

Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olanak Limonin

Dr. Ali ALTAN

Ç.Ü.Z.F. Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü — ADANA

1. GİRİŞ

Flavonoid yapısındaki acılık etmenlerinin yanısıra turunçgillerde bulunan diğer bir acılık etmeni de Limonindir. Limonin turunçgil meyvelerindeki triterpenoid metabolizmasının ara ürünlerinden olan bir limonoiddir. Yapılan araştırmalar bu maddenin limon ve altıntoplarla Washington Navel, Valencia ve yafa portakallarının kabuklarında, çekirdeklerinde ve bu meyvelerden elde edilen meyve sularında değişik miktarlarda bulunduğunu göstermiştir (1).

Portakallardaki tek acılık ögesi olarak bilinen limonin en çok navel portakallarında bulunmakta ve bu meyvelerin meyve suyuna işlenmesinde çok önemli bir sorun oluşturmaktadır. Yeni sıkılan Washington navel portakalı suyunda hiçbir acılık olmamasına karşın birkaç saatlik beklemeden sonra meyve suyunda kuvvetli bir acılık belirlemekte ve bazen meyve suyu kullanılamıyacak kadar acılaşmaktadır. Ürünün ısıtılması acılığı arttırmaktadır. Limoninden ileri gelen bu acılık yeni olgunlaşan portakalların suyunda çok kuvvetli, fazla olgun portakalların suyunda ise daha az olmaktadır.

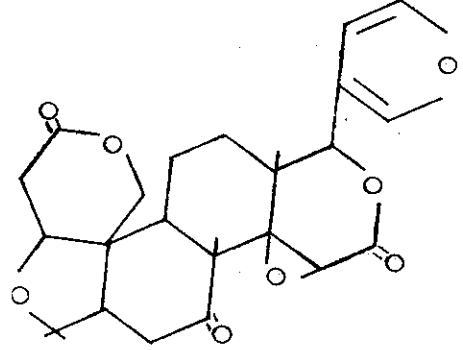
Limon suyunun tadında çoğunlukla hafif bir acılık olmasının nedeni de yine limonindir. Ticarete sunulan sulandırılmış limon suyu konsantrelerinin limonin içerikleri 4.2 ile 14.2 mg/l arasında değişmektedir (2).

2. LİMONİNİN KİMYASAL YAPISI VE ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ

Bir triterpenoid oksidasyon ürünü olarak bilinen limoninin yapısı (Şekil 1) bir furan halkası, bir keton grubu, bir epoksit grubu ve iki lakton halkasından oluşmaktadır (1).

Portakal suyunda 4 - 6 mg/l düzeyinde bulunduğu algılanabilen bir acılık oluşturan limonin 12 - 15 mg/l den itibaren üründe hoş gitmeyen kuvvetli bir acılığa neden olur (3; 4).

Limonin pratik olarak suda çözünmez. Fakat alkali ya da aseton, alkol gibi organik çö-



Şekil 1. Limonin

genlerden hazırlanan limonin çözeltisinin asitlendirilmiş suya katılması suretiyle acı, sulu çözeltisi elde edilebilir (5).

Limonin kristalleri sitrat çözeltisi ile asitlendirilerek pH'sı 3.2 ye ayarlanan suda geri soğutucu altında 3 saat kaynatıldığında 50 mg/l düzeyinde çözünmektedir. Fakat çözelti soğuyunca limoninin çözünürlüğü azalmakta ve hemen konsantrasyonu 16 mg/l ye düşmekte, 8 günlük bir sürenin sonunda ise limonin konsantrasyonu 6 mg/l düzeyine inmektedir. Asitlendirilmiş suya şeker ve pektin katılması halinde limoninin çözünürlüğü yaklaşık 4 kat artmakta ve uzun süre yüksek konsantrasyonda kalabilmektedir. pH'sı 3.2 ye ayarlanmış % 0.1 pektin ve % 3 - 15 şeker içeren sulu çözeltilerde 6 aylık bir bekleme süresinin sonunda bile limonin konsantrasyonunun 25 - 40 mg/l düzeyinde kaldığı saptanmıştır (5).

3. TURUNÇGİL SULARINDA LİMONİN ACILIĞININ OLUŞUMU

Turunçgil ürünlerinde, özellikle Limon ve Washington navel portakal sularında, beklemeyele oluşan bu acılaşma olayına ilişkin olarak iki farklı görüş ileri sürülmüştür (6).

