔ محصولات جدید حاصل از فراوری میوه‌ها و همچنین بسته‌بندی مناسب و آسان آنها، علاقهٔ مردم را نسبت به رژیم غذایی رایج خود تغییر دهند. انواع آب‌میوه، آب‌میوهٔ تغلیظ‌شده، نکتار میوه، پورهٔ میوه، نوشیدنی میوه‌های گازدار و شربت، فراورده‌های حاصل از میوه‌ها می‌باشند (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۸۶)، که از بین آنها، آب‌میوه‌ها به‌دلیل میزان بالای املاح و ویتامین‌ها ضمن رفع عطش، بخش قابل‌توجهی از نیازهای تغذیه‌ای بدن انسان را تأمین می‌کنند (Liu, Zhang, Zhao, Wang, & Liao, 2016). پرتقال و گریپ‌فروت به‌عنوان پرمصرف‌ترین مرکبات دنیا شناخته شده‌اند و درصد بالایی از کل مرکبات را تشکیل می‌دهند. آب پرتقال و گریپ‌فروت یکی از مهم‌ترین تولیدات مغذی که شامل انرژی، مقدار متوسط ویتامین C، پتاسیم و غیره می‌باشد (Syed, Ghatge, Machewad, & Pawar, 2012). آب پرتقال حاوی مقادیر بالای ویتامین C، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولیک و پکتین‌ها می‌باشند. ویتامین C آنتی‌اکسیدان اولیهٔ محلول در آب می‌باشد که از ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن و همین‌طور از تخریب بافت‌های بدن در درون و خارج سلول جلوگیری می‌کند (Milind & Chaturvedi, 2012). آب‌میوهٔ گریپ فروت به‌عنوان یک مکمل غذایی در درمان کمبود پتاسیم کاربرد دارد. پکتین موجود در آن عامل مؤثری در کاهش کلسترول خون و بهبود تدریجی عارضهٔ سفت و سخت‌شدن عروق خونی است. سایر آثار آن شامل القای تجمع گلبول‌های قرمز، کاهش هماتوکریت[2]ها و اثرات احتمالی ضدسرطان است. برخی فرایندها ممکن است عاملی برای کاهش بازارپسندی آب‌میوهٔ مرکبات شود. اما مهم‌ترین عامل، افزایش میزان تلخی در آب مرکبات بعد از عصاره‌گیری می‌باشد. حتی اگر آب‌میوه و یا عصاره تلخ نباشد. این تلخی توسط ترکیباتی ازقبیل لیمونین، نومیلین[3] و نارنجین در مرکباتی ازجمله پرتقال و گریپ‌فروت ایجاد می‌شود (Maier & Dreyer, 1965). این تلخی ایجادشده توسط لیمونین از ابتدای آب‌میوه‌گیری وجود ندارد اما در اثر زمان و نگهداری آب‌میوه و فرایند دمایی به تدریج گسترش می‌یابد (Maier & Beverly, 1968).

تلخی حاصل از لیمونین در انواع مختلف آب مرکبات یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در صنایع آب‌میوه در دنیا می‌باشد و تأثیر منفی قابل‌توجهی در تولید آب‌میوه دارد. تلخی بیش‌ازحد باعث تأثیر نامطلوب در محصول نهایی شده و درنتیجه کاهش قابل‌توجه بازارپسندی توسط مصرف‌کننده را به‌همراه خواهد داشت. در کنگرهٔ سلامت غذایی در آمریکا در سال ۱۹۶۹، مرکبات منوط به ادامهٔ تحقیق‌ها دربارهٔ این مسأله می‌باشد (Premi, Lal, & Joshi, 1994).

در میوهٔ سالم میزان لیمونین موجود به مقدار ناچیز، حدوداً ۶-۵ پی‌پی‌ام می‌باشد اما حاوی پیش‌لیمونین غیرتلخ، حلقهٔ A لاکتون است. حلقهٔ A لاکتون در داخل سلول سیتوپلاسم در pH خنثی و کمی قلیایی در کیسه‌های غشایی وجود دارد. در اثر برش و یا فشردن میوه، کیسه‌های غشایی پاره‌شده و حلقه‌های A لاکتون در اثر برخورد با ترکیبات اسیدی، دمای محیط، زمان و وجود آنزیم لیمونوئید لاکتون هیدرولاز[4] به لیمونین تبدیل و باعث ایجاد تلخی می‌شود. این فرایند را تلخی تأخیری می‌نامند. همچنین شرایط غیرمعمول ازجمله یخزدگی، آسیب‌دیدگی فیزیکی باعث افزایش pH اسیدی و فعالیت آنزیمی و درنتیجه افزایش میزان لیمونین در بافت میوه می‌شود. این مکانیسم و ایجاد تلخی و تولید لیمونین ۷ ساعت پس از آب‌میوه‌گیری در دمای ۱۲ درجهٔ سانتی‌گراد و یا ۴ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انجام می‌شود (Sharma & Bansal, 2007).

[1] Food Standards Agency (FSA)

[2] Hematocrit
[3] Nomilin
[4] Limonoid Lactone Hydrolase

تلاش‌های زیادی برای کاهش تجمع ترکیبات تلخ در طول رشد و بلوغ مرکبات تا زمان مصرف آنها ازطریق اسپری‌های شیمیایی، روش‌های زراعی و درمان پس‌ازبرداشت میوه انجام شده است. همچنین فرایندهای فیزیکوشیمیایی شامل استفاده از رزین‌ها، سایکلودکسترین[1]ها، سیلیکات منیزیم فعال، استات سلولز می‌باشند. در فرایندهای میکروبی استفاده از میکروارگانیسم‌هایی شامل *آرتروباکتر گلوبیوفرمیس*[2]، *کورینه باکتریوم فسینس*[3]، *پنی‌سیلیوم*[4]، *اسینتوباکتر*[5]، *رودوکوکوس فسینس*[6] و *سودوموناس پوتیدا*[7] موردتحقیق و مطالعه قرارگرفته‌اند. این روش‌های ازبین‌برندهٔ تلخی عمدتاً به دو گروه کلی روش‌های پیش‌برداشت و پس‌ازبرداشت تقسیم می‌شوند (Roy & Saraf, 2006).

باکتری *سودوموناس پوتیدا* جزء باکتری‌های فرصت‌طلب می‌باشد و به‌دلیل شرایط زندگی‌اش قادر به استفاده از طیف وسیعی از منابع کربنی و همچنین شکستن مولکول‌هایی که تنها تعداد کمی از میکروارگانیسم‌ها قادر به شکستن آنها هستند، می‌باشد. *سودوموناس پوتیدا* با تولید دو آنزیم «لیمونین دی‌لاکتون هیدرولاز[8]» و «لیمونین دهیدروژناز[9]» باعث شکستن لیمونین و تبدیل آن به ترکیبات غیرتلخ می‌شود (Taneja, 2007).

در سال ۱۹۸۲ طی مطالعه‌هایی در انستیتو بین‌المللی سلامت آمریکا، باکتری *سودوموناس پوتیدا* را به‌عنوان یک سویه ایمن که قابلیت کپی‌کردن ژن‌های سایر باکتری ساکن در خاک را دارد، معرفی کردند. گونه‌های این باکتری به‌دلیل عدم وجود ژن‌های خاص ازجمله آنزیم‌های هضم غشاء سلولی بدن انسان و گیاهان جزء میکروارگانیسم‌های بی‌خطر شناخته شده است (Altinok, Kayis, & Capkin, 2006).

