

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**PORTAKAL KONSANTRESİNDE ACILIĞIN
ENZİMLE GİDERİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu ESKİOCAK

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

HAZİRAN 2015

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**PORTAKAL KONSANTRESİNDE ACILIĞIN
ENZİMLE GİDERİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu ESKİOCAK

(Y1313.040004)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

HAZİRAN 2015



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı **Y1313.040004** numaralı öğrencisi **Burcu ESKİOCAK**'ın "**PORTAKAL KONSANTRESİNDE ACILIĞIN ENZİMLE GİDERİLMESİ**" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 10.06.2015 tarih ve 2015/12 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından *oy birliği* ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak *kabul* edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi :30/06/2015

1)Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Kamil BOSTAN

3) Jüri Üyesi : Doç. Dr. M. Tahsin YILMAZ

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Portakal Konsantresinde Acılığın Enzimle Giderilmesi**” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyografya’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (.../.../2015)

Aday / İmza

ÖNSÖZ

Araştırma konusunun belirlenmesinde ve çalışmaların yönlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen, bana her zaman destek olan değerli tez danışmanım Prof. Dr. Şükrü Karataş' a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Çalışmalarım sırasında yardımları ve desteklerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Kamil Bostan, Yrd. Doç. Dr. Sibel Kahraman ve Dr. Burcu Marangoz'a, Yoğun çalışmalarımız sırasında gösterdiği sabır ve çalışma desteği için Bilge Hatipoğlu, laboratuvar çalışmalarımızda yardımları için Gülşen Nas'a, Araştırma ile ilgili deneylerin gerçekleştirilmesinde ihtiyaç duyduğumuz her türlü olanağı sağlayan Limkon Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Haziran 2015

Burcu ESKİOCAK

Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Portakal Sularındaki Başlıca Kalite Değerleri	3
2.1.1 Renk ve Görünüş	3
2.1.2 Lezzet	5
2.1.3 Besin Değeri	8
2.2 Portakal Sularında Meydana Gelen Lezzet Kusurları	9
2.3 Portakal Sularında Acılık Etmenleri	10
2.4 Naringin	14
2.5 Acılık Bileşenlerinin Uzaklaştırılması	15
3. MATERYAL ve METOT	19
3.1 Materyal	19
3.2 Metot	21
3.2.1 Naringin Acılığının Giderilmesi İçin Yapılan Denemeler	21
3.2.2 Naringin Standartlarının Oluşturulması	22
3.2.3 HPLC ile Yapılan Naringin Analiz Metodu	22
3.2.4 Panel Testi	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1 Naringin Standartlarının Oluşturulması	25
4.2 Örneklerin HPLC ile Naringin Analizi Sonuçları	27
4.3 Panelist Testi Sonuçları	36
5. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	43
EKLER	47
ÖZGEÇMİŞ	59

KISALTMALAR

dk	: Dakika
DMF	: N,N Dimethyl formamide
FAO	: Food and Agriculture Organisation
HPLC	: High performance liquid chromatography
L	: Litre
M	: Molarite
min	: Minute
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ppm	: Parts per million
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 :Portakal kabuğu ve portakal suyunda bulunan başlıca karotenoidler	4
Çizelge 2.2 :Portakal suyunun yaklaşık besin içeriği (100g yenilebilir kısım üzerinden)	9
Çizelge 2.3 :Turunçgil sularının acılığının giderilmesinde kullanılan bazı adsorbantlar ve etki ettikleri acılık etmenleri	15
Çizelge 2.4 :Acılık gidermede kullanılan bazı enzim sistemleri	17
Çizelge 3.1 :Denemeler sırasında kullanılan bazı kimyasal maddeler ve elde edildikleri firmalar	20
Çizelge 3.2 :Denemeler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları ve gereçleri	20
Çizelge 3.3 :Deneme grupları	21
Çizelge 4.1 :Standartlara karşılık elde edilen piklerin alan değerleri	26
Çizelge 4.2 :% 0,1 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler	28
Çizelge 4.3 :% 0,1 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen alan değerleri ...	29
Çizelge 4.4 :% 0,3 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler	31
Çizelge 4.5 :% 0,3 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler	32
Çizelge 4.6 :% 0,5 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler	33
Çizelge 4.7 :% 0,5 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler	34
Çizelge 4.8 :% 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında 4 farklı sıcaklık parametresinde Naringinaz enzimi ile 3 saat bekletilen örneklerin tat analizi sonuçları	37
Çizelge 4.9 :% 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında 4 farklı sıcaklık parametresinde Viskozim-L enzimi ile 3 saat bekletilen örneklerin tat analizi sonuçları	38

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	:Hesperidin kimyasal yapısı 11
Şekil 2.2	:Neohesperidin kimyasal yapısı 11
Şekil 2.3	:Limonin kimyasal yapısı 12
Şekil 2.4	:Limonin oluşum mekanizması 13
Şekil 2.5	:Naringinin kimyasal yapısı 14
Şekil 2.6	:Naringinin naringinaz tarafından degradasyon basamakları 14
Şekil 3.1	:Portakal konsantresi örneği 19
Şekil 3.2	:Enzim ilavesi yapılan seyreltilmiş portakal konsantresi örnekleri 22
Şekil 3.3	:HPLC' ye vermeye hazır hale getirilen örnekler 23
Şekil 3.4	:Panelist değerlendirme formu 23
Şekil 4.1	:Naringin standart çözeltilerine (A-15 mg/L; B-20 mg/L; C-25 mg/L; D-30 mg/L; E-35 mg/L'lik naringin çözeltileri) ilişkin HPLC kromatogramları 25
Şekil 4.2	:Naringin standart eğrisi 26
Şekil 4.3	:Enzim ilavesi olmayan kontrol örneğinin HPLC kromatogramı ve naringin piki 27
Şekil 4.4	:% 0.1 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 28
Şekil 4.5	:% 0.1 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringinkonsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 30
Şekil 4.6	:% 0.3 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 31
Şekil 4.7	:% 0.3 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 32
Şekil 4.8	:% 0.5 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 33
Şekil 4.9	:% 0.5 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim 34

PORTAKAL KONSANTRESİNDE ACILIĞIN ENZİMLE GİDERİLMESİ

ÖZET

Bu çalışmada 56 brikse sahip Limkon Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş' den temin edilen portakal konsantresinde naringin acılık bileşeninin naringinaz ve viskozim-L kullanılarak acılığın giderilmesi araştırıldı. Bu çalışmada kabuğu ile sıkılarak elde edilen portakal konsantresinde bulunan naringin acılığının naringinaz ve viskozim-L enzimleri tarafından değişik sıcaklıklarda (45, 50, 55 ve 60 °C) ve konsantrasyonlarda (% 0.1, % 0.3, % 0,5) etkisi incelendi. HPLC ile Fisher and Wheaton metoduna göre 15-35 ppm konsantrasyon aralığında naringin standartları hazırlandı. Naringinaz ve viskozim-L enzimleri örneklere ayrı ayrı üç farklı oranda ilave edildi. Portakal konsantresi 56 briksten 11,8 brikse seyreltilerek denemeler yapıldı. Orijinal numunede 27,04 ppm naringin miktarı belirlendi. Değişik sıcaklıklarda (45, 50,55,60 °C) ve değişik konsantrasyonlarda (% 0.1, % 0.3, % 0,5) naringinaz ve viskozim-L ilave edilmiş olan 11,8 briksteki portakal suyu numunelerinde toplamda üç saat olacak şekilde birer saat süre ile örnekler alındı ve HPLC cihazında naringin yüzdesinin indirgenmesi incelendi. % 0.1 oranında naringinaz kullanıldığında üç saat sonunda naringin azalmasının 55 °C'de % 42.49 olduğu, ancak % 0.1 oranında viskozim-L enzimi kullanıldığında ise naringin azalmasının 50 °C'de % 38.57 olduğu görüldü. Aynı şekilde % 0.3 oranında naringinaz kullanıldığında 45 °C'de naringin içeriğinde % 48.4 oranında azalma görüldü. Viskozim-L'de ise aynı sıcaklık ve oranda kullanıldığında % 38.72 oranında azalma olduğu belirlendi. Yine aynı şekilde naringin azalmasının % 0.5 oranında ilave edilen naringinaz ve viskozim-L için sırasıyla 45 °C'de 57.69 ve 45 °C'de % 44.04 olduğu bulundu. Bu çalışmanın diğer bir aşamasında ise panel testi yapılarak HPLC ile bulunan neticelerle karşılaştırma yapıldı. Buna göre % 0.5 oranında ve 50 °C'de enzim kullanıldığında en iyi bulgular elde edildi. Bu bulguların HPLC cihazı ile yapılan analizlerle uyum içinde olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: portakal, acılık, naringin, naringinaz, viskozim L, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

DEBITTERING OF NARINGIN IN THE ORANGE CONCENTRATE USING ENZYM

ABSTRACT

In this investigation, bitter orange juice 56 brix concentrate was received from Limkon Food Industry and Company. It is conducted that on this study, orange with its peel was squeezed which includes naringin bitterness components were reduced with naringinase and viscozyme-L at different temperatures (45, 50, 55ve 60 °C) and concentrations (0.1 %, 0.3 %, 0.5 %). According to HPLC and Fisher-Wheaton method, naringin standards were prepared in the concentration range of 15-35 ppm. Naringinase and viscozyme-L enzymes were added to the sample separately in three different rates. It was analyzed that orange juice concentrate is diluted from 56 Brix to 11.8 Brix. 27.04 ppm amount of naringin was determined in original sample. It was taken samples each one hour in three hours in the samples of orange juice at 11.8 Brix which was added naringinase and viscozyme-L enzymes at different temperatures (45, 50, 55, 60 °C) and at different concentrations (0.1 %, 0.3 %, 0.5 %) and reduction of the percentage of naringin was examined in HPLC. It was seen that reduction of naringin at 55 °C is 42.49 % when it is used 0.1 % of naringinase but reduction of naringin at 50 °C is 38.57 % when it is used 0.1 % of viscozyme-L enzyme in three hours. At the same time, when it is used 0.3 % naringinase, it is found that 48.4 % reduction of naringin content at 45 ° C. It was determined that 38.72 % reduction of naringin when it is used viscozyme-L enzyme at the same temperature and rate. Likewise, it was found that reduction of naringin at 50 °C is 57.69 % and at 45 °C is 44.04 % respectively in 0.5 % naringin and viscozyme-L enzyme. In another step of this study, it was compared the results which panel test was performed by HPLC. According to these results, it was obtained best results when it is used enzyme in 0.5 % percentage and at 50 °C. These results were seen to be consistent which performed by HPLC.

Key Words: orange, bitterness, naringin, naringinase, viscozyme-L, high performance liquid chromatography

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya’da 15.165.686 ton turunçgil meyvesi pazarlanmakta ve bunun yaklaşık olarak yarısı Avrupa’da gerçekleşmektedir. Avrupa’da İngiltere, Almanya, Fransa ve Hollanda en büyük turunçgil ithalatçısı ülke konumundadırlar. Dünyada en çok turunçgil ihraç eden ülke İspanya’dır. İspanya, özellikle Akdeniz havzasında gerçekleşen portakal, mandarin ve limon ticaretinin neredeyse % 50’sini sağlamakta olup, turunçgil sektörünü bu pazarları elinde tutacak şekilde yönlendirmekte ve geliştirmektedir. Ülkemizin de içerisinde yer aldığı Akdeniz havzasında dünya turunçgil üretiminin yaklaşık olarak % 22’ si gerçekleştirilmektedir. FAO 2013 verilerine göre; Türkiye'nin dünya toplam turunçgil meyveleri üretimindeki payı ise yaklaşık olarak % 2.75 ‘dir (**Url-1**).

Pazar payında görülen sürekli sayılabilecek yükselme, ülkemiz dahil olmak üzere Akdeniz’e kıyısı olan birçok ülkede yetiştiricilik alanlarını hızla artmakta, TÜİK verilerine göre 2013 yılında Türkiyede portakal üretimi 1.781.259 tona ulaştığı belirtilmiştir (**Url-2**).

Çeşitli turunçgil sularında işleme sırasında veya sonraki işlemlerde oluşan acı tat, tüketici ilgi ve beğenisini azaltarak önemli ekonomik problemlere neden olabilmektedir. Değişik portakal çeşitlerinin meyve suyuna işlenmesi sırasında da bu ürünlerde acı bir tatla karşılaşılabilir. Bunların muhtemel sebepleri ise; meyvenin sıkılmasında fazla basınç uygulanması, kabuk yağının yeterince uzaklaştırılmaması, meyvesuyunun hemen finişerden geçirilerek, albedo parçacıkları ve fazla pulpundan arındırılmaması ya da kabuk yağı uzaklaştırmanın yeterli yapılmaması gibi durumlarında meydana gelebilmektedir. Turunçgil meyveleri ve ürünlerinde acılığa neden olan etmenlerin araştırılmasında, kimyasal bakımdan farklı iki tip acılık maddesi dikkat çekmektedir. Bunlar; flavanoidler (naringin, neohesperidin) ve limonoidler (limonin, nomilin)’dir (**Altan, 1983a, b; Karabacak, 1995**).

Acı flavonoidler arasında üzerinde en fazla araştırma yapılan bileşen naringindir. Yapılan araştırmalar naringinin altıntop, pumella, turunç ve üç yapraklı da

bulduğunu göstermiştir. Ancak gerek miktar gerekse nitelik olarak naringinin en etkili olduğu turunçgil türü altıntoplardır. Altıntopların karakteristik tadında büyük ölçüde etkin ve kininden çok daha acı olan bu flavonon glikozid, portakallardaki hemen hemen tatsız olan hesperidin ve turunçlardaki acı neohesperidin ile yakından ilişkilidir. 20 ppm düzeyinde bulunduğunda tadarak saptanılabilmesini sağlayan yoğun acılığının yanı sıra diğer birçok karakteristik vasıfları da naringinin belirlenmesine yardımcı olabilmektedir (**Altan, 1983a**).

Bu çalışmada, ülkemizde üretimi fazla olan, ancak veriminin daha yüksek olmasını sağlamak amacıyla kabuğuyla birlikte de sıkıldığında meyvesuyuna işlenmesi sorun oluşturan portakallarda naringinden kaynaklı acılığın 2 farklı enzim ile giderilmeye çalışılması ve bu naringin içeriğindeki azalmanın yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile tespitinin yanında panel testi ile değerlendirilmesi araştırıldı.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Portakal Sularındaki Başlıca Kalite Değerleri

İyi bir portakal suyu; turuncu renkte, taze ve olgun portakalların tipik lezzetine bütünüyle sahip ve her türlü lezzet kusurlarından arındırılmış olmalıdır. Portakal sularının lezzeti; tat, aroma, dolgunluk ve görünüşün birlikte meydana getirdiği bir olgudur. Bu olguda, portakalın bileşiminde yer alan çok sayıda bileşen ve bunlara bağlı olarak da birçok fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal etmen etkili olmaktadır. Portakal sularının başlıca kalite ölçütleri; renk ve görünüş, lezzet (tat ve aroma) ve besin değeri olarak ifade edilebilir (Sinclair, 1961; Fellers ve ark., 1986; Altan, 1995; Kealey ve Kinsella, 1979).

2.1.1 Renk ve Görünüş

Portakal sularının en önemli kalite ölçütlerinden birisi sahip olduğu renktir. Portakal sularında tercih edilen koyu turuncu ve doğal parlak renk, diğer meyve sularına göre en büyük kalite avantajlarından biri olarak kabul görmektedir (Kealey ve Kinsella, 1979; Kimball, 1991).

Portakal sularının karakteristik rengini; meyve suyu keseciklerinde bulunan ve flavedoya da rengini veren karotenoidler sağlamaktadır. Karotenoidler, meyve suyu kesecikleri içerisinde plastid hücrelerinde yoğunlaşmış olup lipidler içerisinde çözünebilir özellikte bulunmaktadır. Çizelge 2.1'de portakal kabuğu ve portakal suyunda bulunan başlıca karotenoidler yer almaktadır. Karotenoidler meyve suyunun parlak ve çekici bir renk almasını sağladığı gibi tat ve aromayı tamamlayıcı etkide bulunmaktadır. Ayrıca karoten (α , β , γ) ve beta-kriptoksantin gibi A vitamini aktivitesine sahip bazı karotenoidler besin değeri bakımından da önem taşımaktadırlar (Ting ve Rouseff, 1986; Kimball, 1991).

Çizelge 2.1: Portakal kabuğu ve portakal suyunda bulunan başlıca karotenoidler
(Ting ve Rouseff, 1986).

	Karotenoidler
Portakal Kabuğu	α - Karoten β - Karoten Apo-8' karotenal β – Kriptoksantin Lutein Violaksantin
Portakal suyu	α - Karoten β - Karoten γ - Karoten α - Kriptoksantin β – Kriptoksantin Lutein Zeaksantin Antherksantin Violaksantin

Turunçgillerde bulunan karotenoid miktarı; türe, olgunlaşmaya, yetiştiği coğrafyaya, mevsime ve kültürel uygulamalara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Portakal sularında karotenoid miktarı olgunlaşma mevsimi boyunca artmaya devam eden bir olgudur (Ting ve Rouseff, 1986).

Turunçların toplam karotenoid içeriği portakallardan daha düşüktür. Portakal kabuğundaki toplam karotenoid miktarı 1.2-3.5 mg/100g (taze meyve ağırlığına göre) iken turunçlarda ise bu değer 0.2-0.6 mg/100g arasında değişir. Meyve pulpundaki toplam karotenoid miktarı portakallarda 0.13-0.34 mg/100g, turunçlarda ise 0.04-0.1 mg/100g değerleri arasındadır (Ting ve Attaway, 1985).