Birinci görüşe göre bu durum acı ögenin çözünürlüğüne bağlı fiziksel bir olay olarak kabul edilmektedir. Buna göre acılığa neden olan görece çözünmez bileşiğin belirlenebilecek dü-

zeyde acı bir tad vermeye yeterli miktarının meyve suyuna geçebilmesi uzun bir zaman gereksinim gösterir. Limonin az çözünür olduğundan ürünün ısıtılması ya da uzun süre bekletilmesi ile bunun üründeki konsantrasyonu artar ve acı tad oluşur.

İkinci görüşe göre ise acılık, meyvede bulunan acı olmayan öncül maddenin meyvenin sıkılmasıyla acı bir bileşiğe dönüşmesi biçimindeki kimyasal bir değişim sonucunda oluşmaktadır. Bu tepkimede ortamın pH'sı önemli bir etkiye sahiptir. Bütün haldeki meyvelerde bulunan öncül madde asit karakterli meyve suyundan ayrı durumdadır. Bu nedenle meyvede tepkime gerçekleşmez. Fakat meyve sıkıldığı zaman öncül madde meyve suyu ile temas eder ve tepkime gerçekleşerek acı bileşik oluşur.

Yapılan araştırmalar sonucu turunçgil meyvelerinden limonoik asit monolakton izole edilmiş ve bunun pH 3.0'te hızla, pH 5.6 da ise yavaş olarak limonin (limonin dilakton)'e dönüştüğü (Şekil 2) belirlenmiştir (6).

Cihandler ve Nicol (4) turunçgil meyvelerinde limonoik asitle birlikte limoninin de meydana geldiğini ileri sürmekte ve bu bileşiklerin bütün haldeki meyve keseciklerinde önemli miktarda oluşmadığını, fakat albedo da toplam ağırlığın % 0.06'sı düzeyinde mevcut bulunduklarını bildirmektedirler. Aynı araştırmacılara göre en fazla limonin oluşturan turunçgil meyvelerinden biri de altıntop olup, işleme sırasında altıntop ürünlerinde oluşan acılığın başlıca âmili limonindir.

4. LIMONİN ACILIĞININ ÖNLENMESİNE İLİŞKİN ÇALIŞMALAR

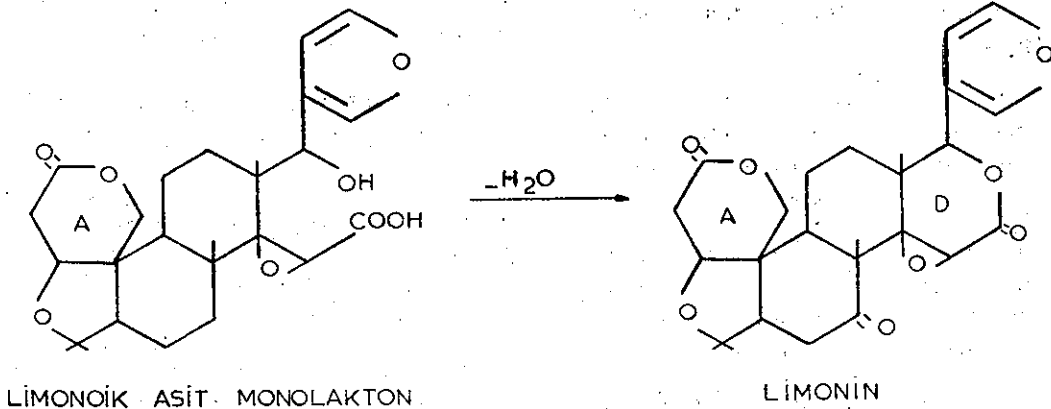
Turunçgil sularında oluşan limonin acılığının önlenmesine ilişkin başlıca çalışmalar 2 grup altında toplanabilir (7) :

- Bütün haldeki meyvelere kimyasal maddeler (Trietilamin türevleri) uygulayarak meyvede limonoik asit monolakton birikimini önlemek.
- Meyve sıkılıp meyve suyuna işlenirken bakteri kökenli enzimlerle (Limonat Dehidrojenaz) muamele etmek.

4.1. Bütün Haldeki Meyvelere Kimyasal Madde Uygulanması

Mevsim sonunda hasat edilen Washington navel portakallarından elde edilen portakal suları mevsim başında devşirilenlerinkinden daha az acı olmaktadır. Bunun nedeni şöyle açıklanabilir. Mevsim sonu meyvelerinde gerçekleşen metabolik faaliyet sonucu bunlarda bulunan limonoik asit monolakton büyük ölçüde parçalanmakta dolayısıyla mevsim sonu portakallarından elde edilen meyve suyunda daha az limonin oluşmaktadır (8).