بسیاری از پژوهش‌ها دربارهٔ تلخی‌زدایی توسط روش‌های مختلف میکروبی و فیزیکوشیمیایی در آب مرکبات انجام شده است.

پاسدار و محمدی (۱۳۹۱)، تولید و تثبیت آنزیم نارنجیناز توسط *آسپرژیلوس نایجر* جهت تلخی‌زدایی آب‌میوهٔ مرکبات را موردبررسی قرار دادند که کاهش میزان نارنجین به میزان ۳۶ درصد مشاهده شد.

Kola، Kaya، Duran و Altan (۲۰۱۰) کاهش میزان تلخی لیمونین توسط بستر تعویض یون و رزین‌های جاذب را بررسی کردند. رزین‌های پلیمر پلی‌استیرن دی‌وینیل بنزن[10] و دوکس[11] به‌طور موفقیت‌آمیزی در کاهش میزان تلخی آب پرتقال مؤثر بوده است.

Patil و Dhake (۲۰۱۴) استفاده از کپک *پنیسیلیوم پورپوروژنوم*[12] جهت تلخی‌زدایی آب مرکبات را موردبررسی قرار دادند که بیشترین میزان کاهش نارنجین به میزان ۷۴ درصد در نمونهٔ آب‌میوه به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر با غلظت ۱/۵ گرم حجمی نارنجیناز و انکوباسیون ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت مشاهده شده است.

Kaur، Sharma، Sahota و Sood (۲۰۱۸) به بررسی تلخی‌زدایی آب‌میوهٔ کینو[13] توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا*[14] پرداختند. بیشترین میزان کاهش لیمونین و نارنجین در آب‌میوهٔ تلقیح‌شده که به مدت ۳۰ روز نگهداری‌شده، به‌ترتیب ۷۳ و ۷۹ درصد گزارش شده است.

باتوجه‌به موارد مطرح‌شده، در این تحقیق به بررسی کاهش میزان لیمونین موجود در کنسانترهٔ گریپ‌فروت و پرتقال توسط باکتری *سودوموناس پوتیدا* و همچنین ارزیابی حسی در زمان انبارداری به جهت برگشت و یا عدم برگشت تلخی به‌منظور تعیین مدت زمان انبارداری و مصرف آب‌میوهٔ تلخی‌زدایی‌شده پرداخته‌شده است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش‌ها

تهیهٔ آب‌میوه و کنسانتره در آزمایشگاه تولید عصارهٔ شرکت آدونیس گل دارو و انجام آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی در آزمایشگاه همکار مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران واقع در کرج انجام شد.

---

[1] Cyclodextrin
[2] *Arthrobacter globiformis*
[3] *Corynebacterium facians*
[4] *Penicillium*
[5] *Acinetobactor*
[6] *Rhodococcus facians*
[7] *Pseudomonas Putida*
[8] Lemonine di lactone hydrolas
[9] Lemonine dehydrogenase

[10] Amberlite XAD-2
[11] Dowex Optipore
[12] *Penicillium Purpurogenum*
[13] Kinnow
[14] *Clausipura Lacania*

مواد اولیه

در تحقیق حاضر مواد اولیه شامل میوهٔ پرتقال و گریپ‌فروت که از بازار میوه در تهران تهیه شد. باکتری *سودوموناس پوتیدا* (شرکت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی، ساخت ایران)، محیط کشت TSB و TSA (مرک آلمان) و همچنین دستگاه‌های مایکروویو (LG، ساخت کره‌جنوبی)، رنگ‌سنج (Konica Minolta، ساخت ژاپن)، رفراکتومتر (Atago، ساخت ژاپن)، اسپکتروفتومتر (ChromTech، ساخت تایوان)، pHمتر (Senseline، ساخت سنگاپور) و انکوباتور (Binder، ساخت آلمان) استفاده شده است.

تولید آب‌میوه و کنسانتره

گریپ‌فروت نوع رابی‌رد[1] و پرتقال نوع والنسیا[2] از میدان تره‌بار مرکزی تهران خریداری شد و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی، عمل شست‌وشو انجام پذیرفت. سپس آب گریپ‌فروت و پرتقال توسط آب‌میوه‌گیری دستی استخراج و جداسازی پالپ توسط صافی استریل با منافذ کوچک‌تر از ۰/۰۲ میلی‌متر انجام شد. جهت تهیهٔ کنسانتره از دستگاه مایکروویو قابل برنامه‌ریزی به‌منظور غلیظ‌کردن آب‌میوهٔ تهیه‌شده استفاده شد. ازآنجایی‌که استفاده از توان‌های بالای ۳۵۰ وات برای حرارت‌دهی در این روش سبب مشکلاتی ازجمله ایجاد کف می‌شود (ذوقی، خسروی‌دارانی، سهراب‌وندی، عطار و علوی، ۱۳۹۸). در این تحقیق از حداکثر توان ۳۵۰ وات استفاده شد. ۵۰۰ میلی‌لیتر نمونه در بشر ریخته و در محفظهٔ داخلی مایکروویو قرار داده شد. نمونه‌ها بعد از هر ۲ دقیقه از داخل محفظهٔ مایکروویو برای اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول خارج‌شده (حدود ۱ دقیقه) و سپس در جای خود قرار می‌گرفت. تا زمانی که درجهٔ بریکس آب پرتقال به ۴۵ و آب گریپ‌فروت به ۴۲ برسد. کنسانتره‌های تولیدی تا زمان انجام آزمایش‌ها، در یخچال در دمای صفر الی ۳ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (Arena, Fallico, & Maccarone, 2001).

آماده‌سازی سویه

باکتری *سودوموناس پوتیدا* (MTCC 1072) از بانک میکروارگانیسم مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران به‌صورت کشت خالص سویه تهیه شد. به‌منظور تهیهٔ مایع تلقیح در محیط (TSB[3]) کشت داده شد و سپس گرماگذاری در شیکر ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ۱۳۰ دو در دقیه قرار داده شد (Vaks & Lifshitz, 1981).

تهیهٔ کدورت نیم مک فارلند

برای تعیین مقدار باکتری تلقیح‌شده از روش مک فارلند استفاده شد. کدورت ایجادشده تقریباً معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر سلول باکتری است. برای سنجش جذب نوری (OD[4]) کدورت از اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش با طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید که میزان جذب در این طول موج باید در محدودهٔ ۰/۱۳ –۰/۸ باشد (عباس‌نیا، تیموری، مرادپور، درخشان و قزوینی، ۱۳۹۵).

رقت‌سازی و تلقیح

بعد از آماده‌سازی غلظت $۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر رقت‌سازی مرحله‌ای تا به‌دست‌آمدن غلظت $۱۰^{۴}$ و $۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر ادامه یافت. پس از این مرحله سویه آمادهٔ تلقیح گردید. از رقت‌های تهیه‌شده به نمونه‌ها، تحت شرایط استریل و زیر هود لامینار انجام شد. در این تحقیق ۶ تیمار موردبررسی قرار گرفت که شامل: T_1 (کنسانترهٔ پرتقال)، T_2 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت)، T_3 (کنسانترهٔ پرتقال با غلظت میکروبی $۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر)، T_4 (کنسانترهٔ پرتقال با غلظت $۱۰^{۴}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر)، T_5 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با غلظت $۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) و T_6 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با غلظت $۱۰^{۴}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) می‌باشد (Vaks & Lifshitz, 1981).