Portakal sularının görünüşüne etki eden diğer bir faktör ise portakal suyunun doğal bulanıklığı ve stabilitesidir. Portakal suyunun bulanıklığı; hücre duvarı parçacıkları,

yağ damlacıkları, kromoplastlar ve hesperidin kristalleri gibi farklı parçacıkların oluşturduğu heterojen bir karışım olarak ifade edilmektedir (**Altan, 1981; Crandall ve ark., 1983**).

Portakal sularına bulanık bir görünüm veren süspansiyon halindeki parçacıklar bu meyve suları için özel bir kalite ögesi olarak kabul görür. Bulanıklık maddelerinin bulunmaması durumunda portakal suyu duruya yakın bir görünümde, renksiz, meyvenin kendine özgü tat ve aromasından oldukça yoksun, boş bir sıvı halini alır. Çünkü turunçgillerin tat ve aromasını oluşturan çeşitli limonoid, aldehit, keton, alkol, terpen ve esterlerle rengi oluşturan karotenoidlerin büyük bir kısmı bulanıklığı oluşturan süspansiyon halindeki parçacıklarla birlikte yer almaktadır (**Kealey ve Kinsella, 1979; Altan, 1981**).

Portakal sularına bulanıklık veren bu parçacıkların bir kısmı, çökerek tabanda tortu yapma eğilimi göstermektedirler. Ne var ki meyve suyunda bulunan çeşitli kolloidal maddeler bunların çöküp ayrılmasını engelleyerek, bulanıklığa neden olan bu parçacıkları askıda tutarak kolloid polidispers bir yapı oluşturur. Gerçekten, çoğunlukla (-) elektrik yüklü olan ve çoğu, etraflarında bir su mantosu taşıyan meyve suyu kolloidleri, birbirlerini itmeleri yüzünden çökemedikleri gibi, dispers haldeki diğer parçacıkların etrafını sararak onlara da (-) elektrik yük kazandırmak suretiyle çökmelerine engel olurlar. Meyve suyuna (-) elektrik yük taşıyan kolloidlerin başında pektin maddesi yer almaktadır (**Cemeroğlu, 1982**).

Portakallarda doğal olarak bulunan ve meyvenin sıkılması ile portakal suyuna geçen pektik maddeler, bu ürünlere belli bir yoğunluk veren kolloidal stabilizatörler olup, bulanık görünüm oluşturan parçacıkların süspansiyon halinde kalmalarını sağlamaktadırlar. Pektik bileşikler portakal suyunda arzu edilen ve beğenilen bir özellik olan ağız dolgunluğu hissi vermelerinin yanında, hücre duvarının yapısında yer alan selüloz, hemiselüloz, lignin ve protein gibi bileşiklere farklı güçlerdeki bağlar ve interaksiyonlarla tutunmakta ve adeta hücreleri bir arada tutan bir harç maddesi gibi görev almaktadır (**Altan, 1981; Cemeroğlu, 1982**).

2.1.2 Lezzet

Portakal suyu lezzeti; tat, aroma, dolgunluk ve görünüşün ortak etkisiyle oluşan karmaşık bir duyuşsal olgudur. Bu olguda, portakalın bileşiminde yer alan çok sayıda

bileşen ve bunlara ek olarak da bir çok fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal etmen etki göstermektedir (**Attaway ve Carter, 1971; Altan, 1995**).

Portakal suyunda etkili olan başlıca duyular şu şekilde sıralanabilir; tatlılık, ekşilik ve acılık. Bu duyular, yüksek konsantrasyonlardaki şekerler ve organik asitler ile düşük konsantrasyonlardaki ve çoğu aroma oluşumunda da etkili olan uçucu bileşikler tarafından belirlenirler (**Altan, 1995**).

Portakal suları, zengin bir bileşime sahiptir ve bu bileşikler içinde en yaygın olanı şekerler veya karbonhidratlardır. Portakal sularındaki toplam kuru maddenin yaklaşık % 75-85'ini glikoz, fruktoz, sakkaroz gibi karbonhidratlar oluşturur. Meyve suları bileşiminin kabaca, elde edildiği meyvenin bileşimine oldukça yakın olduğunu kabul etmek hatalı olmaz. Çünkü meyvede bulunan şekerler, asitler, serbest amino asitler, mineral maddeleri suda çözünen çeşitli unsurların büyük bir kısmı meyve suyuna geçerken, suda zor çözünen veya hiç çözünmeyen polisakkaritler, lipidler, karotenoid maddeler gibi bazı unsurların büyük bir kısmının posada kaldığı ifade edilmektedir (**Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001**).

Meyve suyunun çözüner kurumadde içeriğinin asit içeriğine bölünmesiyle, tat dengesi ya da brix/asit oranı (ratio) bulunur. Bu oran meyve olgunluğunun belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan kalite kriterlerinden birisidir ve portakal sularında tatlılık ve ekşilik derecesini belirtir (**Sinclair, 1961**).

Tat dengesi ya da briks/asit oranının fazla yüksek olması meyve suyuna şurupsu bir nitelik kazandırdığı, fazla düşük olması ise ürüne aşırı ekşi bir tat verdiği için istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle bu değer 8'den az 12-13'ten çok olması istenmez. Ülkemiz portakalları genellikle fazla asitli olduğundan daha çok alt sınıra yakın tat değeri ile karşılaşılmaktadır. Son üründe uygun bir tat dengesi elde edebilmek için düşük asitli portakallara gereksinim vardır (**Altan, 1981**).

Çeşitli turunçgil suyu ürünlerinde işleme sırasında ya da sonradan oluşan, hoş gitmeyen acı bir tatla karşılaşılmaktadır. Bu acılık, meyvenin işlenmesi sırasındaki hatalı işlemlerden kaynaklanabilir ya da işlenen meyveye de bağlı olabilmektedir. Acı bir meyve olan turunç (*Citrus aurantium*)'tan elde edilen meyve suyu da acı bir meyvedir. Sofralık olarak beğeni ile tüketilen Washington navel portakallardan elde edilen meyve sularında, meyvenin sıkılmasından birkaç saat sonra belirgin bir şekilde acı tat oluşabilmektedir. Diğer portakal çeşitleri ve limonun meyve suyuna

işlenmesi sırasında da bu durum söz konusu olabilmektedir. Meyvenin sıkılmasında fazla basınç uygulanması, kabuk yağının daha önce meyveden uzaklaştırılmaması, sıkacaktan elde edilen meyve suyunun hemen finişerden geçirilerek albedo parçacıkları ve fazla pulpundan arındırılmaması ya da yeterli bir deoilizasyon uygulanmaması durumlarında, son ürünlerde acı bir tatla karşılaşılabilir (Altan, 1983b).

Portakal sularının özelliklerinden birisi de; kendine özgü aromaları, kabuktan geçen yağ ve bazılarında bulunan acı bileşikler olarak ifade edilmektedir. Portakal kabuk yağlarının kaynağı flavedoda bulunan yağ kesecikleridir. Endüstride kabuk yağı soğuk presle ya da distilasyonla portakaldan uzaklaştırılır. Ticari olgunluk aşamasında bir kg olgun portakaldan yaklaşık 2.5 g kabuk yağı elde edilmektedir. Portakal kabuk yağları, meyve sularında ve karbonatlı içeceklerde aroma artırıcı olarak kullanılır. Genellikle turunçgil sularındaki kabuk yağı miktarının % 0.020-0.025 (h/h) arasında olması tercih edilen bir durumdur (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001; Kealey ve Kinsella, 1979).

Portakal kabuk yağında 111 uçucu bileşik belirlenmiş ve bunların içinde 5 asit, 26 alkol, 25 aldehit, 16 ester, 6 keton ve 31 hidrokarbon olduğu şeklinde ifade edilmiştir. Uçucu olmayan bileşikler, portakal kabuk yağının % 1.5'ini oluşturur ve bunların içinde mumlar, kumarinler, flavonoidler ve tokoferoller yer almaktadır. Kabuk yağı, portakal sularına beğenilir karakteristik bir aroma kaatar. Fakat bir kısmı çeşitli işlem basamaklarında değişik düzeylerde oksitlenerek üründe hoşta gitmeyen bir tat oluşturabilmektedir. Portakalların karakteristik aromasını veren kabuk yağları, siklik alkoller ve aldehitlerden meydana gelir. Hidrokarbonlar özellikle de d-limonen, turunçgil yağlarının başlıca bileşenleridir. (Altan, 1991; Kealey ve Kinsella, 1979).

Portakalda bulunan uçucu aroma bileşikleri; terpenler, hidrokarbonlar, aldehitler, esterler ve alkollerdir. Bunların arasında portakal sularının kalitesini büyük ölçüde etkileyen bileşikler vardır. Bunlar; d-limonen, etil bütirat, asit aldehit, sitral, alfa pinen ve oktanaldır. Kabuk yağı kökenli terpenoik hidrokarbonlardan d-limonen portakal suyunda miktar olarak etanolden sonra ikinci sırayı alır. d-limonen önemli bir aroma maddesinden çok yağda çözünen aroma maddelerini taşıyıcı olarak görev yapar. Portakal sularında d-limonen seviyesi genellikle 80-290 mg/L civarındadır ve yaklaşık 190 mg/L düzeyinde, portakal suyu aromasına önemli katkılarda bulunur.

Diğer önemli terpenoik hidrokarbonlardan alfa-pinene de yine portakal suyu aromasında bulunan önemli aroma bileşenlerindedir. Meyve suyunda kabuk yağı arttıkça bunun miktarı da artmaktadır (**Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001**).

Portakal suyu genellikle pulplu ve opak görünümlü olarak tercih edilmektedir. Portakal suyunun doğal opak görünüşü kolloidal bulanıklık maddelerinden kaynaklanmaktadır. Pektik maddeler ve portakal suyuna bulanıklık veren diğer meyve suyu parçacıkları portakal suyunun opak görünüşüne katkıda bulunduğu gibi meyve suyuna bulanık bir görünüm verirler. (**Kimball, 1991**).

2.1.3 Besin Değeri

C vitamini (askorbik asit) ve A vitaminin öncül maddeleri olan karotenoidlerce zengindir. Turunçgiller ve ürünleri, günlük beslenmemizde yer alması gerekli önemli besin gruplarıdır. Turunçgillerin bileşiminde bulunan C vitamini ve beta karoten, antioksidan özellikle vitaminlerdir. Bu antioksidan özellikleriyle vücutta önemli işlevleri bulunmaktadır.

Turunçgiller ve ürünleri içerdikleri mineraller yönünden de beslenmemizde önemli yere sahiptirler. Özellikle potasyum yönünden zengindir. Fakat sodyum yönünden zengin değildir. Bu nedenle sodyum sınırlı diyetlerde rahatlıkla tüketilebilirler. Ayrıca diüretik hastalıklardaki aşırı potasyum kaybına karşı koruyucu ideal bir kaynak olarak dikkat çekmektedir. Diğer yandan hayati önemi olan çinko, bakır, mangan, kobalt, molibden ve iyot gibi iz elementleri de içermektedir. Turunçgillerde ya da portakallarda kuru maddenin hemen tamamı suda çözünür nitelikte olduğu için bileşiminde bulunan maddeler meyve suyunda da bulunmaktadır. Portakal suyunda bulunan askorbik asit konsantrasyonu, flavedoda bulunan askorbikasidin 1/5'i, albedodakinin ise 1/3'ü kadardır. Bütün haldeki bir portakalın C vitamini içeriğinin yaklaşık % 25'i meyve suyuna geçmekte ve bu da bir önem arz etmektedir (**Cemeroğlu ve Acar, 1986; Yağmur, 1997**).

Çizelge 2.2: Portakal suyunun yaklaşık besin içeriği (100g yenilebilir kısım üzerinden) (USDA, 2004).

Bileşenler	Birim	Birim/100g	Bileşenler	Birim	Birim/100g
Başlıca Bileşenler			Lipidler		
Su	g	88.30	Doymuş Yağ Asitleri	g	0.024
Enerji	kcal	45	Tek Doymamış Y. A.	g	0.036
Protein	g	0.70	Çok Doymamış Y. A.	g	0.040
Lipid (Toplam)	g	0.20			
Kül	g	0.40	Amino asitler		
Karbonhidrat	g	10.40	Triptofan	g	0.002
Diyet Lif	g	0.2	Treonin	g	0.008
Şeker (Toplam)	g	8.40	İzolösin	g	0.008
Mineraller			Lösin	g	0.013
K	mg	200	Lisin	g	0.009
P	mg	17	Metionin	g	0.003
Ca	mg	11	Sistin	g	0.005
Mg	mg	11	Fenilalanin	g	0.009
Na	mg	1	Tirozin	g	0.004
Fe	mg	0.200	Valin	g	0.011
Zn	mg	0.050	Arginin	g	0.047
Cu	mg	0.044	Histidin	g	0.003
Mn	mg	0.014	Alanin	g	0.015
Se	mcg	0.100	Aspartik asit	g	0.075
Vitaminler			Glutamik asit	g	0.033
Vitamin C	mg	50.0	Glisin	g	0.009
Niasin	mg	0.400	Prolin	g	0.044
Pantotenik asit	mg	0.190	Serin	g	0.013
Tiamin	mg	0.090	Diğerleri		
Vitamin B6	mg	0.040	Karoten, beta	mcg	33
Vitamin E	mg	0.040	Karoten, alfa	mcg	6
Riboflavin	mg	0.030	Kriptoksantin, beta	mcg	169
Vitamin A	IU	200	Lutein + zeaksantin	mcg	115
Folat (Toplam)	mcg	30			
Vitamin K	mcg	0.1			

2.2 Portakal Sularında Meydana Gelen Lezzet Kusurları

Portakal sularında oluşabilecek renk ve lezzet bozuklukları, bu ürünlerin kalitesinin düşmesine ve tüketici tarafından kabul görmemesine sebep olur. Bu yüzden portakal sularında arzu edilmeyen lezzet kusurlarının (acılık, oksidasyon ürünleri, esmerleşme vb.) tanımlanması ve engellenmesi turunçgil suyu endüstrisinde büyük önem arz eder. Bu lezzet kusurlarından biri de, portakal sularında bulunabilen limonoidlerden ve naringinden kaynaklıdır. Ticari portakal sularının renk ve lezzet gibi önemli özelliklerinin uzun süre korunması, zor olmakla beraber; kullanılan portakalların çeşit ve tipine, uygulanan işlem koşullarına ve depolanan portakal sularının

depolanma süre ve sıcaklığına bağlı olabilmektedir (**Olsen ve ark., 1977; Kealey ve Kinsella, 1979**).

Portakal sularında ısıtılma işleminin yüksek sıcaklıklarda ya da uzun süre ile uygulanması, ürünün oda sıcaklığında depolanması, depolanan ürünün sürekli gün ışığı görmesi ve oksijen içeriğinin fazla olması, ambalaj kabında fazla hava bırakılması gibi durumlar portakal suyunda esmerleşmeye neden olur. Ayrıca lezzet bozulmalarına ve askorbik asit kaybına da neden olur. Genellikle tat bozulması renk bozulmasından önce gelişme gösterir. Portakal konsantrelerinde rastlanan bu aroma bozukluğuna konsantrenin ilk yapıldığında rastlanmadığını fakat 0°C'de ya da uzun süreli depolamayla oluşabileceğini, aroma bozukluğunun kabuk yağı içeren ürünlerde daha sık görüldüğünü ifade edilmektedir (**Altan, 1981; Olsen ve ark., 1977**).

Portakal suları ve dondurulmuş portakal konsantrelerinde gelişen oksitlenmiş turunçgil lezzeti, başlıca üç faktöre bağlı olarak meydana çıkabilir. Bunlar;

- ✓ Meyveye bağlı olan faktörler; meyve çeşidi, olgunluğu, ilaçlama, don zararı görmüş meyveler,
- ✓ Meyve bileşimine bağlı olan bazı faktörler; albedo, kabuk ve çekirdek yağı, peroksidaz aktivitesi,
- ✓ Uygulanan işlemlere bağlı olan faktörler; meyvelerin işlenmeden önce depolanması, ekstraksiyon işlemi, pulpunun ayrılması, evaporasyon süresi, ısıtılma işlem süresi ve sıcaklığı, karıştırma ve uygulama süresince ürüne hava karışması durumları olarak belirtilmektedir (**Olsen ve ark., 1977**).

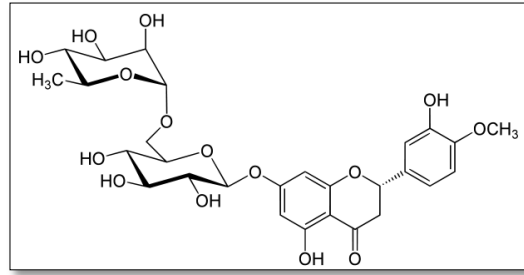
Portakal sularında bulunan lipidler, karbonhidratlar, askorbik asit ve amino asit gibi oksitlenmeye hassas bileşikler, portakal sularının oksidasyonunda önemli rol oynayarak renk ve lezzette istenmeyen bozuklukların ortaya çıkmasına sebep olurlar (**Kimball, 1991**).