Portakallardaki bu metabolik acılık giderme sisteminin meyve olgunlaşmasının ilk safhalarında harekete geçirilebilmesi durumunda limonin acılığı sorununun çözümlenebileceğini ileri süren Maier ve arkadaşları (8) konuya ilişkin olarak meyveleri CEPA (2 - chloroethylphosphoric acid) ve etilenle muamele etmişlerdir.



Şekil 2. Limonoik Asit Monolakton'un Limonin Dilakton'a dönüşümü.

Adı geçen araştırmacıların bu konudaki çalışmaları ve elde ettikleri sonuçlar şöyle özetlenebilir :

1 saat süreyle 1 g/l'lik CEPA çözeltisine daldırılarak yıkanan ve takiben solunumla oluşan gazların birikimini önlemek için sürekli olarak nemli hava sevkedilen bir dolapta 21°C sıcaklıkta bekletilen meyveler 6 gün sonra sıklıkla meyve suyunda oluşan nihai limonin içeriği ölçülmüş ve CEPA ile işlem gören meyvelerde limonin miktarının % 21 oranında azaldığı görülmüştür. Limonla yinelenen denemeden de yaklaşık aynı sonuç alınmıştır.

Bitki dokularına uygulanan CEPA'nın parçalanarak etilen açığa çıkması nedeniyle daha sonra meyvelere doğrudan etilen uygulanması yoluna gidilmiştir. CEPA denemelerine koşut olarak aynı kümeden ayrılan bir kısım portakal 20 mg/l etilen içeren nemli hava geçirilen bir dolapta 5 - 8 gün bekletilmiş ve sonuçta etilen uygulanmasının da CEPA gibi limonin miktarını azalttığı görülmüştür.

CEPA uygulanan meyvelerde solunumun bir süre için hafifçe artıp sonra eski düzeyine dönmesine karşın sürekli etilen uygulananlarda solunumun çok fazla artması ve uygulama boyunca bu yüksek düzeyi koruması acılığı giderme mekanizmasını hızlandırmak için CEPA'dan açığa çıkan az miktardaki etilenin yeterli olacağı kanısını uyandırmıştır.

Bu nedenle Washington portakalları, içinde 20 mg/l etilen içeren nemli hava geçirilen 21°C sıcaklıktaki bir dolaba konmuş ve burada 3 saat bekletildikten sonra etilen içermiyen nemli hava geçirilen diğer bir dolaba aktararak 5 gün bekletilmişlerdir. Daha sonra meyveler sıkılmış ve elde edilen meyve suyunun limonin içeriğinin (8.2 mg/l) işlem görmeyen portakallarinkine (12.1 mg/l) göre % 32 daha az ve 5 gün etilen uygulananlarla yaklaşık aynı düzeyde olduğu saptanmıştır.

Örneklerde yapılan tad testleri sonucunda CEPA ve kısa süreli etilen uygulanan portakallardan elde edilen meyve sularında hiçbir yabancı tad ve koku saptanamamıştır.

Bu çalışmaların sonuçları; Washington portakalından elde edilen meyve sularında etilen

uygulanması ile limonin acılığının azaltılabileceği, fakat özellikle erken mevsim meyvelerinde, tamamen giderilemeyeceği kanısını vermektedir.