شمارش میکروبی

در هر مرحله جهت اطمینان از رشد باکتری به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر (با سمپلر ۱۰۰) درون ظروف پتری‌دیش حاوی محیط کشت (TSA[5]) یکبارمصرف ریخته و به‌وسیلهٔ میلهٔ Lشکل کشت داده شد. پس از بسته‌شدن پلیت،

[1] Ruby Red
[2] Valencia
[3] Tryptic Soy Broth
[4] Oculus Dexter
[5] Tryptic Soy Agar

گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۷۲ ساعت انجام شد و پس از ۳ روز شمارش کلنی‌ها صورت پذیرفت (Yoon, Kang, Lee, & Oh, 2005).

آزمون اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

در هر مرحله طی ۱۲۰ ساعت آزمون‌های فیزیکوشیمیایی انجام گردید. اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۲۶۸۵ ([ISIRI]، ۱۳۸۶)، اندازه‌گیری اسیدیته به روش تیتراسیون (سهراب‌وندی و همکاران، ۱۳۹۴)، اندازه‌گیری بریکس ([ISIRI]، ۱۳۸۶)، اندازه‌گیری لیمونین (Bicas & Pastore, 2007)، کدورت (Dahdouh *et al.*, 2016) و اندازه‌گیری رنگ (AOAC, 1999) طی ۴ زمان صفر، ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت انجام شد.

پاستوریزاسیون و گرم‌خانه‌گذاری نمونه‌ها

پس از انجام پاستوریزاسیون در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه جهت غیرفعال‌کردن باکتری‌ها، نمونه‌ها در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۵ روز گرم‌خانه‌گذاری می‌گردد. این زمان و دما طبق دستورالعمل واحد Shelf Life شرکت عالیفرد (تولیدکنندهٔ محصولات سن‌ایچ) انجام شد. هدف از انجام این مرحله اطمینان از عدم برگشت تلخی کنسانتره و ارزیابی حسی نمونه‌ها در زمان انبارداری می‌باشد. لذا ویژگی‌های حسی نمونه‌ها در روزهای صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ موردبررسی قرار گرفت.

ارزیابی حسی

جهت بررسی ویژگی‌های رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها از روش هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده گردید که براساس استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۲۶۸۵ ([ISIRI]، ۱۳۸۶) انجام شد. برای تهیهٔ نمونهٔ موردآزمایش جهت ارزیابی حسی، ۲۲/۸ درصد حجمی کنسانتره و ۷۷/۲ درصد آب رقیق‌سازی شد. سپس در فنجان‌های شماره‌گذاری‌شده در اختیار ۱۰ نفر ارزیاب حسی آموزش‌دیده قرار گرفت. شاخص‌های رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای (عدد ۵ بیانگر کمترین امتیاز و عدد ۱ بیانگر بیشترین امتیاز) موردارزیابی قرار گرفت (Dawood, 1995).

روش آماری

آزمایش‌ها به روش فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. به‌منظور ارزیابی داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخهٔ ۹,۱، برای تجزیهٔ واریانس از آزمون F و برای کلاس‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

اسیدیته و pH

تغییرات مقدار pH در تمامی نمونه‌ها در طول مدت دورهٔ نگهداری کاملاً معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری نمونه، کمترین میزان تغییرات pH متعلق به تیمار T_1 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت بدون‌میکروب) و بیشترین میزان تغییرات pH متعلق به تیمار T_5 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با جمعیت میکروبی $۱۰^۲$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) و تیمار T_6 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با جمعیت میکروبی $۱۰^۴$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) بود (جدول ۱). میزان pH نمونه‌ها از زمان تلقیح باکتری به مدت ۱۲۰ ساعت روند کاهشی کمی داشته است. همچنین مطابق با نتایج مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر کاملاً معنی‌داری روی اسیدیتهٔ نوشیدنی داشته است ($P<۰/۰۱$) مقادیر اسیدیته برای هر دو مدل تیمار (کنسانترهٔ بدون میکروب و کنسانتره + غلظت میکروبی تلقیح‌شده) پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری روند افزایشی داشته است ($P<۰/۰۱$). نتایج نشان داد که مدت زمان نگهداری روی اسیدیته تأثیر معنی‌داری داشته است. به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهداری اسیدیتهٔ تیمارها افزایش یافت که علت این امر را می‌توان به علت غلظت اسید ضعیف یونیزه‌شده و نمک‌های آن یا به‌دلیل تشکیل اسید توسط تخریب پلی‌ساکاریدها عنوان کرد.

محمدی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی خواص بیوشیمیایی و میکروبی نوشیدنی مالت پروبیوتیک پرداختند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که گونهٔ پروبیوتیک تلقیح‌شده در نوشیدنی مالت، باعث افزایش اسیدیته و کاهش میزان pH نمونه‌ها در زمان نگهداری شده است.

توتونچی (۱۳۹۲) به بررسی اثر افزودن *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب‌انگور قرمز جهت تولید محصول پروبیوتیک پرداختند که بعد از تلقیح

باکتری به نمونه‌ها میزان اسیدیته بعد از ۲۱ روز نگهداری روند افزایشی و کاهش pH نمونه‌ها مشاهده شده است.

امینی‌نیا، رضوی و عیوض‌زاده (۱۳۹۵) بررسی تولید نوشیدنی فراسودمند بر پایهٔ آب‌کرفس پرداختند. در این تحقیق توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت پرداختند که باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته گردید.

جدول ۱- مقایسهٔ میانگین pH و اسیدیتهٔ کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

	تیمار	زمان (ساعت)			
		۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
ph	T_1	۳/۸۳±۰/۰۰^{dA}	۳/۸۱±۰/۰۱^{dB}	۳/۸۰±۰/۰۰^{dB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{eC}
	T_2	۳/۴۳±۰/۰۰^{bA}	۳/۴۱±۰/۰۰^{bB}	۳/۴۰±۰/۱۷^{bB}	۳/۴۱±۰/۰۰^{cB}
	T_3	۳/۸۲±۰/۰۰^{cA}	۳/۸۰±۰/۰۰^{cdB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{cC}	۳/۷۸±۰/۰۰^{dD}
	T_4	۳/۸۲±۰/۰۰^{cA}	۳/۸۰±۰/۰۰^{cdB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{cC}	۳/۷۸±۰/۰۰^{dD}
	T_5	۳/۴۲±۰/۰۰^{aA}	۳/۴۰±۰/۰۰^{abB}	۳/۳۹±۰/۰۰^{aC}	۳/۳۸±۰/۰۰^{bD}
	T_6	۳/۴۲±۰/۰۰^{aA}	۳/۴۰±۰/۰۰^{aB}	۳/۳۸±۰/۰۰^{aC}	۳/۳۶±۰/۰۰^{aD}
اسیدیته	T_1	۲/۷۱±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۴±۰/۰۰^{aB}	۲/۷۶±۰/۰۰^{aC}	۲/۷۹±۰/۰۰^{aD}
	T_2	۵/۲۱±۰/۰۰^{bcA}	۵/۲۲±۰/۰۰^{dB}	۵/۲۳±۰/۰۰^{dC}	۵/۲۵±۰/۰۰^{dD}
	T_3	۲/۷۲±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۷±۰/۰۰^{bB}	۲/۸۰±۰/۰۰^{bC}	۲/۸۰±۰/۰۰^{bC}
	T_4	۲/۷۱±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۹±۰/۰۰^{cB}	۲/۹۱±۰/۰۰^{cC}	۲/۹۶±۰/۰۰^{cD}
	T_5	۵/۲۱±۰/۰۰^{cA}	۵/۲۴±۰/۰۰^{eB}	۵/۲۶±۰/۰۰^{eC}	۵/۲۸±۰/۰۰^{deD}
	T_6	۵/۲۰±۰/۰۰^{bA}	۵/۲۶±۰/۰۰^{fB}	۵/۲۷±۰/۰۰^{fC}	۵/۳۱±۰/۰۰^{fD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

کدورت

مطابق با نتایج مشخص گردید میزان تلقیح باکتری و زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر شاخص کدورت نمونه‌ها داشته است ($P<۰/۰۱$). پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری، بیشترین میزان کاهش کدورت در تیمارهای T_4 و T_6 بود. همچنین کمترین میزان کاهش کدورت متعلق به تیمارهای T_3 و T_5 بود. درحالی‌که در تیمارهای T_1 و T_2 روند افزایشی داشته است. دلیل این امر را می‌توان ناشی از رسوب ذرات معلق موجود در کنسانتره عنوان کرد (جدول ۲).