2.3 Portakal Sularında Acılık Etmenleri

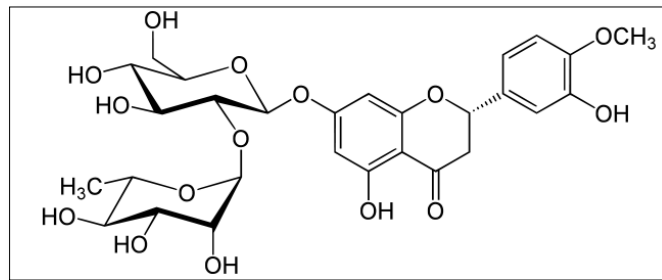
Washington navel portakalı meyve sularında, işleme sırasında veya ekstraksiyondan bir süre sonra acı tat oluşumu turunçgil sektöründe önemli bir sorun oluşturabilmektedir. Bu acılık meyvenin kendi yapısından kaynaklanabileceği gibi meyvenin işlenmesi sırasında hatalı işlemlerden de kaynaklanabilir. Washington navel portakalından üretilen meyve suyunda ise ekstraksiyondan birkaç saat sonra

belirgin bir acılık oluşmaktadır. Turunçgil meyvelerinde ve ürünlerinde acılık etmenleri kimyasal açıdan flavonoidler ve turunçgil meyvelerindeki triterpenoid metabolizmasının ara ürünlerinden limonoidler olarak iki gruba ayrılmışlardır. Naringin, neohesperidin, ponsirin flavonoid grubundan, limonin ve nomilin ise limonoid grubundan örneklerdir (Altan, 1983a,b; Herman ve ark., 1985).

Neohesperidin; (C₂₈H₃₄O₁₁) turunç, üç yapraklı (trifoliolate orange) ve ponderosa limonlarında bulunan bir flavonon glikoziddir. Portakal, mandarin, turunç, limon ve ağaç kavununda yaygın olarak bulunur. Bu bileşen tatsız bir glikozid olan hesperidin (C₂₈H₃₄O₁₅) bir izomeridir. Özellikle turunçların karakteristik acılığında rolü olan neohesperidin alkol ve suda çözünebilen bir bileşik olduğu belirtilmektedir. Molekül esasına göre hazırlanan çözeltileri karşılaştırıldığında neohesperidin acılığı naringinin 1/10'u kadar olmaktadır (Altan, 1983a).



Şekil 2.1: Hesperidin kimyasal yapısı (Altan, 1983a).



Şekil 2.2: Neohesperidin kimyasal yapısı (Altan, 1983a).

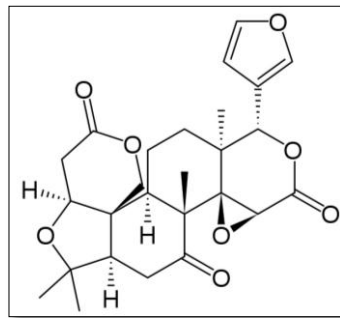
Portakallarda bulunan bir flavanoglikozit olan hesperidin acı bir bileşen değildir. Ancak zamanla kristaller halinde çöküp ayrıldığından meyve suyunun kalitesi bozulabilmektedir. Diğer taraftan turunçların son derece acı olan lezzeti neohesperidinden kaynaklanmaktadır (Aksay ve Ünal, 2002).

Limonoidler, *Rutaceae* ve *Meliaceae* familyalarına ait bitkilerde bulunan çok yüksek düzeyde oksitlenmiş triterpenoidlerdir. Turunçgil meyvelerinde bulunan önemli kalite bileşenlerinden biri olan limonoidler, biyolojik aktiviteye sahiptir. Limonoid aglikonların önemli aktivitelerinden biri, zararlılara karşı bitkisel dokuları koruyucu rol oynamasından ileri gelmektedir. Limonoid aglikonlar daha çok genç yaprak ve meyvelerde bulunur ve patojen organizmaların zararlarına karşı bu dokuların korunmasına fayda sağlamaktadır (**Hasegawa ve ark., 1984a**).

Turunçgillerde bulunduğu 1841'den beri bilinen limonin, limonoid grubunun karakterize edilen ilk bileşigidir. Limonin, 1938 yılında navel portakal suyundan izole edilmiş ve 1949'da da navel portakal sularında acılığa neden olduğu ifade edilmiştir (**Higby, 1938; Emerson, 1949**).

Limoninin yapısı, turunçgillerde bulunduğu belirlenmesinden yaklaşık 120 yıl sonra 1960'larda kimyasal yöntemler ve "X-ray crystallography" (X ışını ile kristallerin şekillerini veya yapılışını tetkik eden bilim dalı) tekniğinin birlikte kullanılması ile ortaya çıkarılmıştır (**Barton ve ark., 1961**).

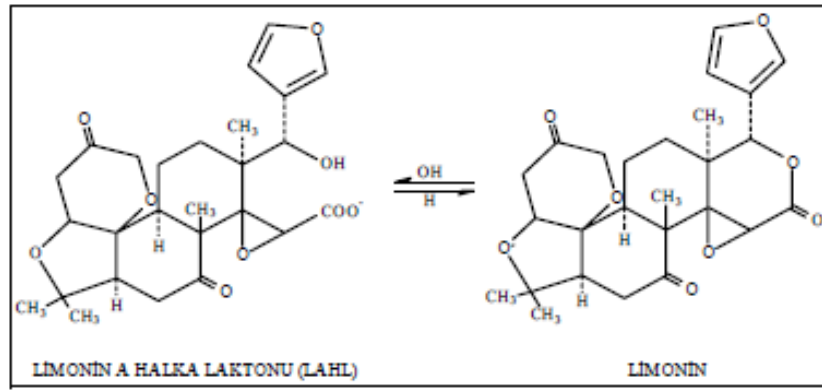
Limonin, kapalı formülü $C_{26}H_{30}O_8$, moleköl ağırlığı 470.52 ve erime noktası 290-292°C olan, beyaz kristal yapılu bir bileşendir. Limonin; alkol, aseton ve benzende çözünürken, petrol eterinde kısmen çözünmektedir. Suda ise 6 mg/L gibi çok düşük bir düzeyde çözünmektedir. Limonin, alkali toprak metalleri ile tatsız tuzlar oluşturmaktadır. Fakat bu tuzlar, pH 6 ya da 7'nin altında, acı formdaki dilakton formuna dönüşmektedirler (**Higby, 1938**).



Şekil 2.3: Limonin kimyasal yapısı (**Altan, 1983b**).

Limonin bir acılık maddesidir. Washington (Navel) portakalı gibi bazı portakal çeşitleri bu bileşeni içermektedir. Limonin olgunlaşmamış birçok portakal çeşidinde bulunduğu halde, olgunlaşma ilerledikçe miktarı azalır ve bazı olgun portakal

çeşitlerinde bulunmaz. Ancak Washington portakal çeşidinde olgunlaşmış üründe de limoninin ön maddesi (prekursor) olan limonin monolakton (I) bulunur. Bu madde gerçekte acı değildir. Bilindiği gibi Washington portakalları çok beğenilen bir sofralık portakal çeşididir. Bununla birlikte portakalların preslenerek suyu çıkarılınca, kısa bir sürede son derece acı bir lezzet kazandıkları görülür. Bunun nedeni, meyvenin çıkarılması ile limonin monolaktonun asitle (pH:3) temas etmesi sonucu derhal ikinci bir lakton halkası eklenerek dilakton limonin (II) (limonin) denen acı maddenin meydana gelmesidir. Bu yüzden bu tip acılığa gecikmiş acılık denilmektedir (Altan, 1983a).

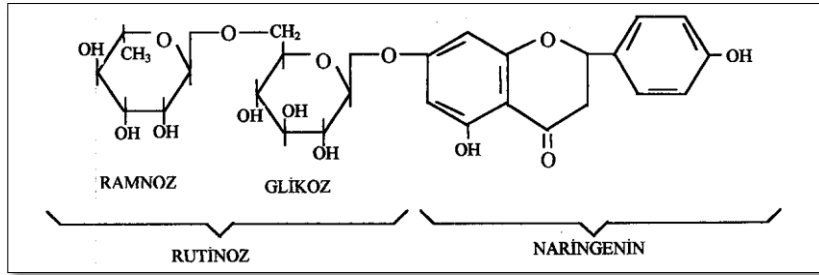


Şekil 2.4: Limonin oluşum mekanizması (Altan, 1983b).

Portakallarda diğer bulunan acılık bileşenleri ise flavonoidler grubudur. Flavonoidlerin insan fizyolojisi üzerindeki olumlu etkilerine ilişkin birçok makale yayımlanmıştır. Bu bileşikler bir süre P vitamini olarak adlandırılmıştır. Ayrıca bu bileşikler için biyoflavonoidler terimi de kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmacılar, flavonoidlerin kılcal damarların kopmaya mukavemetlerini arttırmak başta olmak üzere soğuğa dayanıklılık sağlamak, üst solunum yolları enfeksiyonları, bronşit astım, hemofili, ülser gibi bazı hastalıkların ve radyasyon yaralarının iyileşmesine yardımcı olmaya kadar uzanan birçok fizyoterapik özellikleri olduğunu bildirmektedirler. Flavonoidlerin karakteristik karbon iskeleti C₆- C₃- C₆ yapısındadır. C₆ kısımları aromatik halkalardır. Genellikle çeşitli atomlar taşırlar. Flavonoidin özel tipini C₃ karbon zincirinin strüktürel özellikleri ve oksitlenme düzeyi belirler. Flavon, flavonal, flavonon ve antosiyanlar turunçgil türlerinde bulunan flavonoidlerdir (Altan, 1983a).

2.4 Naringin

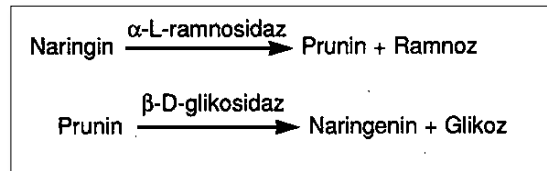
Turunçgil sularında acılık etmenlerinden bir grubu oluşturan flavonoidlerden en önemlisi naringindir. Bu bileşenin altıntopa kendine özgü tadını verdiği belirtilmektedir. Kimyasal yapısı Şekil 2.5’de gösterilmektedir. Naringin (4, 5, 7-trihidroksi flavonon-7-ramnoglikozit) turunçgillere acılık veren en önemli flavonoidlerden birisidir. Su, alkol ve asetonda çözünür. Naringinin saf su içerisindeki alt eşik değeri 20 ppm düzeyindedir. Erken sezon meyvelerinde acılık etmeni miktarı yüksekken, meyve olgunlaştıkça bu miktar azalmaktadır (**Puri ve Banerjee, 2000**).



Şekil 2.5: Naringinin kimyasal yapısı (Altan, 1983a).

Meyvede bulunan naringinin albedo, dilim zarları ve pulp, flavedoda bulunma oranı sırasıyla yaklaşık olarak % 50-60, % 30-40 ve % 5-10’dur. Meyve suyunda ise naringin % 1-3 oranlarında bulunmaktadır (Altan, 1983a).

Meyvedeki naringin meyve olgunlaştıkça α -ramnosidaz enzimi ile ramnoz ve prunine (4, 5, 7- trihidroksi flavonon -7- glukozit) parçalanır. Pruninin acılığı, naringin acılığının % 33’ü kadardır. İkinci aşamada ise prunin, β -glukozidaz enzimi tarafından naringenin (4, 5, 7- trihidroksi flavonon) ve D-glukoza hidrolize edilerek acılık azaltılır. Bu reaksiyon Şekil 2.6’da gösterilmiştir (Puri ve Banerjee, 2000).



Şekil 2.6: Naringinin naringinaz tarafından degradasyon basamakları (Puri ve Banerjee, 2000).

Naringin az miktarda bulununca greyfuftlara özgü acımsı hoş bir lezzet verir. Fakat fazla miktarlarda bulunduğu son derece acı bir tat meydana getirmektedir.

Naringin özellikle meyvenin kabuğunda, merkez ekseninde ve dilim zarlarında bulunmaktadır. Meyve suyunun çıkarılması sırasında bu kısımların mekanik zedelenmesi sonucu ve işlemin diğer aşamalarında uygulanan ısıtma nedeniyle meyve suyuna az veya çok miktarda naringin geçebilmektedir (**Puri ve Banerjee, 2000**).

2.5 Acılık Bileşenlerinin Uzaklaştırılması

Turunçgil sularında başlıca acılık etmenleri olan naringin ve limoninin uzaklaştırılmasında uygulanan yöntemler fizikokimyasal ve biyoteknolojik olarak iki temel grupta toplanabilir.

Acılık etmenlerinden naringin, limonin ve diğerlerinin uzaklaştırılmasında farklı adsorbantların kullanımı, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, ultrafiltrasyon ve değişik reçinelerden yararlanılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan adsorbantlar Çizelge 2.3'de yer almaktadır.

Çizelge 2.3: Turunçgil sularının acılığının giderilmesinde kullanılan bazı adsorbantlar ve etki ettikleri acılık etmenleri (**Aksay ve Ünal, 2002**).

Kullanılan Adsorbant	Etki Ettiği Acılık Etmeni
Polistren divinil benzen	Naringin Limonin Neohesperidin Narirutin
β-siklodekstrin polimerleri	Naringin Limonin Nomilin Naringenin Kumarin
Selüloz mono fosfat	Naringin
Selüloz tri asetat	Limonin
Florisil (aktif magnezyum)	Naringin Limonin
Poliamid reçine	Limonin
Naylon (naylon-6 ve naylon-66)	Naringin
Diatome toprağı	Limonin
Polistren iyon değiştirici reçine	Limonin

Turunçgil sularının acılığının giderilmesi amacıyla, Amberlite XAD-4 ve XAD-16, Amberlite XAD-16 reçineleri ile muamele edildiğinde meyve sularının çok düşük maliyetle üretilebileceğı bildirilmiştir. Navel portakal ekstraktları, hidrofilik adsorbant içeren kolondan geçirildiğinde limonin miktarının düştüğü ve bu uygulamanın meyve suyunun kimyasal yapısında olumsuz hiçbir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir (**Wilson ve ark.,1989; Kimball, 1990**).

Turunçgil ürünlerinde naringin, limonin ve nomilinden kaynaklanan acılığın giderilmesinde β -siklodekstrin polimerleri ve türevleri (maltosil- β -siklodekstrin vb.) de başarıyla kullanılan bileşiklerdir. β -siklodekstrinin ve farklı polimerlerinin acılık gidermedeki etkisi ise bu bileşenin naringin ve limoninin ile kompleks oluşturması şeklinde açıklanmıştır (Aksay ve Ünal, 2002).

Acılık gidermede uygulanan diğer bir yöntem de süperkritik CO₂ ekstraksiyonudur. Yapılan çalışmalarda ortalama 1.5 saatlik bir ekstraksiyon sonunda limonin niceliğinin 30-60 °C arasındaki sıcaklıklar ve 3000-6000 psi arasındaki basınçlar arasında % 25 oranında azaldığı kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışmada en iyi ekstraksiyonun 40 °C'de 4000 psi basınçta ve 4 saatlik işlem sonunda elde edildiği ve limonin niceliğinin 17.6 ppm'den 6.9 ppm'e düştüğü belirtilmektedir (Kimball, 1987).

Fizikokimyasal yöntemlerin dezavantajları şu şekildedir (Aksay ve Ünal, 2002):

- ✓ Kimyasal veya fiziksel adsorpsiyon sırasında meyve suyunun kimyasal yapısı az da olsa etkilenmektedir. Sonuç olarak; besin kaybı, tat ve renkte kayıplar ortaya çıkabilmektedir.
- ✓ Bazı durumlarda kullanılan materyalden meyve suyuna bir bulaşma durumula karşılaşılabilir.
- ✓ Yöntemler kesikli çalıştığından zaman kaybı olmakta ve verim düşük olmaktadır.

Turunçgil sularındaki acılık etmenlerinin mikroorganizmalar veya enzimler yardımıyla kısmen veya tamamen parçalanarak acı olmayan formlara dönüştürüldüğü yöntemleri, "biyoteknolojik yöntemler" adı altında toplamak mümkündür. Limonin acılığının giderilmesinde mikroorganizmaların kullanımına 1970'lerde başlandığı bilinmektedir. Turunçgil sularındaki acılık etmenlerinin uzaklaştırılmasında model substrat ve doğrudan meyve suyu üzerinde serbest ve immobilize enzim sistemlerinin kullanımı üzerine çalışmalar mevcuttur. Naringin acılığının giderilmesinde naringinaz; limonin acılığının giderilmesinde limonin-D- halka lakton hidrolaz (limonin dehidrojenaz) immobilize enzimlerinden, nomilin acılığının giderilmesinde ise serbest nomilin asetil liyazdan yararlanılmaktadır (Aksay ve Ünal, 2002).

Naringinaz, α - ramnozidaz ve β - glukozidaz aktivitesine sahip bir enzimdir. Turunçgil sularında, naringinden kaynaklanan acılığı gidermede etkili olduğu belirtilmektedir. En kaliteli naringinaz, *Aspergillus niger* tarafından üretilmektedir. Naringin miktarını, uygulama süresine bağlı olarak önemli oranda azalttığı bildirilen enzim immobilizasyonunda en uygun destek materyalinin Na-alginat olduğu ifade edilmektedir (Puri ve Banerjee, 2000).

Çizelge 2.4: Acılık gidermede kullanılan bazı enzim sistemleri (Puri ve Banerjee, 2000).