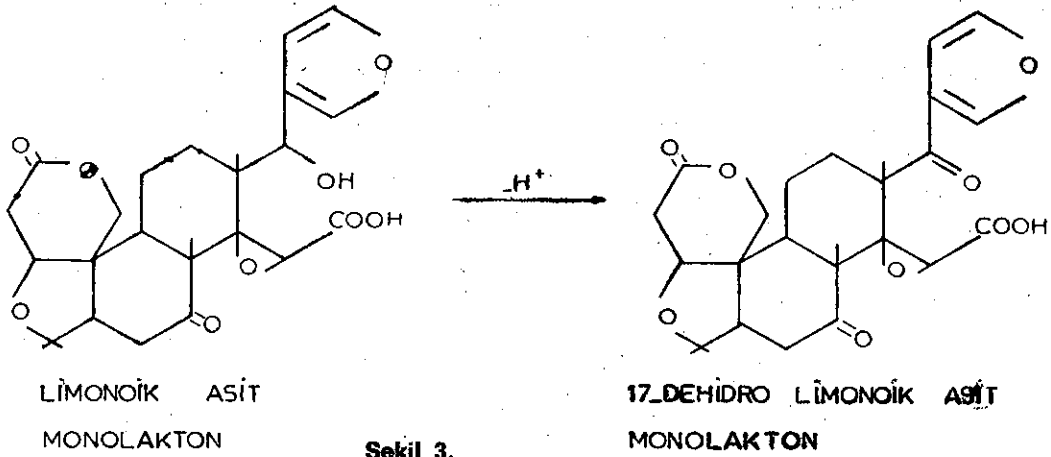
4.2. Enzimatik Uygulamalar

Limonin acılığının enzimatik işlemlerle giderilmesine ilişkin olarak Amerika'da 1950 yılında gerçekleştirilen araştırmalarda; meyvelerden ya da küf mantarlarından elde edilen pektik enzimlerle 4 - 10°C sıcaklıkta birkaç saatlik muamele sonucunda portakal suyu acılığının giderildiği, fakat bu işlemin üründe tad bozulmasına ve bulanıklık kaybına da neden olduğu görüldü. Bu işlemle acılığın yok olması limonin molekülünde kimyasal bir değişimden ziyade, pektinazların pektinin oluşturduğu koloidal sistemi parçalaması ve çökelen pektik fraksiyonun diğer maddelerle birlikte limonini de çökerterek ortamdan uzaklaştırmasının bir sonucu gibi görünmektedir (4).

Daha sonraki yıllarda Avustralya'da Chandler, ABD'de ise Hasegawa ve arkadaşları tarafından yürütölen çalışmalar sonucunda portakal albedosunda limonini parçalayan enzimlerin mevcudiyeti saptandı. Alkali katarak pH'sı, enzim için optimal olan, 5.6'ya yükseltilen portakal suyuna homojenize edilmiş albedo katılarak bu karışım 0°C sıcaklıkta 16 saat bekletildiğinde meyve suyunun 16.8 mg/l olan limonin içeriğininin 7.0 mg/l'ye düştüğu belirlendi. Fakat bu enzimlerin meyve olgunlaşma periyodu sırasında albedoda kısa bir zaman kesitinde yüksek etkinlik gösterir halde buldukları ve pH 4.0'te etkinliklerinin % 50'sini yitirdikleri gözlemlendi. Bu veriler sonucunda, pH'sı 3.0 - 3.8 olan portakal suyunda acılığın bu enzimler kullanılarak giderilmesinin ticari üretim için uygun olmadığı kanısına varıldı (4).

Limonin acılığının enzimatik etkinlikle giderilmesine ilişkin olarak bakte-i kökenli enzimler üzerinde de çalışılmakta olup en başarılı sonuçlar bu enzimlerden sağlanmış görünmektedir.

Limonat dehidrojenaz (LD) olarak adlandırılan bu enzimler limoninin öncül maddesi olan limonoik asit monolaktonun 17 no'lu karbonundaki hidroksil grubunu dehidrojenize ederek bunu acı olmayan 17 - dehidro limonoik



asit monolaktona dönüştürmektedir (Şekil 3). Bu madde asidik meyve suyu koşullarında da limonine dönüşmemektedir (4).

Kofaktör olarak NAD (Nikotinamid adenin dinükleotit)'e gereksinim gösterilen ve Limonat - NAD oksidoredüktaz olarak karakterize edilen ilk LD *Arthrobacter globiformis* adlı bakterilerden izole edilmiştir (9). Bu enzimin optimum etkinlik pH'sı 9.5 olup pH 5.0'in altında etkinlik ve stabilitesini büyük ölçüde yitirmektedir. Yapılan denemelerde; NaOH katılarak pH'sı 9.5'a ayarlanan taze portakal suyuna katılan LD - *Arthrobacter globiformis*'in gösterdiği etkinlik sonucu ürünün limonin içeriğinin tad sınırı (4 - 6 mg/l'nin altına düştüğü belirlenmiştir. Ancak, doğal portakal suyu pH'sında (3.0 - 4.0) enzimin etkinliği çok az olduğundan bu koşullarda 17 - dehidrolimonik asit oluşumunun yetersiz kaldığı ve limonin acılığının tamamen önlenemediği görülmüştür (10).