Kaur و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تلخی‌گیری آب‌میوهٔ کینو توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا* پرداختند. در این آزمایش از ۳ تیمار مختلف شاهد، آنزیم و تلقیح میکروبی استفاده شد که در نتایج به‌دست‌آمده کاهش کدورت آب‌میوهٔ تلخی‌گیری‌شده پس از ۳۰ روز نگهداری مشاهده شد.

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین میزان کدورت کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۱۶۲۲/۶۷±۲/۵۱^{eA}	۱۶۱۵/۳۳±۱/۵۲^{fB}	۱۶۲۳/۰۰±۱/۰۰^{fC}	۱۶۲۵/۶۷±۱/۱۵^{fD}
T_2	۱۵۸۶/۳۳±۱/۱۵^{cA}	۱۵۷۷/۳۳±۱/۱۵^{dB}	۱۵۷۲/۶۷±۱/۱۵^{eC}	۱۵۷۴/۳۳±۰/۵۷^{eD}
T_3	۱۶۱۶/۶۷±۴/۰۴^{dA}	۱۵۸۱/۳۳±۱/۱۵^{eB}	۱۵۲۱/۳۳±۱/۵۲^{dC}	۱۴۸۱/۰۰±۰/۰۰^{dD}
T_4	۱۶۱۹/۳۳±۴/۵۰^{dA}	۱۵۶۵/۳۳±۰/۵۷^{cB}	۱۵۰۸/۶۷±۱/۱۵^{cC}	۱۴۴۳/۳۳±۱/۵۲^{cD}
T_5	۱۵۲۶/۶۷±۳/۷۸^{bA}	۱۴۶۴/۶۷±۱/۵۲^{bB}	۱۴۲۳/۰۰±۰/۰۰^{bC}	۱۳۷۱/۳۳±۰/۵۷^{bD}
T_6	۱۵۱۹/۰۰±۰/۰۰^{aA}	۱۴۳۴/۳۳±۰/۵۷^{aB}	۱۳۹۸/۶۷±۰/۵۷^{aC}	۱۳۴۱/۳۳±۰/۵۷^{aD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

درصد مواد جامد محلول

مطابق با نتایج جدول (۳) مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر معنی‌داری روی شاخص درصد مواد جامد محلول داشته است ($P<۰/۰۱$). تغییرات مواد جامد محلول کنسانتره از لحظهٔ تلقیح باکتری به مدت ۱۲۰ ساعت نگهداری روند کاهشی داشت. نتایج نشان داده است که نوع تیمار روی مواد جامد محلول کاملاً معنی‌دار بوده ولی افزایش زمان نگهداری بر مواد جامد محلول نمونه‌ها معنی‌دار نبود ($P\leq۰/۰۵$). دلیل این امر را می‌توان ناشی از فعالیت باکتری *سودوموناس پوتیدا* و متابولیت‌های حاصل از فعالیت باکتری و همچنین کاهش میزان محتوی لیمونین در نمونه‌های کنسانتره می‌باشد.

Yahyaei (۲۰۱۵) کاهش میزان قندهای احیاکننده و مواد جامد محلول در نوشیدنی فراسودمند بر پایهٔ مخلوط عصارهٔ مالت و کنسانتره آب‌میوه‌های قرمز طی ۲۸ روز نگهداری را گزارش نمودند.

Zandi، Hashemiravan و Berenjy (۲۰۱۶) اعلام نمودند که مقدار مواد جامد محلول در نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایهٔ مخلوط آب‌سیب، هویج، چغندرقرمز طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد کاهش پیدا کرد.

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین بریکس کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۵۱/۳۲±۰/۰۰^{dA}	۴۷/۹۹±۰/۰۰^{cB}	۵۱/۳۳±۰/۰۰^{fC}	۵۱/۳۳±۰/۰۰^{fD}
T_2	۲/۸۱±۰/۰۰^{bA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰^{bA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰^{cA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰^{cA}
T_3	۵۱/۳۲±۰/۰۰^{cA}	۵۱/۲۹±۰/۰۰^{cB}	۵۱/۲۹±۰/۰۰^{dB}	۵۱/۲۶±۰/۰۰^{dC}
T_4	۵۱/۳۲±۰/۰۰^{cdA}	۵۱/۳۰±۰/۰۰^{dB}	۵۱/۲۸±۰/۰۰^{eC}	۵۱/۲۴±۰/۰۰^{eD}
T_5	۴۲/۸۰±۰/۰۰^{aA}	۴۲/۸۰±۰/۰۰^{bA}	۴۲/۷۸±۰/۰۰^{bB}	۴۲/۷۶±۰/۰۰^{bC}
T_6	۴۲/۸۰±۰/۰۰^{aA}	۴۲/۷۹±۰/۰۰^{aB}	۴۲/۷۷±۰/۰۰^{aC}	۴۲/۷۶±۰/۰۰^{aD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

لیمونین

مطابق با نتایج مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر معنی‌داری ($P\leq۰/۰۱$) روی محتوای لیمونین داشته است. میزان تغییرات لیمونین در تیمارهای فاقد باکتری و تیمارهای حاوی باکتری *سودوموناس پوتیدا* متفاوت می‌باشد. تغییرات میزان لیمونین در تیمارهای T_1 و T_2 روند افزایشی داشته است. اما در نمونه‌های حاوی غلظت میکروبی میزان لیمونین روند کاهشی داشته است. در تیمارهای T_3 و T_5 کمترین کاهش میزان لیمونین و در تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین در ۱۲۰ ساعت را داشته است. دلیل افزایش میزان لیمونین را می‌توان واکنش پیش‌سازهای این ماده و تولید آن توسط آنزیم‌های موجود در کنسانتره عنوان کرد و همچنین دلیل کاهش میزان لیمونین را می‌توان به مصرف این مادهٔ تولیدشده در کنسانتره توسط باکتری *سودوموناس پوتیدا* به‌عنوان منبع کربن و رشد و تکثیر اشاره کرد (جدول ۴).

Puri، Marwaha، Kothari و Kennedy (۱۹۹۶) کاهش میزان لیمونین در میوهٔ کینو توسط باکتری *رودوکوکوس فسینس* را موردبررسی قرار دادند. گرم‌خانه‌گذاری ۵۰ میلی‌لیتر آب‌میوهٔ کینو با ۵ درصد کشت میکروبی در ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و pH، ۴ به‌طور مطلوب باعث کاهش ۶۸ درصد لیمونین گردید.