Enzim	Destek Materyali	Kullanım Şekli	Substrat
Naringinaz	Selüloz asetat	Kolon reaktör	PNPR*
	Çitin	Kesikli sistem	Naringin
		Kolon reaktör	PNPR
	Glikofaj kaplı cam	Kolon reaktör	Naringin
	Poliakrilamid jel	Kesikli sistem	Prunin
	Ca-alginat		Naringin
Limonin-D-halka-lakton hidrolaz	Q-sepharose jel	Kolon reaktör	Limonin
Nomilin asetil-liyaz	Serbest enzim	Kesikli reaktör	Nomilin

Polifenol bileşiklerinin ekstraksiyonunda etkin olduğu ifade edilen bir enzim olan viskozim-L bu amaçla turunçgillerde ve dolayısıyla portakallarda acılığa sebep olan fenolik bileşenlerden naringin için kullanılır. Viskozim-L; Beta gluknaz, hemiselülaz, arabinaz, ksilanaz, selülaz aktivitelere sahip multi enzim kompleksidir (Akin ve ark., 2007; Zheng ve ark., 2009).

Biyoteknolojik yöntemlerin dezavantajları ise şöyle sıralanabilir (Aksay ve Ünal, 2002):

- ✓ İmmobilizasyon teknikleri enzim aktivitesinin incelenmesi yönünde kullanışlıdır. Fakat acılık giderme kinetiği oldukça yavaş olduğundan büyük ölçekli üretim için uygun olmamaktadır.
- ✓ Optimum şartlardan biraz sapılması durumunda, immobilize enzimin kolondan yıkanması veya inaktivasyonu söz konusu olabilmektedir.

- ✓ Turunçgil sularının pulplu yapısı limonin ve naringinin uzaklaştırılmasına engel olabilmektedir. Bu sorunun meyve suyunun işlem öncesi durultulmasıyla önlenebileceğinin söz konusu olduğu belirtilmektedir.
- ✓ Kolonda birikinti olması, basınç düşmesi gibi sorunlar, doğru akış debisinin bulunmasını ve bazı mühendislik parametrelerinin bilinmesini gerektirmektedir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Naringin miktarının belirlenmesi ve bu bileşenden kaynaklı acılığın giderilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda materyal olarak Limkon Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. tesislerinde kabuğu sıkılarak üretilen portakal konsantresi soğuk zincirle getirildi (Şekil 3.1). Örnekler analize alınmaya kadar -18 °C’ de muhafaza edildi. Bu çalışmada kullanılan portakal konsantresi temin edilen firma tarafından yapılmış olan kimyasal analizlere göre sitrik asit cinsinden 3,80 asitliğe (% w/w sitrik asit) ve 3,71 pH değerine sahiptir.



Şekil 3.1: Portakal konsantresi örneği

Naringin acılığının enzim uygulaması ile giderilmesinde kullanılan enzimler ve analizlerde kullanılan sarf malzemeleri Çizelge 3.1’de gösterilmektedir. Denemeler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları ve gereçleri ise Çizelge 3.2’ de belirtilmektedir.

Çizelge 3.1: Denemeler sırasında kullanılan bazı kimyasal maddeler ve elde edildikleri firmalar

Kimyasal maddenin adı	Firma adı	Ürün kodu
Naringin	SIGMA	N136-25G
Naringinaz	NOVOZYMES	KTN0227
Viskozim-L	-	153.06.10311
Asetik asit	MERCK	1.00063.2511
Asetonitril	MERCK	1.00030.2500
N,N Dimethyl formamide	MERCK	1.03034.2500
di Ammonium Oxalate Monohydrate	MERCK	6009-70-7-250G

Çizelge 3.2: Denemeler sırasında kullanılan laboratuvar cihazları ve gereçleri

Cihaz / Gereç Adı	Marka
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	AGILENT TECHNOLOGIES 1200 SERIES
Refraktometre	REICHERT
Ultra Saf Su Cihazı	SARTORIUS STEDIM BIOTECH
Ultrasonig Yıkama Makinası	BANDELIN SONOREX
Analitik Hassas Terazî	GR200
Çelik Filtrasyon Sistemi	SARTORIUS
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	DRAGON LAB MS-H-S
Su Banyosu	STUART
0.45 µm Membran Filtre	MACHEREY-NAGEL

3.2 Metot

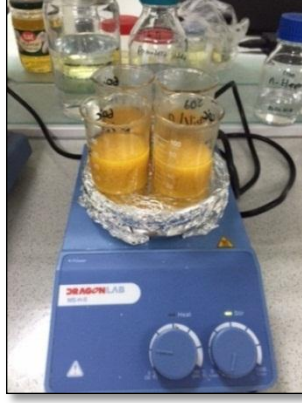
3.2.1 Naringin Acılığının Giderilmesi için Yapılan Denemeler

Çalışmada 56 briksteki portakal konsantresi örnekleri yapılan analiz metoduna uygun olarak ultra saf su ile seyreltildi ve Reichert marka refraktometre ile briksi 11.8 brikse ayarlandı. Acı portakal suyunda naringin acılığının giderilmesi için bu numunelere değişik konsantrasyonlarda (% 0.1, % 0.3, % 0,5) naringinaz ve viskozim-L ilave edilerek, üç saat süre ile değişik sıcaklıklarda (45,50,55,60 °C) bekletilmek üzere Çizelge 3.3’de gösterilen şekilde deneme grupları oluşturuldu.

Çizelge 3.3: Deneme grupları

Uygulama Sıcaklığı				
	45° C	50° C	55° C	60° C
ENZİM MİKTARLARI	% 0.1 Naringinaz	% 0.1 Naringinaz	% 0.1 Naringinaz	% 0.1 Naringinaz
	% 0.1 Viskozim-L	% 0.1 Viskozim-L	% 0.1 Viskozim-L	% 0.1 Viskozim-L
	% 0.3 Naringinaz	% 0.3 Naringinaz	% 0.3 Naringinaz	% 0.3 Naringinaz
	% 0.3 Viskozim-L	% 0.3 Viskozim-L	% 0.3 Viskozim-L	% 0.3 Viskozim-L
	% 0.5 Naringinaz	% 0.5 Naringinaz	% 0.5 Naringinaz	% 0.5 Naringinaz
	% 0.5 Viskozim-L	% 0.5 Viskozim-L	% 0.5 Viskozim-L	% 0.5 Viskozim-L

Çizelge 3.3’de görüldüğü gibi her bir sıcaklık parametresi için 6 farklı deneme grubu oluşturuldu. Şekil 3.2’de gösterilen örnekler üç saat süre ile Dragon Lab Ms-H-S marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda bekletildi.



Şekil 3.2: Enzim ilavesi yapılan seyreltilmiş portakal konsantresi örnekleri

3.2.2 Naringin Standartlarının Oluşturulması

Saf naringinden (Sigma, N136-25G) $120 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ konsantrasyonunda Merck marka olan DMF ve Asetik asit kimyasalları ile (DMF)/0.01 M Asetik asit (1/4) oranında stok çözeltisi 15, 20, 25, 30, 35 ppm konsantrasyonlarında seyrelterek standartlar hazırlandı. Hazırlanan standartlar için; Agilent 1200 Series marka HPLC’de C18 kolon kullanıldı. 20\80\2.5 oranında hazırlanan Asetononitril \ Su\ Asetik Asit mobil fazı ile 280 nm dalga boyunda, $1.00 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ akış hızı olacak şekilde uygun şartlar sağlandı. Standartlar Fisher and Wheaton Metoduna göre hazırlandı. (**Fisher ve Wheaton, 1976**).

3.2.3 HPLC ile Naringin Analiz Metodu

Naringin Analizi İçin HPLC Şartları

HPLC : Agilent 1200 Series

Kolon : C18 HD (250 x 4 mm; 5 μm gözenek çapı)

Mobil Faz : 20\80\2.5 : Asetononitril \ Su\ Asetik Asit

Dalga Boyu: 280 nm (UV Detector)

Akış hızı : $1.00 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$

İşlem Süresi : 8 dakika

HPLC ile naringin analizi Fisher and Wheaton Metoduna göre yapıldı (**Fisher ve Wheaton, 1976**). Şekil 3.3’ de HPLC’ye verilmeye hazır örnekler görülmekte ve

bunlar Fisher and Wheaton metoduna uygun olarak hazırlandı. 10 ml örneğe 10 ml DMF, 10 ml 0,025 M amonyum okzalat ve 20 ml ultra saf su ilave edilerek 90 °C’ de 10 dakika bekletilerek enzim inaktive edildikten sonra oda sıcaklığına gelen numuneler 0,45 µm membran filtreden geçirildi. Bu şekilde 20 µL örnek HPLC’ye enjekte etmeye hazır hale getirildi.



Şekil 3.3: HPLC’ ye verilmeye hazır hale getirilen örnekler

3.2.4 Panel Testi

Deneme gruplarına ait portakal suyu örneklerinin tattaki acılığın giderilip giderilmediği seçilen 4 kişilik bir panel tarafından değerlendirildi. Panelistlere toplamda üç saat olmak üzere, saat başı olacak şekilde tattırılan örneklerde tatta acılaşıma olup olmadığını göz önüne alınarak Şekil 3.4’de gösterilen değerlendirme formu üzerine işaretleme yapmaları istendi.

PANELİST DEĞERLENDİRME FORMU			
Panelist No		Deneme No	
.....			
Kriter	Grup	Puanlama	
TAT	1.saat	-	+
	2.saat	-	+
	3.saat	-	+

- Kabul Edilemez, + Mükemmel

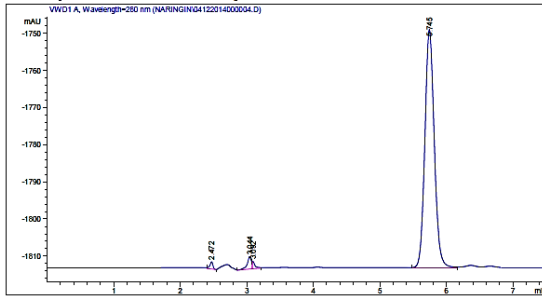
Şekil 3.4: Panelist değerlendirme formu

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

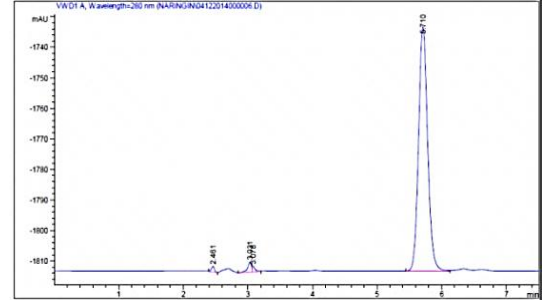
Üç farklı yüzde oranlarında (% 0.1, % 0.3, % 0.5), dört farklı sıcaklık parametresinde ve iki tür enzimle ayrı ayrı muamele edilen 24 adet 11,8 briksteki portakal suyu numuneleri üç saat ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda bekletilerek, bu örneklerden bir saat aralıklarla numune alınarak HPLC cihazında naringin miktarındaki azalma belirlendi. Bu çalışmada denemeler iki kez tekrarlı olarak alınarak, bulunan değerlerin ortalamaları hesaplandı.

4.1 Naringin Standartlarının Oluşturulması

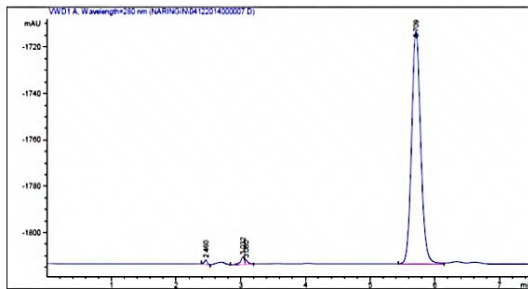
Fisher and Wheaton metoduna göre 15-35 ppm konsantrasyon aralığında hazırlanan naringin standart çözeltilerinin HPLC kromotogramları Şekil 4.1'de (A-15 mg/L; B- 20 mg/L; C-25 mg/L; D-30 mg/L; E-35 mg/L) verilmektedir. Ayrıca 15-35 ppm arasındaki HPLC alan sonuçları Çizelge 4.1'de görülmekte ve bu verilere göre naringin konsantrasyonu ile alan arasındaki ilişki Şekil 4.2'de verildi.



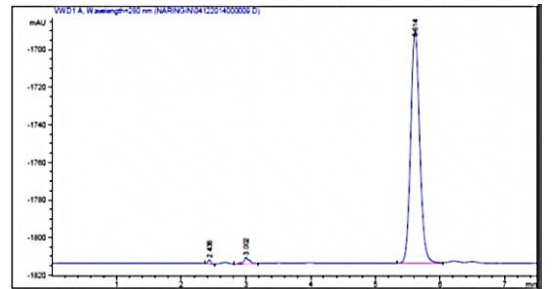
A



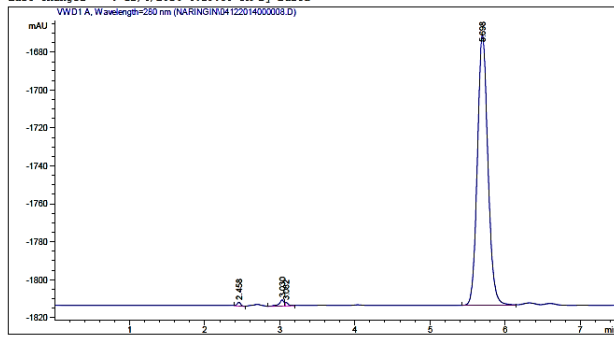
B



C



D

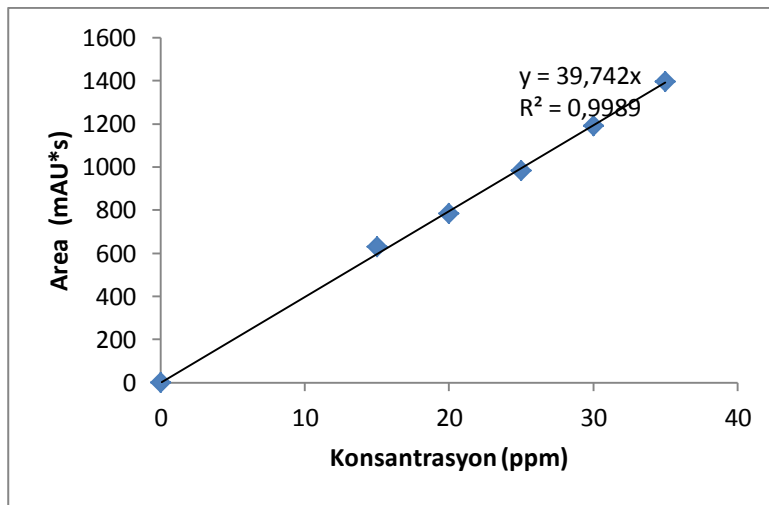


E

Şekil 4.1: Naringin standart çözeltilerine (A-15 mg/L; B-20 mg/L; C-25 mg/L; D-30 mg/L; E-35 mg/L'lik naringin çözeltileri) ilişkin HPLC kromotogramları

Çizelge 4.1: Standartlara karşılık elde edilen piklerin alan değerleri

Naringin Konsantrasyonu (ppm)	Alan (mAU*S)
15	629,245
20	782,949
25	982,536
30	1189,57
35	1393,771

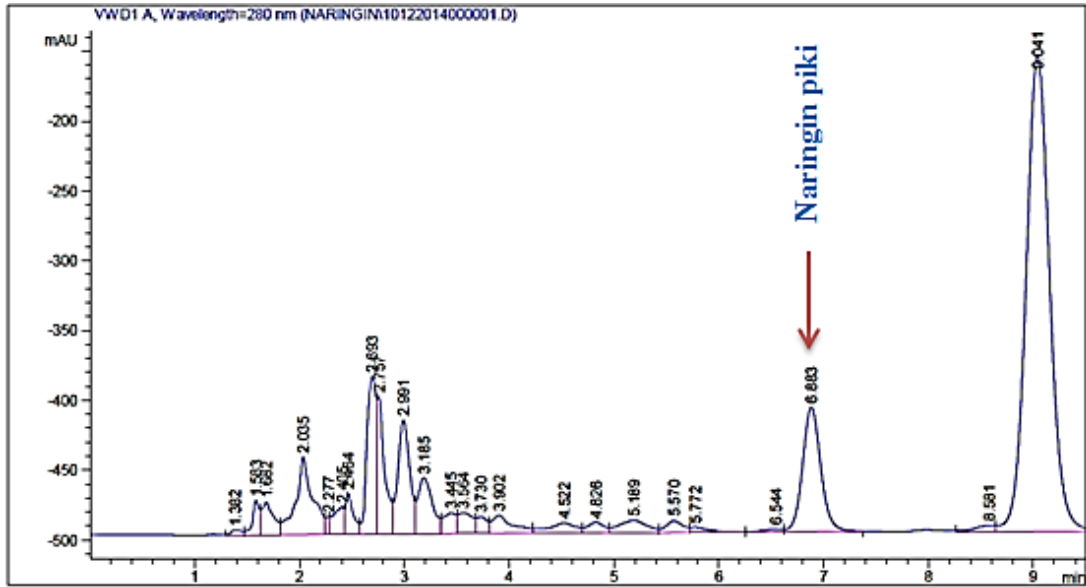


Şekil 4.2: Naringin standart eğrisi

Seyreltilmiş portakal konsantresi örneklerindeki naringin miktarı, standart naringin çözeltilerinin alıkonma sürelerinden ve bu çözeltilerin her birinin konsantrasyonuna karşılık gelen pik alanlarından yararlanılarak belirlendi.