Bir diğer LD ise *Pseudomonas - sp. 321 - 18*'den (LD - Ps) elde edilmiştir (11). Limonat -

NAD (P) oksidoredüktaz olarak karakterize edilen bu LD kofaktör olarak hem NAD hemde NADP (nikotinomid adenin dinükleotit fosfat)'i kullanabilmektedir. Ancak NADP enzimin etkinliğini NAD'ye göre 2 kat arttırmaktadır. Optimal pH'sı 8.0 olan bu LD düşük pH'larda da etkinliğini korumaktadır. Yapılan araştırmalarda; yeni sıkılan portakal suyuna (pH 3.5) NAD ile birlikte uygun konsantrasyonda katılan LD - Ps'nin 24°C'de 2 saatlik bir sürenin sonunda ürünün 17.5 mg/l olan nihai limonin konsantrasyonunu % 92 kadar azaltarak 1.4 mg/l'ye kadar indirdiği ve acı olmayan bir ürün sağladığı belirlenmiştir (10).

LD - Ps. nin ya da benzer işlev görebilecek bir enzimin ucuz bir ortamda yüksek randımanla üretilerek ticari uygulamaya sunulması durumunda, sofralık olarak değerlendirilemeyen Washington portakallarında meyve suyuna işlenerek değerlendirilmesi ve limon sularında sık sık karşılaşılan acılaştırma sorununun önlenmesi mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Ting, S.V.; Attaway, J.A. 1971. Citrus Fruits. In «The Biochemistry of Fruits and Their Products», ed. by A.C. Hulme. Academic Press.
2. Swisher, H.E.; Swisher, L.H. 1971. Lemon and Lime Juices. In «Fruit and Vegetable Juice Processing Technology». ed. by D.K. Tressler and M.A. Joslyn. AVI Publ. Comp. Inc.
3. Guadagni, D.P.; Maier, V.P.; Turnbaugh, J.G. 1976. Effect of neodiosmin on threshold and bitterness of limonin in water and orange juice. J. Food Sci., 41, 681 - 684.
4. Chandler, B.V.; Nicol, K.J. 1975. Debitting products with enzymes. CSIRO Food Res. Q., 35, 79 - 88.
5. Chandler, B.V. 1971. Some solubility relationships of limonin. Reports of 10th Symp. Sci. and Tech. Com. of IFFJP, Palermo, April 1970.
6. Blundstone, H.A.W.; Woodman, J.S.; ADAMS, J.B. 1971. Canned Citrus Products.

- In «The Biochemistry of Fruits and Their Products», ed. by A.C. Hulme. Academic Press.
7. Hasegawa, S.; Maier, V.P. 1978. Intern. Congr. Food Sci. and Technol. - Abstracts, P. 235.
 8. Maier, V.P.; Brewster, L.C.; Hsu, A.C. 1971. Development of methods for producing non-bitter navel orange juice. Citrograph, 56, 351, 373 - 375.
 9. Hasegawa, S.; Brewster, L.C.; Maier, V.P. 1973. Use of Limonate dehydrogenase of *Arthrobacter globiformis* for the prevention or removal of limonin bitterness in citrus products. J. Food Sci., 38, 1153 - 1155.
 10. Brewster, L.C.; Hasegawa, S.; Maier, V.P. 1976. Bitterness prevention in citrus juices. Comparative activities and stabilities of the limonate dehydrogenases from *Pseudomonas* and *Arthrobacter*. J. Agric. Food Chem., 24, 21 - 24.
 11. Hasegawa, S.; Maier, V.P.; King, A.D. 1974. Isolation of new limonate dehydrogenase from *Pseudomonas*. J. Agric. Food Chem., 22, 523 - 526.



ACISELSAN

Na - CMC

(SODYUMKARBOKSİMETİLSELÜLOZ)

1976 YILINDA KURULMUŞ OLAN FABRİKAMIZDA KİMYA VE GIDA SANAYİNDE KULLANILAN HER TİPTE CMC YERLİ OLANAKLARLA ÜRETİLMEKTEDİR.

EĞER DİLENİRSE CMC'NİN YAPISI, TİPİ, NİTELİĞİ, KULLANILMA YERİ, UYGULANMASI, AMBALAJI VB. KONULARDA AYRINTILI BİLGİ VERİLMEKTEDİR.

ACIPAYAM SELÜLOZ SANAYİ VE TİCARET A. Ş.

Atatürk Bulvarı No: 27 ACIPAYAM - DENİZLİ

Tic. Sic. No: 258

Tel : 122 - 123 - 124