Hasegawa (۱۹۸۷) به بررسی کاهش میزان لیمونین به روش باکتری تثبیت‌شدهٔ *کورینه باکتریوم* پرداختند که پس از ۱۵ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری، ۷۵ درصد از میزان لیمونین نسبت به روز صفر کاهش پیدا کرده است.

جدول ۴- محتوای لیمونین کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۱۰/۲۳±۰/۰۰^{abA}	۱۱/۹۱±۰/۰۳^{cB}	۱۲/۸۸±۰/۰۲^{cC}	۱۴/۰۹±۰/۰۳^{cD}
T_2	۱۵/۶۳±۰/۰۱^{eA}	۱۶/۱۷±۰/۰۳^{fB}	۱۶/۹۶±۰/۰۲^{fC}	۱۷/۷۷±۰/۰۲^{fD}
T_3	۱۰/۲۲±۰/۰۱^{aA}	۹/۶۶±۰/۰۱^{bB}	۸/۹۸±۰/۰۷^{bC}	۸/۵۳±۰/۰۱^{bD}
T_4	۱۰/۲۳±۰/۰۰^{abA}	۹/۵۰±۰/۰۱^{aB}	۸/۷۵±۰/۰۳^{aC}	۷/۹۶±۰/۰۳^{aD}
T_5	۱۵/۵۴±۰/۰۲^{cbA}	۱۴/۹۴±۰/۰۰^{eB}	۱۴/۵۴±۰/۰۲^{eC}	۱۴/۰۲±۰/۰۵^{eD}
T_6	۱۵/۵۲±۰/۰۲^{cA}	۱۰/۵۴±۰/۰۱^{dB}	۱۴/۳۴±۰/۰۲^{dC}	۱۳/۸۴±۰/۰۲^{dD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

رنگ

براساس نتایج جدول (۵) مقادیر L* طی دورهٔ نگهداری روند کاهشی داشته است. به‌عبارت‌دیگر با افزایش زمان نگهداری شاخص L* به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۱). مطابق با نتایج مقادیر شاخص a* طی دورهٔ نگهداری روند افزایشی داشته است. همچنین شاخص b* مطابق با نتایج ارائه‌شده طی دورهٔ نگهداری روند کاهشی داشته است. کاهش شاخص L* بیانگر تغییر رنگ نمونه‌ها از روشنایی به سمت تیره‌ترشدن و افزایش شاخص a* طی مدت نگهداری بیانگر تغییر رنگ نمونه‌ها به سمت سبزی یا قرمزی می‌باشد و کاهش شاخص b* بیانگر کم‌شدن زردی در سیستم رنگی L*a*b* می‌باشد. به‌عبارت‌دیگر نمونه‌ها از رنگ زرد روشن به سمت تیره‌شدن طی دورهٔ نگهداری متمایل شده‌اند. باتوجه‌به اینکه کاروتنوئیدهای آب‌میوه‌ها به شکل ترانس بوده و شدت رنگ بالاتری دارند، ممکن است در شرایط اسیدی پایین و یا قلیایی بالا و همچنین زمان نگهداری زنجیرهٔ پلی‌ان‌کاروتنوئیدها ناپایدار شود بنابراین دلیل تغییرات در شاخص‌های ذکرشده می‌تواند فرایند ایزومراسیون (ایجادشده با دما، نور و اسید) و یا اکسیداسیون (ناشی از نور، دما، فلزات و آنزیم‌ها) مولکول‌های کاروتنوئید آب پرتقال و درنتیجه تغییر در رنگ نمونه باشد. همچنین ممکن است فعالیت باکتری *سودوموناس پوتیدا* در آب پرتقال منجربه تبدیل‌شدن ایزومرهای ترانس به سیس شده و باعث تغییر در پارامترهای L، a و b رنگ شود.

شیخ‌قاسمی و زمردی (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای تأثیر کپسوله‌کردن بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در آب سیب طی ۶۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بررسی کردند. نتایج نشان داد رنگ نمونه‌ها طی دورهٔ نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و دلیل آن ایزومراسیون مولکول‌های کاروتنوئید و فعالیت باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب سیب و درنتیجه تغییر در رنگ نمونه‌ها بود.

Pereira، Maciel وRodrigues (۲۰۱۱) طی مطالعه‌ای نوشیدنی پروبیوتیک تخمیرشده از آب سیب را با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* طی مدت نگهداری ۴۲ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد موردبررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد شاخص‌های رنگی L* و b* کاهش و شاخص a* افزایش یافته است.

جدول ۵- مقایسهٔ میانگین رنگ کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

	تیمار	زمان (ساعت)			
		۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
*L**	T_1	۳۹/۴۳±۰/۰۲^{abA}	۳۹/۴۳±۰/۰۲^{cA}	۳۹/۱۲±۰/۰۱^{cB}	۳۸/۸۹±۰/۰۱^{cC}
	T_2	۴۳/۱۸±۰/۰۲^{eA}	۴۳/۰۲±۰/۰۲^{fB}	۴۲/۹۳±۰/۰۲^{fC}	۴۲/۸۵±۰/۰۱^{fD}
	T_3	۳۹/۴۲±۰/۰۲^{aA}	۳۸/۸۶±۰/۰۱^{aB}	۳۸/۴۰±۰/۰۰^{aC}	۳۷/۹۹±۰/۰۱^{aD}
	T_4	۳۹/۴۳±۰/۰۱^{abA}	۳۷/۹۷±۰/۰۲^{bB}	۳۸/۶۲±۰/۰۰^{bC}	۳۸/۴۲±۰/۰۱^{bD}
	T_5	۴۳/۰۸±۰/۰۴^{cA}	۴۲/۹۲±۰/۰۳^{eB}	۴۲/۳۵±۰/۰۳^{dC}	۴۲/۰۴±۰/۰۵^{dD}
	T_6	۴۳/۰۹±۰/۰۳^{cdA}	۴۲/۸۶±۰/۰۱^{dB}	۴۲/۴۵±۰/۰۳^{eC}	۴۲/۱۸±۰/۰۲^{eD}
a*	T_1	۱۸/۷۴±۰/۰۱^{aA}	۱۸/۸۶±۰/۰۱^{aB}	۱۸/۹۱±۰/۰۱^{aC}	۱۹/۰۴±۰/۰۱^{aD}
	T_2	۲۲/۵۷±۰/۰۲^{fA}	۲۲/۸۰±۰/۰۱^{eB}	۲۲/۹۹±۰/۰۲^{eC}	۲۳/۰۴±۰/۰۱^{eD}
	T_3	۱۸/۸۵±۰/۰۱^{cA}	۱۸/۹۴±۰/۰۱^{cB}	۱۹/۱۳±۰/۰۱^{cC}	۱۹/۲۸±۰/۰۱^{cD}
	T_4	۱۸/۷۸±۰/۰۲^{bA}	۱۸/۹۰±۰/۰۰^{bB}	۱۹/۰۲±۰/۰۰^{bC}	۱۹/۱۳±۰/۰۱^{bD}
	T_5	۲۲/۵۳±۰/۰۴^{eA}	۲۲/۸۲±۰/۰۳^{fB}	۲۳/۰۳±۰/۰۲^{fC}	۲۳/۳۱±۰/۰۳^{fD}
	T_6	۲۱/۵۴±۰/۰۵^{dA}	۲۱/۷۲±۰/۰۱^{dB}	۲۱/۹۴±۰/۰۱^{dC}	۲۱/۹۴±۰/۰۱^{dC}
b*	T_1	۷۷/۷۸±۰/۰۰^{eA}	۷۷/۱۳±۰/۰۳^{fA}	۷۶/۹۹±۰/۰۱^{eA}	۷۶/۸۱±۰/۰۲^{eA}
	T_2	۶۹/۳۰±۰/۰۴^{bA}	۶۹/۲۹±۰/۰۱^{aA}	۶۸/۸۲±۰/۰۱^{bA}	۶۸/۷۵±۰/۰۲^{bA}
	T_3	۷۷/۴۶±۰/۰۴^{cA}	۷۷/۰۲±۰/۰۳^{eA}	۷۶/۶۲±۰/۰۲^{dA}	۷۶/۴۹±۰/۱۳^{dA}
	T_4	۷۷/۴۸±۰/۱۱^{cdA}	۷۶/۸۰±۰/۰۲^{dA}	۷۶/۵۰±۰/۰۲^{cA}	۷۶/۲۶±۰/۰۳^{cA}
	T_5	۶۹/۲۶±۰/۰۲^{aA}	۶۹/۰۱±۰/۰۳^{bA}	۶۸/۸۰±۰/۰۳^{aA}	۶۸/۵۳±۰/۰۲^{aA}
	T_6	۶۹/۳۰±۰/۰۲^{bA}	۶۹/۰۸±۰/۰۳^{cA}	۶۸/۹۴±۰/۰۱^{cA}	۶۸/۷۳±۰/۰۳^{bA}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