4.2 Örneklerin HPLC ile Naringin Analizi Sonuçları

Enzim ilave edilmeyen 11,8 briksteki portakal suyunda bulunan naringin miktarı 27,04 ppm olarak bulundu ve bu verinin elde edildiği kromotogram Şekil 4.3’de yer almaktadır. Bu kromotogram, çalışmada portakal suyunun başlangıçta ne kadar naringin içerdiğinin ve yapılan denemelerle enzim ilavesi ile naringin içeriğinin ne kadar giderilebileceğinin anlaşılabilmesi bakımından önem taşımaktadır.



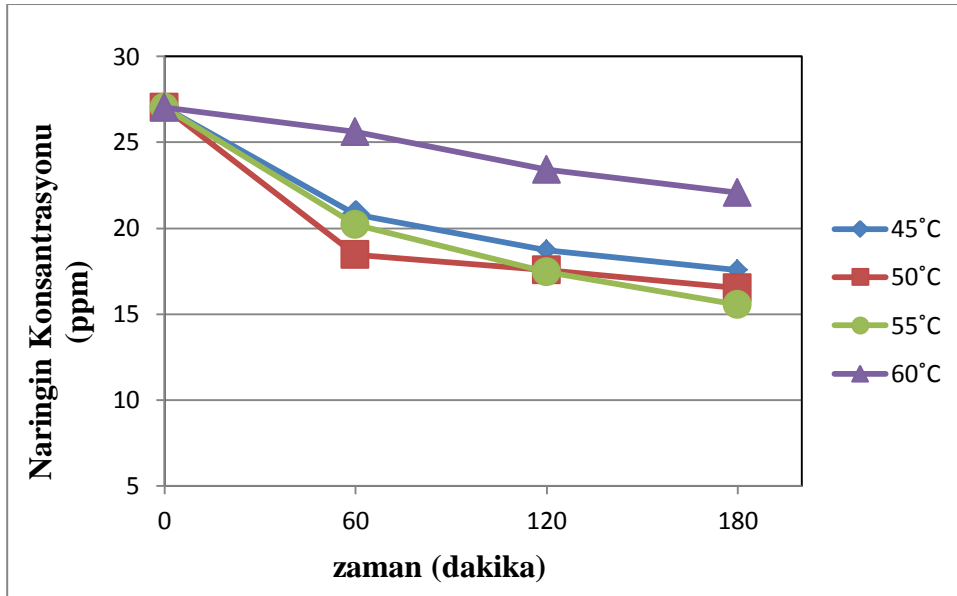
Şekil 4.3: Enzim ilavesi olmayan kontrol örneğinin HPLC kromotogramı ve naringin piki

% 0.1 oranında naringinaz ilave edilen örneklerin dört farklı sıcaklık parametresinde (45, 50, 55, 60°C), bir, iki ve üçüncü saatlerde yapılan naringin analizi sonuçları Çizelge 3.5’de gösterilmektedir. Elde edilen verilere göre 11,8 briksteki portakal suyunda başlangıçta 27,04 ppm olan naringin konsantrasyonunda 55 °C sıcaklıkta % 42.49 azalma olduğu belirlendi. En uygun sıcaklığının 55 °C olduğu bu bulgular diğer enzimlerden pekninaz ile paralellik oluşturmaktadır (**Rehman ve ark., 2013**).

Çizelge 4.2: % 0,1 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	20,82	% 23.00
A	2 Saat	18,73	% 30.73
A	3 Saat	17,56	% 35.05
B	1 Saat	18,47	% 31.69
B	2 Saat	17,54	% 35.13
B	3 Saat	16,50	% 38.97
C	1 Saat	20,22	% 25.22
C	2 Saat	17,44	% 35.13
C	3 Saat	15,55	% 42.49
D	1 Saat	25,60	% 5.32
D	2 Saat	23,42	% 13.38
D	3 Saat	22,08	% 18.34

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)



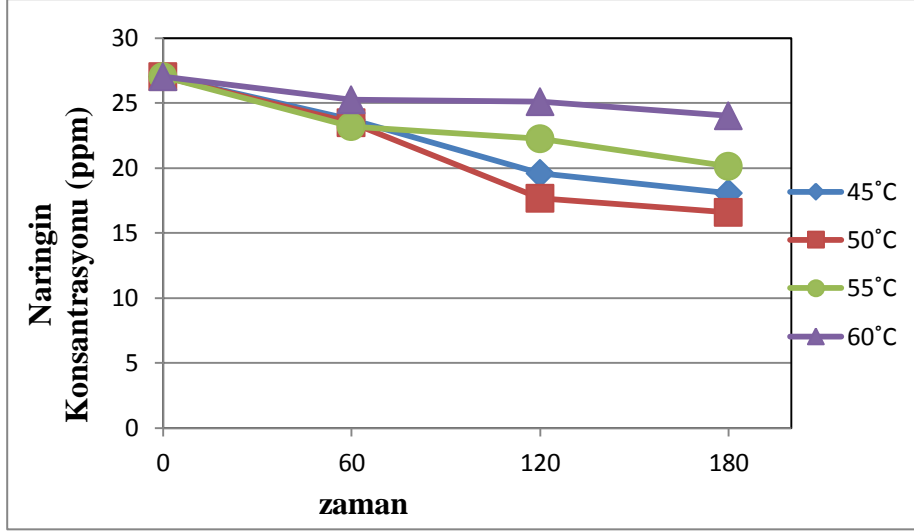
Şekil 4.4: % 0.1 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

% 0.1 oranında naringinaz içeren örneklerin zamana bağlı naringin konsantrasyonundaki değişim Şekil 4.4' de yer almaktadır. Örneklerdeki başlangıçta mevcut olan naringin miktarı düşünüldüğünde azalmanın en iyi 55 °C' de gerçekleştiği ve bunun da üç saat sonunda % 42.49'lik bir oranla meydana geldiği görüldü. Diğer örneklerde de yaklaşık olarak % 23 ile 38 aralığında bir azalma mevcuttur. Üç saat sonundaki azalma bir ve ikinci saatlere oranlara biraz daha fazla olmaktadır. % 0.1 oranında naringinaz ilavesi dört farklı sıcaklık parametresine bakıldığında naringin üzerinde azaltıcı etkiyi en iyi 55 C'de meydana getirdiği, 60 °C sıcaklığa çıkıldığında ise naringindeki azalmanın diğer oranlara göre azaldığı görüldü. Bu sonuçlara göre naringinaz enziminin 60 °C'de aktivitesini kaybettiği düşünülmektedir.

Çizelge 4.3: % 0,1 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen alan değerleri

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	23,73	12.24
A	2 Saat	19,61	27.47
A	3 Saat	18,09	33.09
B	1 Saat	23,48	13.16
B	2 Saat	17,69	34.45
B	3 Saat	16,61	38.57
C	1 Saat	23,21	14.16
C	2 Saat	22,24	17.75
C	3 Saat	20,15	25.48
D	1 Saat	25,28	6.50
D	2 Saat	25,10	6.98
D	3 Saat	24,05	11.05

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)



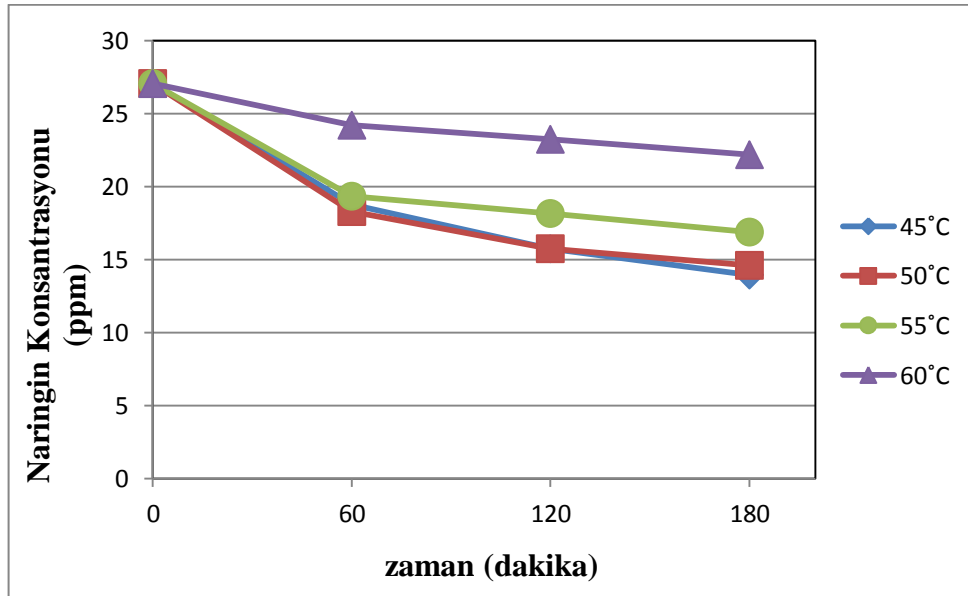
Şekil 4.5: % 0.1 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

% 0.1 oranında viskozim-L ilave edilen örneklerin 4 farklı sıcaklık parametresinde (45, 50, 55, 60°C), bir, iki ve üçüncü saat sonundaki HPLC ile naringin analizi sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.3 'de ve bu örneklerin zamana bağlı naringin konsantrasyonundaki değişim Şekil 4.5 'de verildi. 45°C'de tutulan örneklerde başlangıçtaki 27,04 ppm naringin içeriği ilk saatte 23,73 ppm değerine kadar düşme gösterirken üç saatlik sürenin sonunda bu değer 18,09 ppm'e düştüğü belirlendi. 50°C' de ise ilk saatteki azalma 45°C'deki ile benzerlik gösterdi ve 23.48 ppm konsantrasyonuna indiği belirlendi. Ancak üçüncü saatin sonunda tespit edilen naringin içeriği ise 16,61 ppm'dir. Diğer bir ifade ile 45 °C'deki azalmadan daha iyi olduğu görüldü. 55°C'lik sıcaklık parametresinde bekletilen örneğe bakıldığında ilk saatteki naringin içeriği diğer örneklerin ilk saatlerindeki konsantrasyonuna benzerlik gösterdi ve miktarının 23,21 ppm değerine indirildiği bulundu. Bu sıcaklık parametresinde bekletilen örneğin üç saatlik süre sonundaki analizi ile görülen naringin miktarı ise 20.15 ppm'dir. 60°C'de tutulan örnekte ise üç saat sonundaki naringin miktarı 24,05 ppm olarak bulundu. % 0.1 oranında viskozim-L enzimi ilave edilen örneklerde 45 ve 50°C' de sonuçların diğer 55 ve 60°C'lik sıcaklık parametrelerine göre daha iyi olduğu görüldü. Viskozim-L enziminin en uygun sıcaklığının 45 ve 50 °C'ler olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.4: % 0,3 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	18,76	% 30.62
A	2 Saat	15,75	% 41.75
A	3 Saat	13,95	% 48.40
B	1 Saat	18,26	% 32.47
B	2 Saat	15,74	% 41.78
B	3 Saat	14,59	% 46.04
C	1 Saat	19,35	% 28,43
C	2 Saat	18,16	% 32.84
C	3 Saat	16,88	% 37.57
D	1 Saat	24,53	% 9.28
D	2 Saat	23,10	% 14.57
D	3 Saat	22,03	% 18.52

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)

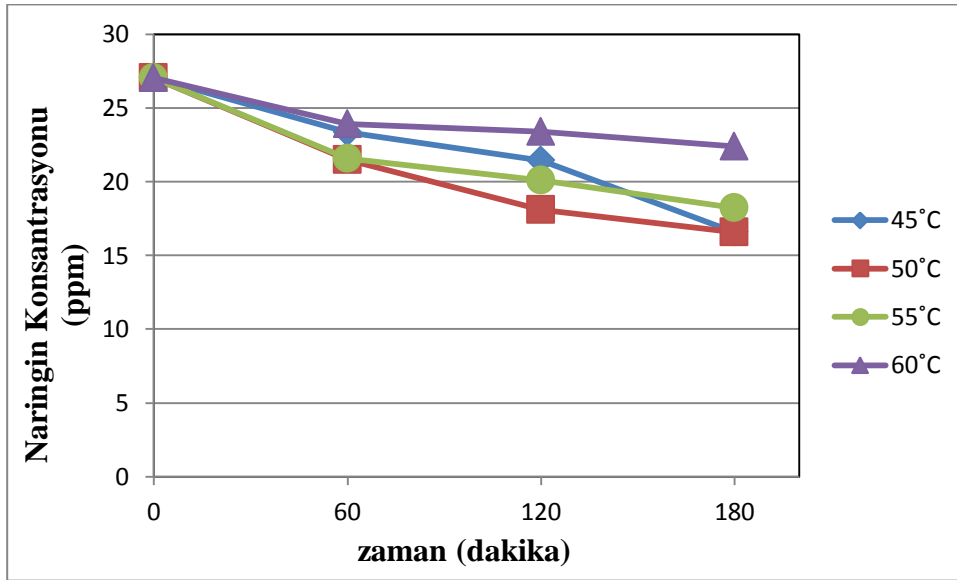


Şekil 4.6: % 0.3 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

Çizelge 4.5: % 0,3 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	23.33	13.72
A	2 Saat	21,44	20.71
A	3 Saat	16,57	38.72
B	1 Saat	21,50	20.48
B	2 Saat	18,09	33.09
B	3 Saat	16,58	38.68
C	1 Saat	21,55	20.30
C	2 Saat	20,08	25.73
C	3 Saat	18,24	32.54
D	1 Saat	23,89	11.64
D	2 Saat	23,40	13.46
D	3 Saat	22,41	17.12

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)

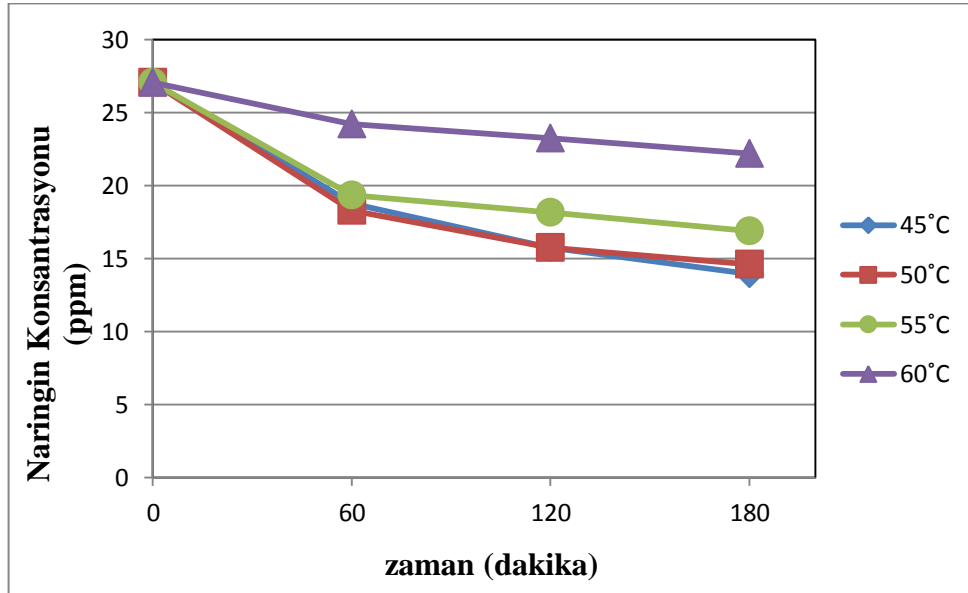


Şekil 4.7: % 0.3 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

Çizelge 4.6: % 0,5 Naringinaz içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	16,47	39.09
A	2 Saat	14,87	45.00
A	3 Saat	11,44	57.69
B	1 Saat	17,25	36.20
B	2 Saat	14,01	48.18
B	3 Saat	11,60	57.10
C	1 Saat	19,44	28.10
C	2 Saat	17,25	36.20
C	3 Saat	16,97	37.24
D	1 Saat	24,19	10.53
D	2 Saat	23,25	14.01
D	3 Saat	22,19	17.93

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)

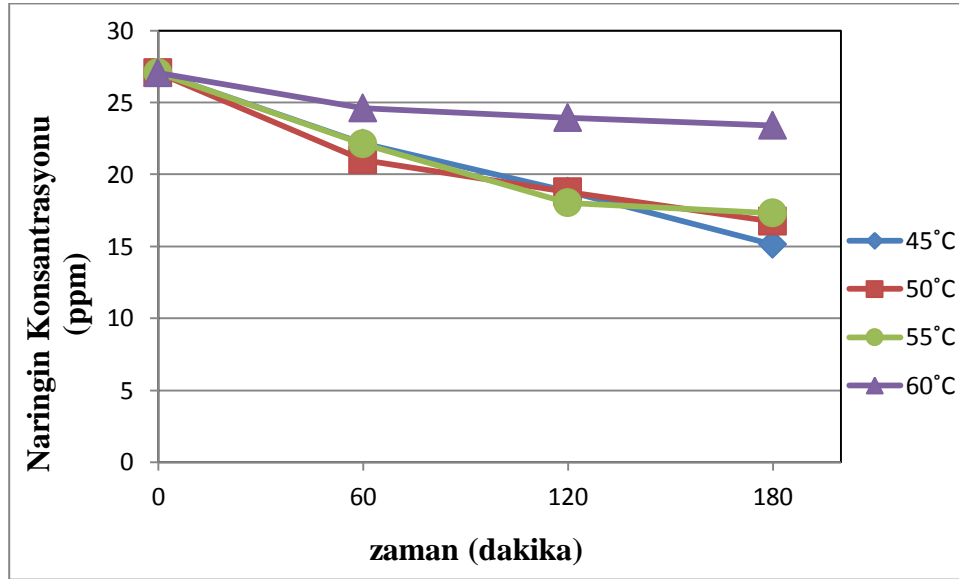


Şekil 4.8: % 0.5 oranında ilave edilen naringinaz enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