رشد باکتری

مطابق نتایج جدول (۶) اثر زمان بر تیمارها معنی‌دار بود. در تیمارهای حاوی غلظت میکروبی، میزان رشد باکتری با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). همچنین در بین تیمارها بیشترین تعداد رشد میکروبی متعلق به تیمارهای T_3 و T_5 و کمترین میزان رشد میکروبی متعلق به تیمارهای T_4 و T_6 بود. به‌طورکلی نتایج نشان داده است که افزایش زمان نگهداری باعث افزایش رشد باکتری شده است. دلیل این امر را می‌توان مصرف لیمونین و قند توسط باکتری و درنتیجه رشد و تکثیر باکتری *سودوموناس پوتیدا* عنوان کرد.

Brewster، Hasegawa و Maier (۱۹۷۶) از باکتری *آرتروباکتر*[1] جهت کاهش میزان لیمونین در آب پرتقال استفاده کرده‌اند. در این آزمایش با افزودن باکتری به ۲۰۰ میلی‌لیتر نمونهٔ آب‌میوه و پس از انجام آزمون‌های شیمیایی و تخمین میزان لیمونین، مقدار این ماده در نمونه از ۲۱ پی‌پی‌ام به ۳ پی‌پی‌ام کاهش پیدا کرده است که طی فرایند بیولوژیکی میزان رشد سلول در اثر هم‌زمان کاهش میزان لیمونین مشاهده شد.

Kaur و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تغییرات میزان لیمونین و نارنجین در آب پرتقال توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا* پرداختند. در این مطالعه جمعیت 10^4 واحد تشکیل کلی در میلی‌لیتر که تلقیح مخمر به آب‌میوه بعد از ۳۰ روز نگهداری باعث کاهش میزان نارنجین، لیمونین و افزایش رشد میزان مخمر شد.

[1] *Arthrobacter*

جدول ۶- مقایسهٔ میانگین شمارش *سودوموناس پوتیدا* در کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
T_2	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
T_3	۰/۰۶±۰/۰۰^{bA}	۰/۳۰±۰/۰۰^{bB}	۰/۷۲±۰/۰۰^{bC}	۱/۱۲±۰/۰۰^{bD}
T_4	۰/۰۶±۰/۰۰^{cA}	۰/۳۷±۰/۰۲^{dB}	۰/۸۸±۰/۰۱^{cC}	۱/۱۵±۰/۰۱^{aD}
T_5	۰/۰۶±۰/۰۰^{bA}	۱/۳۷±۰/۰۱^{eB}	۱/۹۷±۰/۰۰^{eC}	۱/۹۸±۰/۰۱^{eC}
T_6	۰/۰۷±۰/۰۱^{dA}	۰/۳۵±۰/۰۱^{cB}	۰/۹۰±۰/۰۲^{dC}	۱/۱۸±۰/۰۱^{dD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

ارزیابی حسی

باتوجه‌به نتایج یادشده غلظت میکروبی و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر رنگ و طعم و مزهٔ کنسانتره داشته است ($P<۰/۰۵$). اما در پارمتر بو تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است. با گذشت زمان امتیاز رنگ به‌طورکلی افزایش پیدا کرده است. همچنین امتیاز مزه در تیمارهای دارای غلظت میکروبی از روز ۳۰ روند افزایشی داشته است. مطابق با نتایج مربوط به پذیرش کلی در جدول (۷)، اثر تیمار بر پذیرش کلی تا روز ۳۰ روند افزایش کمی و سپس تا روز ۴۵ روند افزایشی بیشتری داشته است. دلیل این امر را می‌توان افزایش اسیدیتهٔ کنسانتره و همچنین کاهش و ازبین‌رفتن غلظت باکتری *سودوموناس پوتیدا* در کنسانتره تا روز ۳۰ و درنتیجه تولید ترکیبات تلخ و افزایش مجدد تلخی کنسانتره عنوان کرد.

جدول ۷- ارزیابی حسی کنسانتره‌ها در طی ۴۵ روز ذخیره‌سازی

تیمار	زمان (روز)			
	۰	۱۵	۳۰	۴۵
T_1	۱/۷۰±۰/۰۴۸^{aA}	۳/۲۰±۰/۷۸^{abcdAB}	۴/۳۰±۰/۴۸^{dA}	۴/۷۰±۰/۴۸^{deA}
T_2	۲/۷۰±۰/۴۸^{cB}	۳/۱۰±۰/۵۶^{abcC}	۴/۳۰±۰/۴۸^{dA}	۴/۳۰±۰/۴۸^{abcA}
T_3	۲/۱۰±۰/۳۱^{abA}	۲/۷۰±۰/۴۸^{aA}	۳/۳۰±۰/۴۸^{aba}	۴/۱۰±۰/۳۱^{abA}
T_4	۲/۰۰±۰/۴۷^{abAB}	۲/۸۰±۰/۴۲^{abA}	۳/۵۰±۰/۵۲^{abcdA}	۴/۱۰±۰/۵۶^{abA}
T_5	۲/۲۰±۰/۴۲^{bA}	۳/۲۰±۰/۶۳^{abcdB}	۳/۲۰±۰/۴۲^{aA}	۴/۵۰±۰/۵۲^{abcdA}
T_6	۲/۱۰±۰/۵۶^{abAB}	۲/۸۰±۰/۴۲^{abA}	۳/۴۰±۰/۵۱^{abcA}	۴/۰۰±۰/۰۰^{aA}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

نتیجه‌گیری

غلظت باکتری و زمان نگهداری اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار pH، اسیدیته و درصد مواد جامد محلول کنسانتره داشته است ($P<۰/۰۱$). با افزایش زمان نگهداری pH، مواد جامد محلول و کدورت نوشیدنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته ($P\leq۰/۰۱$) و اسیدیتهٔ نوشیدنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۱$). با افزایش زمان نگهداری میزان لیمونین در تیمارهای فاقد غلظت میکروبی (شاهد) افزایش پیدا کرده است. اما در تیمارهای حاوی غلظت میکروبی میزان لیمونین به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است ($P<۰/۰۵$) و در مقابل رشد باکتری *سودوموناس پوتیدا* با مصرف لیمونین افزایش پیدا کرده است. زمان در نگهداری و انبارداری نمونه‌ها اثر کاملاً معنی‌داری بر رنگ و مزهٔ تیمارها داشته است ($P\leq۰/۰۵$). پذیرش کلی در تیمارهای تلخی‌زدایی‌شده، تا روز ۳۰ نگهداری مناسب بوده اما از روز ۳۰ تا روز ۴۵ باتوجه‌به امتیازبندی نمونه‌ها روند افزایشی بر امتیاز مزهٔ این تیمار داشته است. همچنین رنگ نوشیدنی به‌دلیل تغییرات حاصل از کاروتنوئیدها روند کاهشی داشته و به رنگ تیره متمایل شده است. در بین نمونه‌ها، تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین را در ۱۲۰ ساعت داشته است و همچنین ازنظر پذیرش کلی و مزه امتیاز بیشتری نسبت به سایر تیمارها در زمان انبارداری ۴۵روزه داشته است و درنتیجه این دو تیمار به‌عنوان تیمار برتر شناخته شدند.

منابع

امینی‌نیا، ه.، رضوی، س. و عیوض‌زاده، ا. (۱۳۹۵). تولید نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتری های اسید لاکتیک. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۳(۵۱)، ۱۰۳-۱۱۱.

پاسدار، ن. و محمدی، م. (۱۳۹۱، شهریور). تولید و تثبیت آنزیم نارنجیناز با *آسپرژیلوس نایجر* جهت تلخی زدایی آبمیوه مرکبات. ارائه‌شده در سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی) https://www.civilica.com/Paper-AGRIBIOTECH03-AGRIBIOTECH03_112.html

توتونچی، پ. (۱۳۹۲). ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* ۴۳۱. (پایان‌نامه کارشناسی ارشد منتشرنشده)، دانشگاه تبریز.

ذوقی، آ.، خسروی‌دارانی، ک.، سهراب‌وندی، س.، عطار، ح. و علوی، س. (۱۳۹۸). تأثیر پروبیوتیک ها بر کاهش میزان پاتولین موجود در آب سیب سین بیوتیک. *علوم غذایی و تغذیه*، ۱۶(تابستان ۹۸)، ۵-۱۶.

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). آب‌میوه‌ها-روش‌های آزمون. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۲۶۸۵، تجدیدنظر اول). برگفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?ld=46001

سهراب‌وندی، س.، مرتضویان، س.، جهانی، ح.، ایوانی، م.، نعمت‌الهی، آ. و کمیلی‌فنود، ر. (۱۳۹۴). بررسی اثر برخی پری‌بیوتیک‌ها بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب پرتقال رژیمی. *فصلنامه علمی پژوهشی زیست پزشکی جرجانی*، ۳(۱)، ۱۶-۳۱.

شجاع، آ.، قاسم نژاد، م. و مرتضوی، س. ا. (۱۳۹۰). تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی و کیفیت پس از برداشت میوه پرتقال های تامسون ناول و خونی در طی انبارداری. *علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۲۵(۲)، ۱۴۷-۱۵۵.

شیخ‌قاسمی، ش. و زمردی، ش. (۱۳۹۲). تاثیر کپسوله کردن بر زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط. *مجله علوم غذایی و تغذیه*، ۱۱(۳)، ۸۱-۹۰.

عباس‌نیا، ش.، تیموری، ف.، مرادپور، م.، درخشان، م. و قزوینی، ک. (۱۳۹۵). ارزیابی تاثیر ضدباکتریایی ژل بهداشت دست در غلظت‌های مختلف باکتری. *مجله دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم پزشکی مشهد*، ۵۹(۶)، ۳۱۲-۳۲۱.

محمدی، ر.، ذبیح‌زاده، م.، دلشادیان، ز.، سرلک، ز.، مرتضویان، س. و حسینی، م. (۱۳۹۵). بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک سویه‌های مختلف پروبیوتیک در نوشیدنی مالت طی دوره نگهداری یخچالی. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، ۱۱(۳)، ۵۳-۶۲.

وزارت‌جهادکشاورزی-معاونت‌برنامه‌ریزی‌واقتصادی. (۱۳۹۰). آمارنامه کشاورزی- محصولات باغی، جلد سوم. تجدیدنظر اول. برگفته از https://www.maj.ir/Index.aspx?page_=form&lang=1&PageID=11583&tempname=amar&sub=65&methodName=ShowModuleContent

Abbasnia, S., Teymouri, F., Moradpour, M., Derakhshan, M., & Ghazvini, K. (2017). Evaluation Of Antibacterial Effect Of Hand Hygiene Gel On Different Concentrations Of Bacteria. *Medical Journal Of Mashhad University Of Medical Sciences, 59*(6), 312-321. (in Persian)

Altinok, I., Kayis, S., & Capkin, E. (2006). Pseudomonas putida infection in rainbow trout. *Aquaculture, 261*(3), 850-855. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.009

Amini niya, H., & Razavi, S. H. (2016). Producing celery juice as functional drink by lactic acid bacteria. *Food Science and Technology, 13*(51), 103-111 .(in Persian)

AOAC. (1999). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, . *AOAC International, Gaithersburg*.

Arena, E., Fallico, B., & Maccarone, E. (2001). Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chemistry, 74*(4), 423-427. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00125-X

Bicas, J. L., & Pastore, G. M. (2007). Isolation and screening of d-limonene-resistant microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology, 38*(3), 563-567 .

Brewster, L. C., Hasegawa, S., & Maier, V. P. (1976). Bitterness prevention in citrus juices. Comparative activities and stabilities of the limonoate dehydrogenases from Pseudomonas and Arthrobacter. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 24*(1), 21-24. doi:https://doi.org/10.1021/jf60203a041

Chong, M. N., Jin, B., Chow, C. W. K., & Saint, C. (2010). Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review. *Water Research, 44*(10), 2997-3027. doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.039

Dahdouh, L., Wisniewski, C., Ricci, J., Vachoud, L., Dornier, M., & Delalonde, M. (2016). Rheological study of orange juices for a better knowledge of their suspended solids interactions at low and high concentration. *Journal of Food Engineering, 174*, 15-20. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.11.008

Dawood, A. A. (1995). Physical and sensory characteristics of Najdi-camel meat. *Meat Science, 39*(1), 59-69. doi:https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)80007-7

Hasegawa, S. (1987). Limonoid debittering of citrus juices using immobilized bacterial cell systems. *Food Biotechnology, 1*(2), 249-261. doi:https://doi.org/10.1080/08905438709549668

Iranian Nationa Standardization Organization. (2007). Fruit juices-Test methods. (ISIRI Standard No. 2685, 1st. Revision). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?ld=46001 (in Persian)

Kaur, M., Sahota, P., Sharma, N., Kaur, K., & Sood, B. (2018). Enzymatic production of debittered kinnow juice and beverage. *Int J Curr Microbiol App Sci, 7*, 1180-1186 .