Çizelge 4.7: % 0,5 Viskozim-L içeren ve farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin HPLC ile analizi sonucu elde edilen değerler

Numune Adı*	Uygulama Süresi	Tespit edilen Naringin Konsantrasyonu (ppm)	% Azalma Oranı
KONTROL	-	27,04	
A	1 Saat	22,16	18.04
A	2 Saat	18,82	30.39
A	3 Saat	15,13	44.04
B	1 Saat	20,98	33.50
B	2 Saat	18,76	30.62
B	3 Saat	16,72	38.16
C	1 Saat	22,12	18.19
C	2 Saat	18,00	33.43
C	3 Saat	17,32	35.94
D	1 Saat	24,58	9.09
D	2 Saat	23,95	11.42
D	3 Saat	23,41	13.42

* : A (45° C); B (50° C); C (55° C); D (60° C)



Şekil 4.9: % 0.5 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin naringin konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim

% 0.3 ve % 0.5 oranlarında ilave edilen Naringinaz ve yine aynı oranlarda farklı örneklerle ilave edilen Viskozim-L enzimlerinin portakal suyundaki naringin

konsantrasyonunda meydana getirdiği değişim Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Bu iki enzimin naringin üzerine etkisini gösteren izelge 4.4, izelge 4.5, izelge 4.6, izelge 4.7 'deki verilere göre dört ayrı numunede eşit miktarlarda bulunan 11,8 briksteki portakal suyuna % 0.3 oranında eklenen naringinaz enziminin dört ayrı sıcaklıkta (45, 50,55, 60°C)  saat süre ile bekletilen örneklerin naringin içeriklerinde yaklaşık olarak % 9.28 ile % 48.40 aralığında bir azalma olduğu belirlendi. 45 °C'de tutulan numune bir saat sonunda naringin değerinin 18,76 ppm'e düştüğü görüldü. İki ve üç saat sonunda bu değerlerin sırasıyla 15,75 ve 13,95 ppm değerine düştüğü görüldü. 13,95 ppm'lik naringin miktarının başlangıçta 27,04 ppm olan naringin içeriğinde % 48.40'lık bir azalma meydana getirdiği sonucu elde edildi. 50 °C'lik sıcaklıkta tutulan örnekte ise; bir, iki, ve üç saatlik süre sonlarında sırasıyla 18,26 ppm, 15,74 ppm, ve 14,59 ppm değerlerine naringin indirgen-diği, 55 °C'lik sıcaklıkta tutulan numunede ise bu değerlerin daha yüksek oranda olduğu bulundu (izelge 4.4). 60 °C'de ise enzimin aktifliği daha da azalarak naringin içeriğindeki azalmanın % 9.28 ile % 18.52 aralığında olduğu görüldü. Bu sıcaklıkta enzim oranının arttırılmasının naringin indirgenmesine çok fazla etki etmediği görüldü.

Aynı oranda (% 0.3) fakat farklı bir enzim olarak vizkozim-L ile yapılan çalışmada dört ayrı numunede ise % 11.64 ile % 38.72 aralığında naringin azalma oranı saptandı. 45, 50, 55, 60 C'deki örneklerde ise bir saat sonundaki naringin içerikleri sırasıyla 23,33 ppm, 21,50 ppm, 21,55 ppm, 23,89 ppm iken, üçüncü saat sonunda bu değerler sırasıyla 16,57 ppm, 16,58 ppm, 18,24 ppm, 22,41 ppm olarak izlendi. Bu sonuçlara göre % 0.3 oranında viskozim-L enziminin en uygun sıcaklığının 45 °C'de olduğu görüldü. 60 °C'de naringin azalma oranı üçüncü saatte % 17 iken, 45 °C'de bu oran 38.72'dir. Bu da viskozim-L enziminin naringinaz enziminde olduğu gibi yüksek sıcaklıklarda etkisini azalttığı belirlendi. 45°C sıcaklıktaki etki 60 °C'ye göre 2.27 kat daha fazladır.

% 0.5 oranında naringinaz ilave edilen 45°C'deki örneğin başlangıçtaki 27,04 ppm naringin miktarından birinci saat sonunda 16,47 ppm'e, ikinci saatte 14,87 ppm'e, üçüncü saatte ise 11,44 ppm'e kadar düştüğü belirlendi ve üçüncü saat sonunda naringin değerinde en yüksek % 57,69 azalma olduğu belirlendi. 50, 55, 60 °C'lik sıcaklıklarda tutulan örneklerde birinci saat sonunda sırasıyla 17,25 ppm, 19,44 ppm, 24,19 ppm olan naringin değerleri sırasıyla üç saat sonunda 11,60 ppm, 16,97 ppm,

22,19 ppm olarak belirlendi. Azalma oranlarının üç saat sonunda tüm sıcaklıklar için daha yüksek olduğu sonucuna varıldı. Fakat diğer oranlarda ilave edilen enzimlerde olduğu gibi 60 °C’de ilave edilen enzimin naringin azalmasına etkisinin az olduğu görüldü.

% 0.5 oranında ilave edilen viskozim-L enziminin ise en iyi azalma oranını üçüncü saat sonunda % 44.04 oranla 45°C’de, en az azalmayı ise diğer örneklerde olduğu gibi % 9.09 oranla 60 °C’de verdiği, 50 ve 55 °C’lik sıcaklıklarda tutulan örneklerin en iyi naringin azalma oranını sırasıyla % 38.16 ve % 35.94 ile üç saat sonunda verdiği belirlendi.

4.3 Panelist Testi Sonuçları

4 ayrı paneliste yaptırılan tat analizi sonuçları Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9’ da yer almaktadır. Üç farklı oranda (% 0.1, % 0.3 ve % 0.5) naringinaz enzimi içeren ve dört ayrı sıcaklıkta üç saat bekletilen 11,8 briksteki portakal suyu örneklerinde panelistler tarafından saat başı panel testler yapıldı. Hiçbir enzim ilavesi yapılmayan kontrol örneğindeki acılık en düşük değer olan 1 olarak ele alındı. Buradaki acılık maksimum seviyede olduğu için denemeler sırasında acılığın azalıp azalmadığı kontrol örneği ile kıyaslanarak ele alındı. % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında naringinaz enziminin ayrı ayrı ilave edildiği 45 ° C’ de tutulan örneklerin birinci saatten itibaren acılığının kontrol örneğine göre azaldığı panelistler tarafından belirlendi. Panelist değerlendirme formunda işaretlenen noktalar ölçülerek 4 panelistin sonucunun ortalaması alındı. Üç farklı oranda naringinaz içeren 45°C’lik sıcaklıkta tutulan örneklerde yapılan tat analizi sonuçlarına bakıldığı zaman 10 üzerinden en iyi sonucun 5,65 olduğu ve bununda % 0.5 oranda ilave edilen enzim ile üç saat sonunda elde edildi. Diğer üç sıcaklık parametresinde ise en iyi sonuçlar üç saat sonundaki bekletme ile % 0.5 oranında naringinaz ilave edilen örneklerde elde edildi. Fakat genel bir değerlendirme yapıldığında 45 ile 55 °C’deki sıcaklıklarda tattaki acılığın diğer sıcaklıklara göre daha etkili olduğu belirlendi.

Çizelge 4.8: % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında 4 farklı sıcaklık parametresinde Naringinaz enzimi ile 3 saat bekletilen örneklerin tat analizi sonuçları

	60.dk		120.dk	180.dk
45 ° C	% 0.1	2,25	2,42	4,07
	% 0.3	1,55	2,45	5,5
	% 0.5	2,25	5,72	5,65
50 ° C	% 0.1	2,1	3,57	4,9
	% 0.3	2,0	2,5	4,37
	% 0.5	2,0	3,25	6,00
55 ° C	% 0.1	1,9	2,42	3,62
	% 0.3	2,1	4,0	5,5
	% 0.5	2,0	2,5	4,0
60 ° C	% 0.1	1,55	2,75	3,25
	% 0.3	2,25	2,0	3,07
	% 0.5	2,25	2,45	3,5

Çizelge 4.9: % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında 4 farklı sıcaklık parametresinde Viskozim-L enzimi ile 3 saat bekletilen örneklerin tat analizi sonuçları

	60.dk		120.dk	180.dk
45° C	% 0.1	1,85	2,0	3,0
	% 0.3	2,0	3,37	3,5
	% 0.5	2,0	3,37	4,0
50° C	% 0.1	1,72	1,85	4,5
	% 0.3	1,9	2,75	4,2
	% 0.5	2,27	3,75	3,37
55° C	% 0.1	2,25	2,9	3,75
	% 0.3	2,25	4	4,0
	% 0.5	2,5	4	5,2
60° C	% 0.1	2,0	2,4	2,5
	% 0.3	2,0	2,37	2,0
	% 0.5	2,4	2,6	3,75

5. TARTIŞMA

Turunçgil meyvelerinde acılık önemli bir sorun oluşturabilmektedir. Bu acılığın araştırılmasında 2 tip acılıktan söz edilmektedir. Başlıca acılık bileşenleri limonin ve naringin olmakla birlikte, bunlar arasında naringin üzerinde çok durulmaktadır. Bu çalışmada kabuğu ile birlikte sıkılmış acı portakal suyu örneklerinde naringin acılık ögesinin indirgenebilmesi için naringinaz, viskozim-L enzimleri ile değişik parametrelerde (45, 50, 55, 60°C'lik sıcaklıklarda ve % 0.1, % 0.3, % 0.5 oranlarda enzimle) çalışılarak üç saatlik bekletme sonunda naringin miktarındaki azalma araştırıldı. Portakal sularından saat başı olacak şekilde numune alınarak HPLC ile naringin miktarlarındaki indirgenmeler araştırıldı. Bir, iki ve üçüncü saatlerdeki naringin miktarları kontrol örneği ile kıyaslanarak portakal suyundaki naringin azalma miktarları incelendi.

45°C'de tutulan üç farklı orandaki (% 0.1, % 0.3, % 0.5) naringinaz ve viskozim-L enzimlerini ayrı ayrı içeren örneklerde her saat başı HPLC ile naringin tayini yapıldığında çıkan sonuç enzim miktarının ve bekletme süresinin artmasıyla naringin azalma oranının artmasıdır. 45°C'de ve % 0.3 oranda naringinaz her ne kadar viskozim-L den daha etkili olsa da her iki enziminde üç saat sonunda naringin üzerinde yaklaşık olarak % 40 'dan fazla oranda azalma sağladığı görüldü. 50 ve 55 °C'de yapılan denemeler sonucunda da buna benzer sonuçlar elde edildi. Fakat her iki enziminde 45, 50 ve 55 °C'de etkinliği % 25 in üzerinde iken 60 °C'de enzimler diğer sıcaklıklara göre daha az oranda indirgendiği bulundu. Eş zamanlı olarak panelistler tarafından yapılan tat değerlendirmesinde de 10 üzerinden en iyi sonucun 6 ile 50 °C'de bekletilen naringinaz içeren örnekte üç saat sonunda elde edildiği bulundu. Genel olarak tüm sıcaklıklar ve her iki enzim de değerlendirildiğinde kontrol örneğinde 1 olarak ifade edilen en acı oran bekletme süresi ve enzim miktarı arttıkça azalma gösterdi. Fakat 60 °C'deki bekletme de her iki enzimde bulunduğu örneklerde acılığın azalmadığı panelistler tarafından ifade edilerek bunların sonuçlarla da birbirini desteklediği görüldü. Bu yapılan çalışmada naringin acılığı % 57.69 oranına kadar azaltılabildi. Bu çalışmada panelist testi ve HPLC ile yapılan

analizler birbirini desteklemekte ancak acılığın tamamen giderilememesi nedeni diğer acılık bileşenlerinin de var olmasıdır.

Turunçgillerde bulunan acılık etmenlerinin araştırılmasına ilişkin bir çok çalışma mevcuttur. Burada bahsedilen yalnızca naringin acılığı olmayıp, limonin gibi acılık bileşenleri üzerine de birçok araştırma yapıldığıdır. Acılık giderme işleminde enzim sistemlerinin yanı sıra β -siklo dekstrin gibi polimerler, reçinelerden de yararlanılmıştır. **Mongkolkul ve ark. (2006)** *Citrus Reticula*' da 3 gram β -siklo dekstrin kullanarak oda sıcaklığında kolon prosesi ile limonin acılığını giderdikleri çalışmada % 94 oranında bir azalma, 15 gram ilavede ise % 90 oranında bir azalma olduğunu belirtmektedirler. **Aksay ve Ünal, (2002)** yapılan bir çalışmada β -siklo dekstrin polimer jeli bir kolon içerisine konarak ve akışkan yatak prensibi ile meyvesuyundaki acılığın giderilmesi üzerine çalışılmıştır. β -siklo dekstrin polimerleri naringini farklı oranlarda adsorplama özelliği göstermiştir. **Aksay ve Ünal, (2002)**. β -siklo dekstrinin acılık gidermedeki etkisinin, naringinin β -siklo dekstrin ile kompleks oluşturması şeklinde açıklanmıştır. **Kola, (2005)** tarafından Washington navel portakal sularındaki limonin acılığının giderilmesinin araştırılmasında limonin acılığı, "Amberlite XAD-16HP" ve "Dowex Optipore L285" ile başarılı bir şekilde giderilmiş ve kabul edilebilir düzeylerin altına indirilmiştir. Yapılan çalışmada belirtilen limoninin acılığının, "Amberlite XAD-16HP" ile % 97-100, "Dowex Optipore L285" ile % 95-99 oranında azaltıldığıdır. **Kranz ve ark., (2011)** greyfurt suyunda naringin, d-limonen ve diğer tat bileşenlerinin de içinde bulunduğu bir acılık giderme işlemi için XAD-7HP reçinesinin adsorbent/meyve suyu oranının % 3.6 'te ve 13.9 °C'deki kombinasyonla olabileceğini belirtmişlerdir.

Lee ve Kim, (2003) greyfurt konsantresinde acılık giderme işleminde XAD-16 adsorbenti ile % 78 den fazla oranda naringin bileşenini giderebildiklerini belirtmişlerdir.

Araştırmamızda kullanılan 11,8 briksteki portakal suyunda belirlenen naringin miktarı 27,04 ppm olduğu belirlendi ve bu miktar 20 ppm üzerinde olduğunda acılığın fazla hissedilebileceği diğer araştırmacılar tarafından belirtilmektedir **Altan, (1983a)**.

Turunçgil sularındaki acılık etmenlerinin uzaklaştırılmasında model substrat ve doğrudan meyve suyu üzerinde serbest ve immobilize enzim sistemlerinin kullanımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Naringin acılığının giderilmesinde naringinazdan

faydalanılmaktadır **Aksay ve Ünal, (2002). Tsen ve ark. (1989)** *Penicillium sp.*'den elde ettikleri naringinazı selüloz tri asetatı immobilize ederek bir kolon reaktörde aktivitesini incelemişlerdir ve sonuçta enzimin optimum pH 3.7 ve 55°C' de çalıştığını belirtmişlerdir. Bu çalışma araştırmamızda belirttiğimiz % 0.1 oranındaki naringinaz enziminin en iyi çalıştığı sıcaklık ile uyum içindedir. Ancak miktar % 0.3 ve % 0.5 oranına yükseltildiğinde en uygun sıcaklığın 45 °C olduğu belirlendi, buradaki farklılığın miktardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çeviker ve Ünal, (2005) Marsh Seedless ve Rio Red çeşidi altıntoplardan elde edilen meyvesularındaki acılığın giderilmesi için yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda naringinaz (0.25, 0.50, 0.75 ve 1 g/L) ve farklı sıcaklıklarda (25, 35 ve 40 °C) çalışmışlardır. Naringin gideriminin en iyi 1 g/L ile 40 °C'de 6 saatlik bir sürede olduğu ve duyuşal değerlendirmede panelistlerin kontrol örneklerini enzimle muamele edilmiş örneklerden ayırt edebildikleri belirtilmektedir, bizim araştırmamızda sıcaklığın belirtilen % 0.3 ve % 0.5 enzim miktarı ile uyum içinde olduğu, fakat % 0.1 oranında sapma olduğu görüldü. Bunun nedeninin de enzim aktivitesi farklılığından olduğu düşünülmektedir. Panel testinde kontrol örneğinde 1 olan acılık değeri panelistler tarafından denemelerdeki örneklerde 6 değerine ulaşmıştır. Bu da panelistlerin kontrol örneği ile enzim muamelesi yapılmış örneklerde farklılık bulduklarını ve acılık değerinin en acı değer olan 1'den farklı bulunduğunu gösterdi.

Yalım ve ark. (2004) taze sıkılmış 53 adet portakal suyu ve 87 adet kabuk suyunda naringin konsantrasyonunu inceledikleri bir çalışmada sırasıyla örneklerdeki naringin konsantrasyonu aralığını 0.12 - 2.63 mg L⁻¹ ve 0.50 - 15.7 mg L⁻¹ olarak ifade etmişlerdir. Ayrıca 85 dakikalık naringinaz (Km; 0.098 mM naringin, pH 4.0 ve 60°C) ile acılık giderme işleminden sonra % 38.5 oranında naringini hidrolize edildiği bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada 60 °C'de % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 oranlarında naringinaz ilave edilen numunelerde üç saatlik süre sonunda sırasıyla 11.05, 17.12, 13.42 yüzdelerinde naringinin indirgenebildiği bulundu. Naringinin bu sıcaklıkta daha az indirgenebilmesinin ortam pH'nın farklı olması ve ya enzim aktivitesinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada elde edilen verilere göre Viskozim-L; tüm oranlar ele alındığı zaman en iyi naringin giderimini % 0.5 oranında ilave ile 44.04 azalma yüzdesinde 45 °C'de

sağladığı bulundu. Yapılan araştırmalar viskozim-L'nin polifenol bileşiklerinin ekstraksiyonunda etkin olduğunu göstermektedir **Akin ve ark., (2007)**.