Kola, O., Kaya, C., Duran, H., & Altan, A. (2010). Removal of limonin bitterness by treatment of ion exchange and adsorbent resins. *Food Science and Biotechnology, 19*(2), 411-416. doi:https://doi.org/10.1007/s10068-010-0058-2

Liu, F., Zhang, X., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2016). Potential of high-pressure processing and high-temperature/short-time thermal processing on microbial, physicochemical and sensory assurance of clear cucumber juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 34*, 51-58. doi:https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.030

Maier, V. P., & Beverly, G. D. (1968). Limonin Monolactone, the Nonbitter Precursor Responsible for Delayed Bitterness in Certain Citrus Juices. *Journal of Food Science, 33*(5), 488-492. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb03661.x

Maier, V. P., & Dreyer, D. L. (1965). Citrus Bitter Principles IV. Occurrence of Limonin in Grapefruit Juice. *Journal of Food Science, 30*(5), 874-875. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1965.tb01857.x

Milind, P., & Chaturvedi, D. (2012). Anti-alzheimer potential of orange juice. *International Research Journal of Pharmacy, 3*(9), 312-316 .

Ministry of Agriculture-Jahad: Planning & Economic Affairs. (2011). Economic statistics-garden products, Volume 3. Retrieved from https://www.maj.ir/Index.aspx?page_=form&lang=1&PageID=11583&tempname=amar&sub=65&methodName=ShowModuleContent (in Persian)

Mohammadi, R., Zabihzadeh, M., Delshadian, Z., Sarlak, Z., Mortazavian, A., & Hosseini, M. (2016). Study on the Biochemical and Microbiological Characteristics of Several Probiotic Strains in Non-Alcoholic Beer during Storage Period. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 11(3),*53-62 . (in Persian)

Pasdar, N., & Mohammadi, M. (2012, September). *Production and stabilization of nanjinase enzymes with Aspergillus niger for the de-bittering of citrus juices*. Paper presented at the 3rd National Conference on Iranian Agricultural Biotechnology (Plant, Animal and Industrial), Mashhad, September 3rd. https://www.civilica.com/Paper-AGRIBIOTECH03-AGRIBIOTECH03_112.html (in Persian)

Patil, M. B., & Dhake, A. B. (2014). Debittering of citrus fruit juice by naringinase of Penicillium purpurogenum. *International Journal Engineering. Research Science & Technology, 3*(2), 266-270 .

Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with Lactobacillus casei. *Food Research International, 44*(5), 1276-1283. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.035

Premi, B., Lal, B., & Joshi, V. (1994). Distribution pattern of bittering principles in Kinnow fruit. *Assn Food Scient Techn India Central Food Technol Res Inst, Mysore 570013, India, 31*(2), 140-141 .

Puri ,M., Marwaha, S. S., Kothari, R. M., & Kennedy, J. F. (1996). Biochemical Basis of Bitterness in Citrus Fruit Juices and Biotech Approaches for Debittering. *Critical Reviews in Biotechnology, 16*(2), 145-155. doi:https://doi.org/10.3109/07388559609147419

Roy, A., & Saraf ,S. (2006). Limonoids: Overview of Significant Bioactive Triterpenes Distributed in Plants Kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29*(2), 191-201. doi:https://doi.org/10.1248/bpb.29.191

Sharma, R., & Bansal, G. G. (2007). *Studies on Limonin Biotransformat Ion by Pseudomonas Putida*. (Master thesis), Department Of Biotechnology And Enviromental Sciences. Retrieved from http://hdl.handle.net/123456789/283

Sheikh Ghasemi, S., & Zomorodi, S. (2014). The Effect of Microencapsulation on Survival of lactobacillus acidophilus and on the Quality Characteristics of Apple Juice During Storage at Ambient Temperature. *Journal of Food Technology & Nutrition, 11*(3), 81-90 . (in Persian)

Shojah, A., Ghasemnezhad, M., & Mortazavi, S. N. (2011). The changes of antioxidant caoacity and pot harvest quality thomson navel and blood orange fruits during storage. *Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology), 25*(2), 147-155 . (in Persian)

Sohrabvandi, S., Mortazavian, S. A. M., Jahani, H., Eivani, M. J., Nematollahhi, A., & Komeili, R. (2015). Study the Effect of Some Prebiotics on Physicochemical and Sensory Properties of Dietary Orange Juice. *Jorjani Biomedicine Journal, 3*(1), 16-31 . (in Persian)

Syed, H., Ghatge, P., Machewad, G., & Pawar, S. (2012). Studies on preparation of squash from sweet orange. *Open Access Scientific Reports, 1*(6), 185-187 .

Taneja, D. (2007). *Biochemical studies on limonin biotransformation by Pseudomonas putida.* (Master of Science), Citeseer. Retrieved from https://citeseerx.ist.psu.edu

Totonchi ,P. (2013). *Probiotic organic red grape juice produced by Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Caesi.* (Unpublished Master's thesis), Tabriz University. (in Persian)

Vaks, B., & Lifshitz, A. (1981). Debittering of orange juice by bacteria which degrade limonin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29*(6), 1258-1261. doi:https://doi.org/10.1021/jf00108a039

Yahyaei, S. Z. (2015). Production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. *Advances in Environment Biology, 9*(2), 762-769 .

Yoon, J.-H., Kang, S.-J., Lee, C.-H., & Oh, T.-K. (2005). Marinicola seohaensis gen. nov., sp. nov., isolated from sea water of the Yellow Sea, Korea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology, 55*(2), 859-863 .

Zandi, M. M., Hashemiravan, M., & Berenjy, S. (2016). Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juices. *Journal of Paramedical Sciences, 7*(3), 17-23 .

Zoghi, A., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S., Attar, H., & Alavi, S. A. (2019). Effect of Probiotics on Patulin Content Reduction of Synbiotic Apple Juice. *Journal of Food Technology and Nutrition, 16*(3), 5-16. (in Persian)

The Effect of *Pseudomonas putida* on the Reduction of Limonin in the De-bittering of Orange and Grapefruit Concentrates and Assessment of Physicochemical and Organoleptic Features

Yasamin Mohammadi[1], Payman Rajaei[2*], Mohammadreza Eshaghi[2]

1- MSc. Student, Department Food Science and Technology, Islamic Azad University of Varamin-Pishva, Varamin, Iran
2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology. Islamic Azad University of Varamin-Pishva, Varamin, Iran
* Corresponding author (rajaei@iauvaramin.ac.ir)

Abstract

The bitterness of citrus juice is one of the most important factors in the reduction of marketability in juice industry. Limonin and Narengin are known as two important compounds in bitter citrus juice during storage. Therefore, various processes, including chemical, microbial and enzymatic methods, have been used to reduce these bitter compounds. The purpose of this study was to investigate the effect of adding *Pseudomonas putida* bacteria on the reduction of the level of limonin and also the measurement of physicochemical and organoleptic properties. *Pseudomonas putida* bacteria with two concentrations of 10^2 and 10^4 cfu/mL as a causative agent of orange and grapefruit concentrate were studied. Also, the physicochemical properties of concentrates were measured at 120 h (growth time and bacterial activity). The results showed that the growth rate of bacteria had a significant effect on the reduction of lemonin, pH and turbidity levels (P<0.05). Also, it has a significant effect on increasing the acidity of the treatments (P<0.01). After pasteurization and inactivation of *Pseudomonas putida* bacteria, to ensure that bitterness is not rejected the specimens were incubated at 40 °C for 45 days and sensory characteristics were measured on days 0, 15, 30 and 45. Among the samples, T_4 (orange concentrate + 10^4 cfu/mL) and T_6 (grapefruit concentrate + 10^4 cfu/mL) treated with the lowest microbial growth rate in 120 h and also, in terms of general acceptance and taste, it has more points than other samples during 45 days of storage were identified as superior samples.

Keywords: Bitter, Grapefruit concentrate, Limonin, Orange concentrate, *Pseudomonas putida*