Bu araştırmada naringinaz ve viskozim-L enzimleri ile dört ayrı sıcaklık parametresinde (45, 50, 55, 60°C) ve u farklı oranda (% 0.1, % 0.3, % 0.5) u saatlik bir süre ile çalışılarak naringinden kaynaklı acılığın giderilmesi beklendi. Naringin içerikleri saat başı olacak şekilde u saat boyunca yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile tespit edilmiş olup yine saat başı olacak şekilde de panelistlere tat değerlendirmesi yaptırıldı. Çalışmada elde edilen bulgular sonucunda enzim miktarı arttıa naringin azalma oranının arttığı, enzimler için 45, 50, 55°C'lik sıcaklıkların uygun olabileceği ancak 60°C'deki sıcaklıkta enzimle muamele etmenin azalma üzerinde etkisinin az olduğu görüldü. Naringin yüzdesinde azalma olmasının nedeni 55 °C sıcaklığının üzerinde enzim aktivitesinin düşmesidir. Yapılan tat değerlendirmesinde de başlangıçtaki acılığın belli oranda azaldığını destekler sonuçlar alınmışsa da portakal suyu örneklerinin denemeler sonrasında hafif bir acılık içerdikleri belirlendi. Bunun da portakal konsantresinin kabuğuyla sıklıkla elde edilmiş olması ve portakaldaki bulunması muhtemel olan diğer acılık bileşenleri ile ilişkisinin olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akin, D.E., Condon, B., Sohn, M., Foulk, J.A., Dodd, R.B., Rigsby, L. (2007).** Optimization for Enzyme- Retting of Flax with Pectate Lyase, *Industrial Crops and Products*, 25: 136-146.
- Aksay, S., Ünal, M.Ü. (2002).** Turunçgil Sularında Acılık Etmenleri ve Giderilmesinde Kullanılan Yöntemler, *Gıda* 27 (6): 481-488.
- Altan, A. (1981).** Pastörize Portakal Suyu Üretiminde Ticari Pektinaz Preparatları Kullanılarak Verim ve Kaliteyi İyileştirme Olanakları Üzerinde Bir Araştırma, Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Doktora Tezi.
- Altan, A. (1983a).** Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olarak Naringin. *Gıda Dergisi* 8 (1): 29–32.
- Altan, A. (1983b).** Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olarak Limonin. *Gıda Dergisi* 8(3): 125–128.
- Altan, A. (1995).** Çukurova Bölgesinde Yetiştirilen Beş Portakal Çeşidinin Meyve Suyu Teknolojisi Bakımından Önemli Bazı Özellikleri. *Gıda Dergisi*, 20 (4): 215–225.
- Attaway, J. A., Carter, R. D. (1971).** Some New Analytical Indicators of Processed Orange Juice Quality. *Flo. State Hort. Soc.*, 84: 200–205.
- Baker, R. A., Bruemmer, J. H. (1970).** Cloud Stability in the Absence of Various Orange Juice Soluble Components, *The Citrus Industry*, January, 6-11.
- Barton, D. H. R., Pradhan, S.K., Sternhell, S., Templeton, J. F. (1961).** Triterpenoids. Parts XXV. The Constitution of Limonin and Related Bitter Principles. *J. Chem. Soc.*, 382: 255-275.
- Cemeroğlu, B. (1982).** Meyve Suyu Üretim Teknolojisi, Teknik Basım Sanayii, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Karadeniz, F. (2001).** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, 2- Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* No: 25, Ankara.
- Crandall, P. G., Matthews, R. F., Baker, R. A. (1983).** Citrus Beverage Clouding Agents – Review and Status. *Food Technology*, 106-109.
- Çeviker, Z., Ünal, M.Ü (2005).** Altıntop Suyundaki Acılığın Naringinaz Enzimi ile Giderilmesi, *Gıda Derg.*, 30 (5): 303-308.
- Emerson, O. H. (1949).** The Bitter Principle of Navel Orange. *Food Technol.*, 3: 248-250.
- Fellers, P. J., D.E Jager, G., Poole, M. J. (1986).** Quality of Retail Florida-Packed Frozen Concentrated Orange Juice as Determined by Consumers and Physical and Chemical Analyses. *J. Food Sci.*, 51 (5): 1187-1190.
- Fisher, J.F., Wheaton, T.A. (1976).** A High-Pressure Liquid Chromatographic Method for the Resolution and Quantitation of Naringin and Naringenin Rutinoside in Grapefruit Juice. *J. Agric Food Chem.* 24: 898-899.
- Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, BÜGEM Faaliyetleri (2014).** (<http://www.tarim.gov.tr>)

- Hasegawa, S., Bennett, R. D., Maier, V. P. (1984).** Biosynthesis of Limonoids in Citrus Seedlings. *Phytochemistry*, 23 (8): 1601-1603.
- Hasegawa, S., Berhow, M. A., Manners, G. D. (2000).** Citrus Limonoid Research: An Overview. *Citrus Limonoids: Functional Chemicals in Agriculture and Foods*. Mark A. Berhow, Shin Hasegawa and Gary D. Manners, ACS Symposium Series, 758.
- Herman, Z., Hasegawa, S. ve Ou, P. (1985).** Nomilin Acetyl- Lyase, a Bacterial Enzyme for Nomilin Debitting of Citrus Juices. *Journal of Food Science* 50, 118-120.
- Higby, R. H. (1938).** The Bitter Constituents of Navel and Valencia Oranges. *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (12): 3013-3018.
- Karabacak, N. (1995).** Çukurova Bölgesinde Yetiştirilen Marsh Seedless ve Red Blush Altıntop Çeşitlerinin Naringin ve Toplam Flavonoid İçerikleri ile Çeşitli Faktörlerin Bunlar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Kealey, K. S., Kinsella, J. E., 1979.** Orange Juice Quality and Emphasis on Flavour Components. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 11: 1-40.
- Kimball, D.A. (1987).** Debitting of citrus juices us-ing supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Science* 52 (2): 481-482.
- Kimball, D.A. (1990).** The Industrial Solution of Citrus Juice Bitterness, *Perfumer & Flavorist* 15 (2): 41-44.
- Kimball, D. A. (1991).** Citrus Processing Quality Control and Technology. An AVI Book, Published by Von Nostrand Reinhold Newyork, USA.
- Kola, O. (2005).** Portakal Sularındaki Limonin Acılığının Bazı Reçineler Kullanılarak Giderilmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Kranz, P., Adler, P., Kunz, B. (2011).** Investigation of Citrus Flavor Adsorption During Debitting of Grapefruit Juice Using Kinetic Modeling and Response Surface Methodology, *Food Sci. Biotechnol.*, 20 (3): 715-724.
- Lee, H.S., Kim, J.G. (2003).** Effects Of Debitting on Red Grapefruit Juice Concentrate, *Food Chemistry* 82: 177–180.
- Mongkolkul, P., Rodart, P., Pipatthitikon, T., Meksut, L., Sanguandeeul, R. (2006).** Debitting of Tangerine *Citrus Reticula* Blanco Juice by β -Cyclodextrin Polymer. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56(1-2): 167-170.
- Olsen, R.W., Moore, E.L., Wenzel, F.W., Huggart, R.L. (1977).** Oxidized Flavors in Frozen Citrus Concentrates, *The Citrus Industry*, 11-31.
- Puri, M., Banerjee, U.C. (2000).** Production, Purification, and Characterization of the Debitting Enzyme Naringinase, *Biotechnology Advances* 18: 207-217.
- Rehman, H.U., Aman, A., Silipo, A., Qader, S.A., Molinaro, A., Ansari, A. (2013).** Degradation Of Complex Carbohydrate: Immobilization Of Pectinase From *Bacillus Licheniformis* KIBGE-IB21 Using Calcium Alginate As A Support, *Food Chem.*, 15;139 (1-4): 1081.
- Sinclair, W. B. (1961).** The Orange Its Biochemistry and Physiology. Univ. of Calif. Press., Berkeley California, 435.

- Ting, S. V., Attaway, J. A. (1985).** Citrus Fruits (Chapter 3). Food Science and Technology, A Series of Monographs. Eds. By Hulme, A C.
- Ting, S. V., Rouseff, R. L. (1986).** Citrus Fruits and Their Products, Analysis Technology., Marcel Dekker, Inc., New York, 293.
- USDA, 2004.** USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16-1.
- Üstün, N. L., Şahin, İ. (1993).** Yerli Portakal Çeşitlerinin Karotenoid Yapıları Üzerinde Araştırmalar. Doğa – Tr. J. Of Agriculture and Forestry, 17: 939-952.
- Tsen, H.Y., Tsai, S.Y., YU, G.K. (1989).** Fiber Entrapment of Naringinase from *Penicillium sp.* And application to Fruit Juice Debittering. Journal of Fermentation and Bioengineering. 67(3): 186-189.
- Wilson, C.W., Wagner, C.J. Jr., Shaw, P.E. (1989).** Reduction of Bitter Components in Grapefruit and Navel Orange Juices with Beta-cyclodextrin Polymers or XAD Resins in a Fluidized Bed Process. Journal of Agricultural and Food Chemistry 37 (1): 14-18.
- Yağmur, C. (1997).** Turunçillerin Beslenmemizdeki Yeri ve Önemi, Sağlıkla İlişkisi. Türkiye Turunçgiller Kongresi Bildirileri, Adana.
- Yeşiloğlu, T., Çimen, B., İncesu, M., Yılmaz, B., Aka, Kaçar, Y., Şimşek Ö. (2013).** Turunçgil Sektörünün Gereksinim Duyduğu Yeni Çeşitlerin Geliştirilmesi, Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 6 (2): 127-132.
- Yahm, S., Özdemir, Y., Ekiz, H.İ (2004).** Naringin in Turkish Orange Juices and Its Reduction by Naringinase, Journal of Food and Drug Analysis, 12 (3): 273-276.
- Zheng, H.Z., Hwang, I.W., Chung, S.K. (2009).** Enhancing Polyphenol Extraction from Unripe Apples by Carbohydrate-Hydrolyzing Enzymes, Journal of Zhejiang University Science B, 10(12): 912-919.

İnternet Kaynakları

Url-1 <<http://www.fao.org>> alındığı tarih: 06.04.2015.

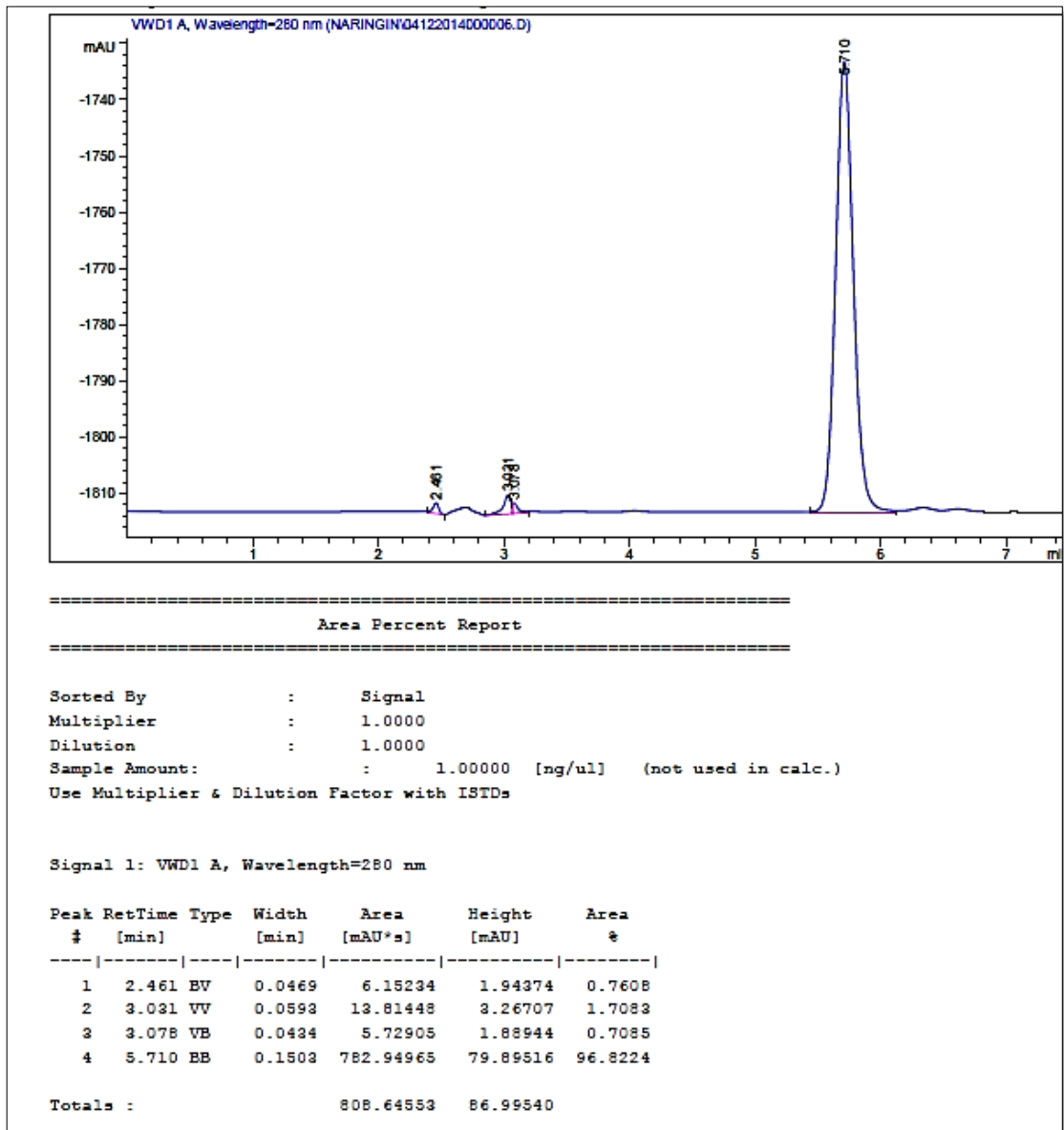
Url-2 http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=23137&tipi=42&sube=0 alındığı tarih: 06.04.2015.

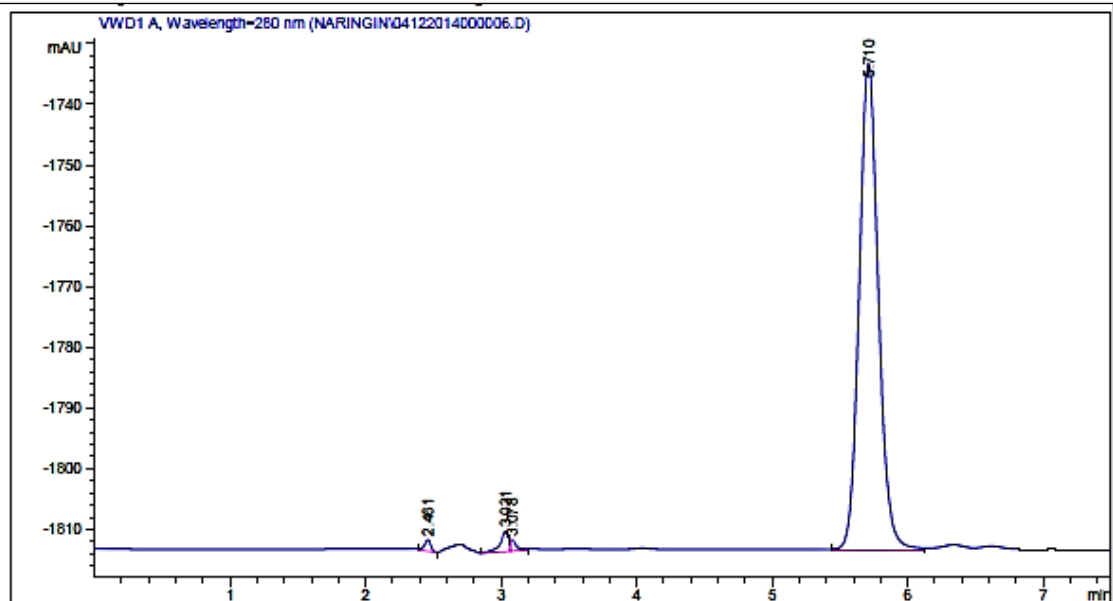
EKLER

EK A: Naringin standartlarına ait kromotogramlar (15, 20, 25, 30, 35 ppm)

EK B: Bazı deneme örneklerine ait naringin analiz kromotogramları

EK A



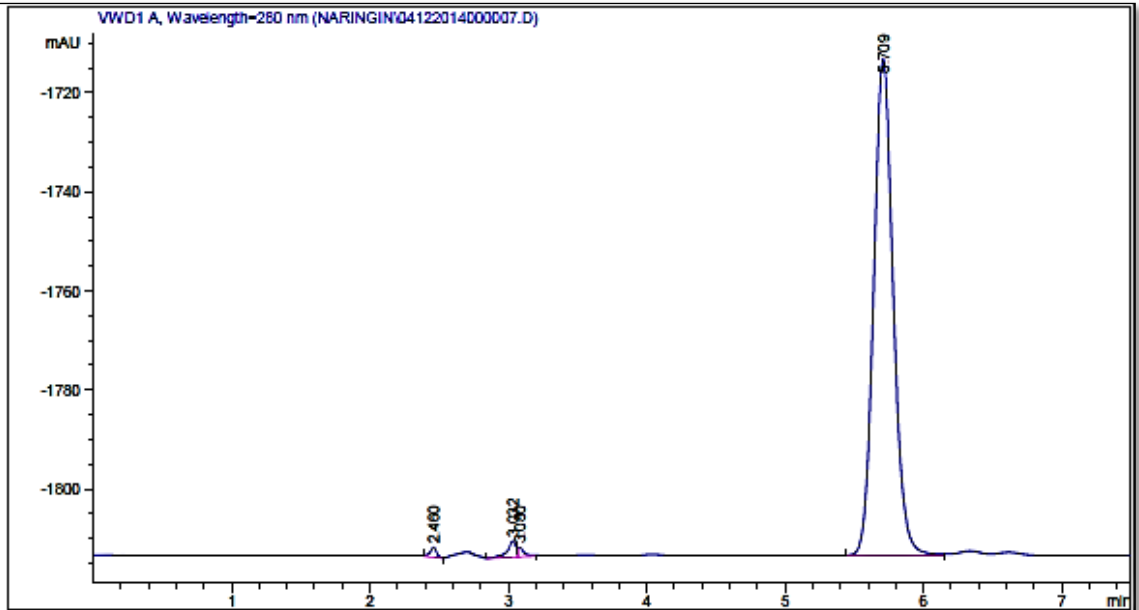


=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount: : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.461	EV	0.0469	6.15234	1.94374	0.7608
2	3.031	VV	0.0593	13.81448	3.26707	1.7083
3	3.078	VB	0.0434	5.72905	1.88944	0.7085
4	5.710	EB	0.1503	782.94965	79.89516	96.8224
Totals :				808.64553	86.99540	



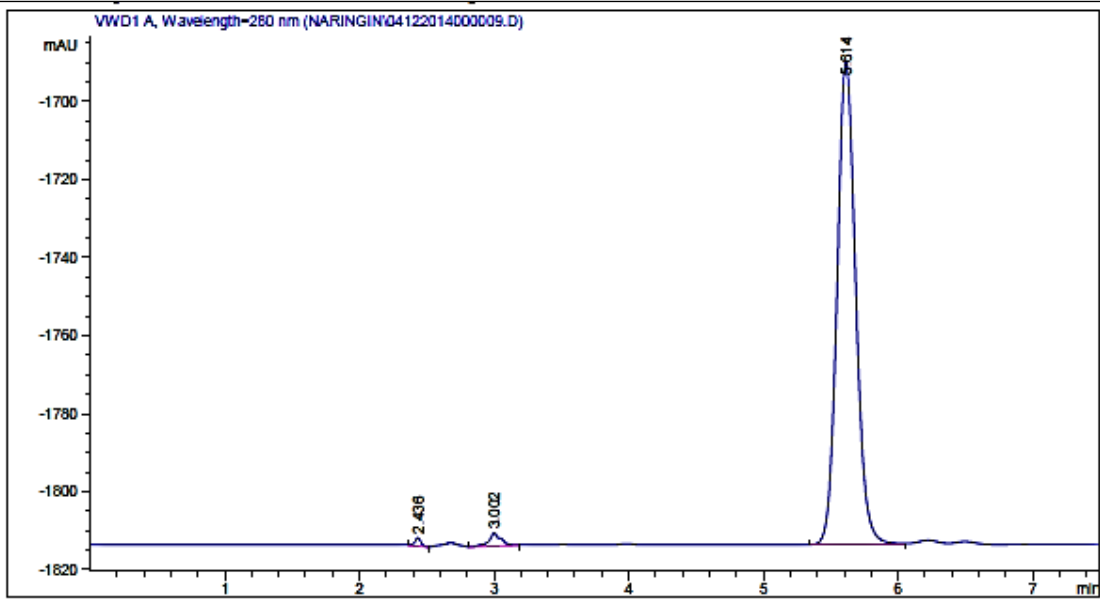
=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount: : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.460	BV	0.0469	6.20334	1.96168	0.6154
2	3.032	VV	0.0592	13.66062	3.23572	1.3552
3	3.080	VB	0.0432	5.61299	1.85349	0.5568
4	5.709	BB	0.1515	982.53687	100.18077	97.4726

Totals : 1008.01381 107.20166



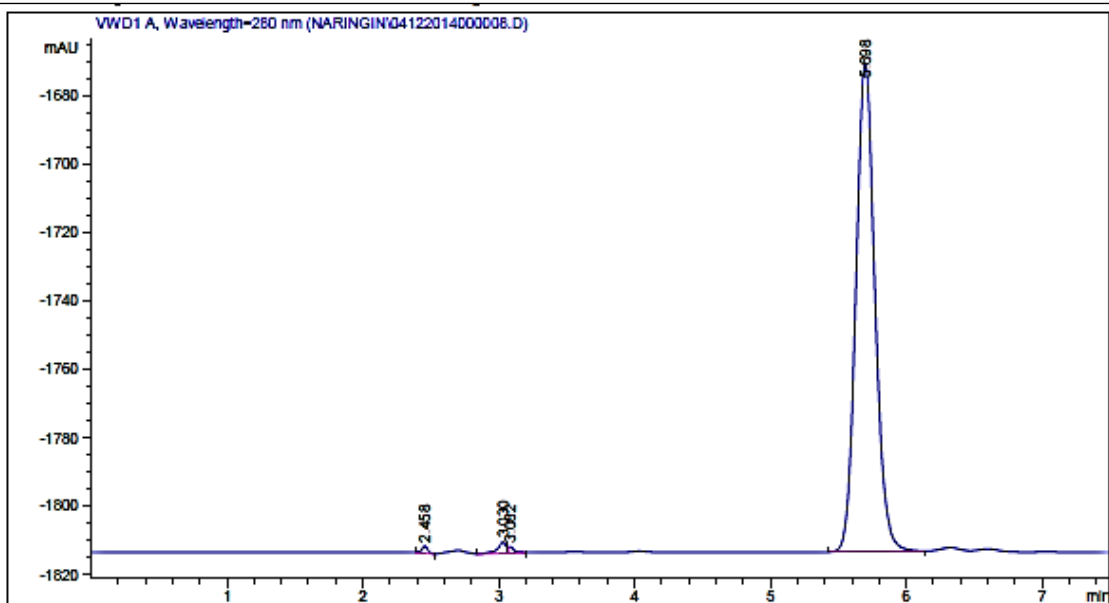
=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount: : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.436	BV	0.0476	6.81884	2.11358	0.5603
2	3.002	VB	0.0807	20.52345	3.38498	1.6865
3	5.614	BB	0.1481	1189.57080	123.84863	97.7531

Totals : 1216.91309 129.34719



=====
 Area Percent Report
 =====

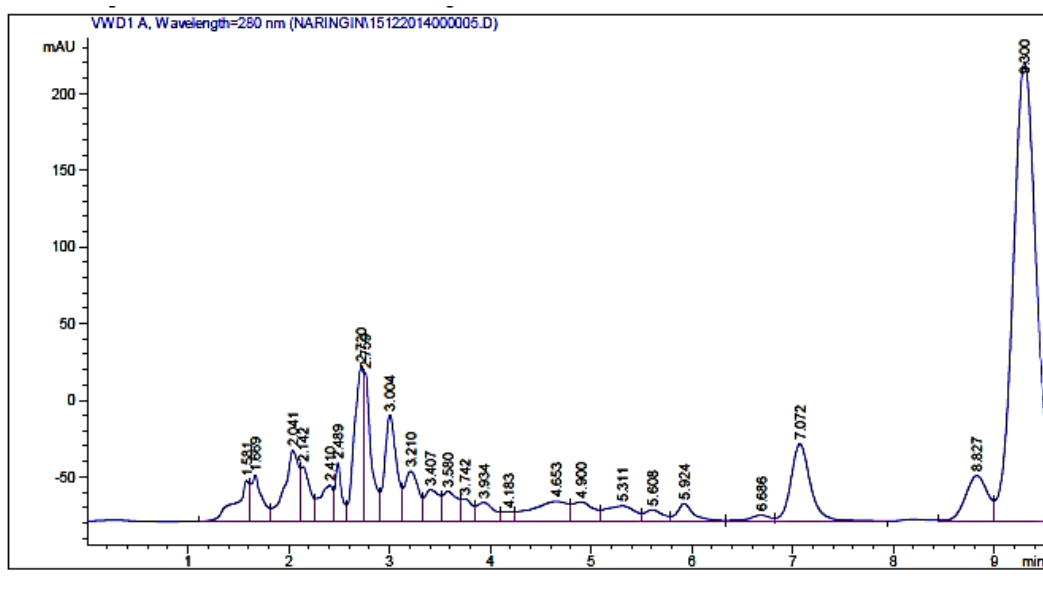
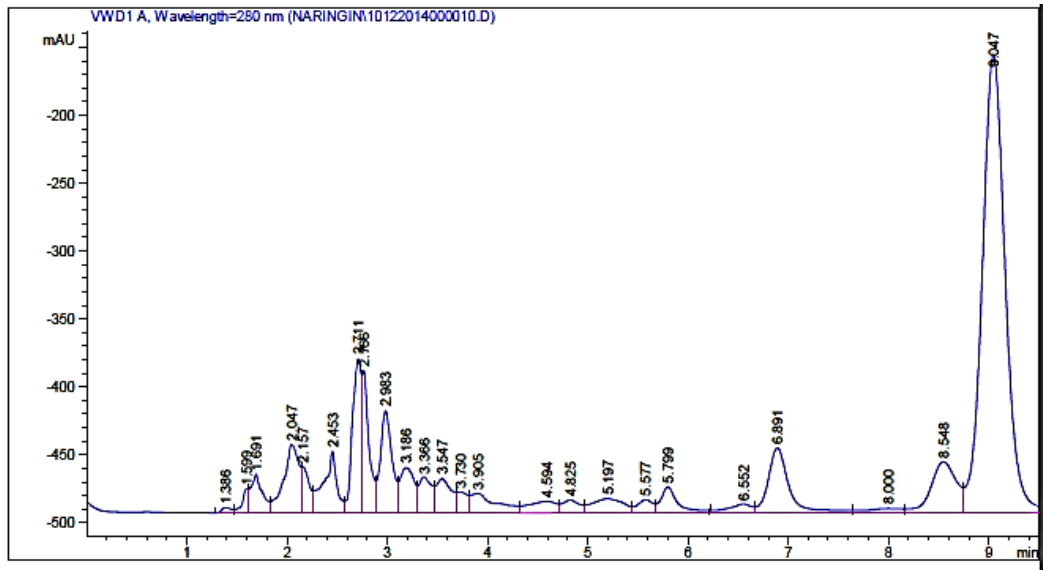
Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount: : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

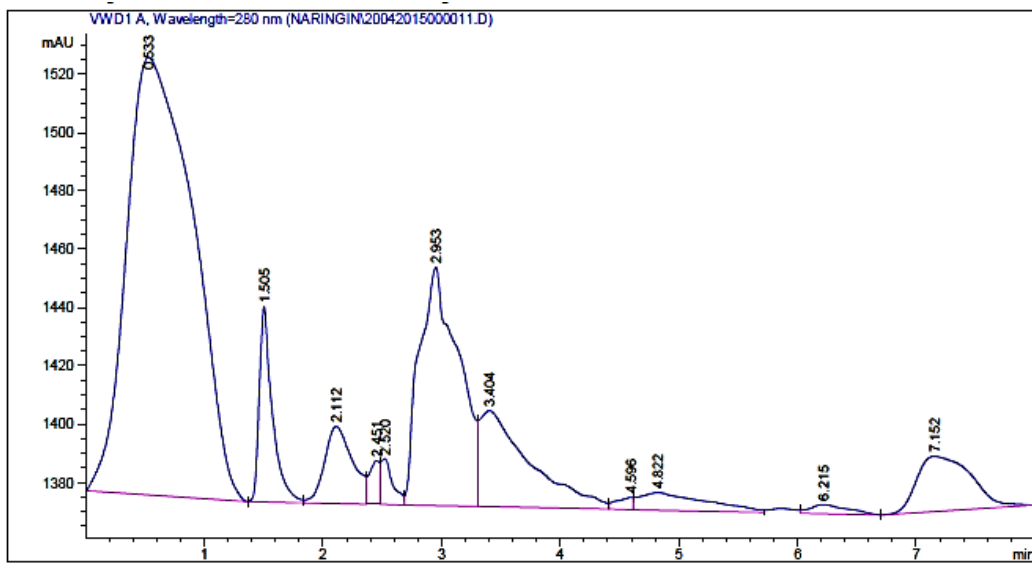
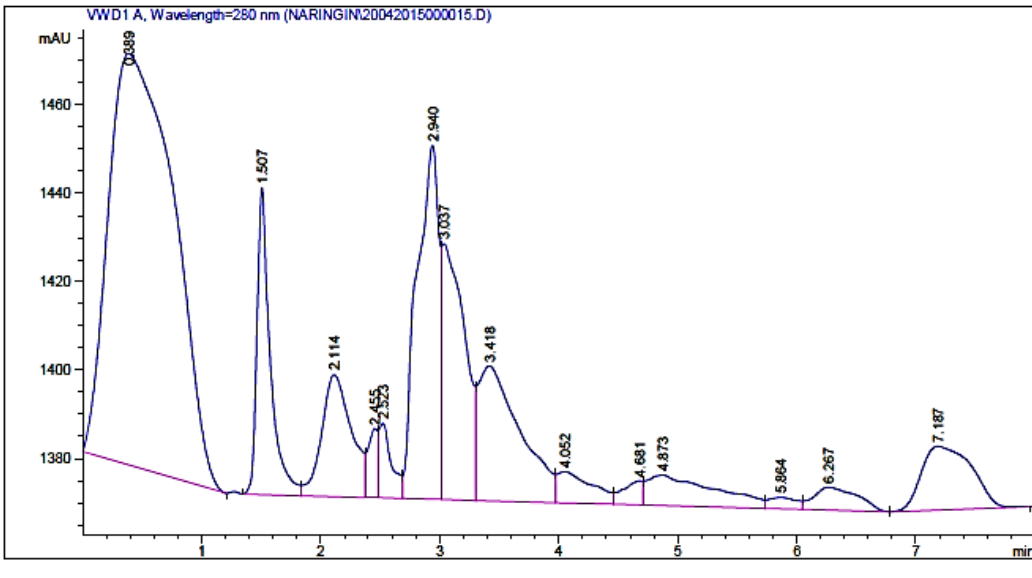
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=260 nm

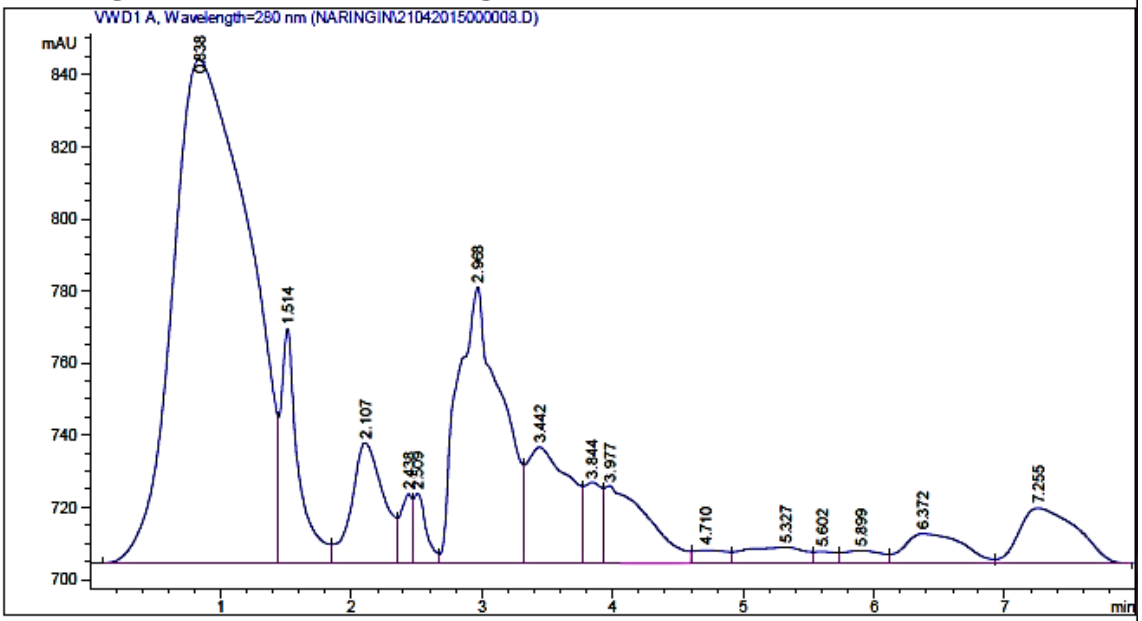
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.458	BV	0.0473	6.59192	2.06167	0.4643
2	3.030	VV	0.0611	13.92805	3.24331	0.9810
3	3.082	VB	0.0440	5.53104	1.79171	0.3896
4	5.698	BB	0.1500	1393.77185	142.63396	98.1652

Totals : 1419.82287 149.73066

EK B







ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad-Soyad: BURCU ESKİOCAK

Doğum Tarihi: 21/02/1990

e-mail: burcueskiocak@gmail.com



EĞİTİM BİLGİLERİ

- | | |
|------|---|
| 2007 | Özel Doğu Lisesi |
| 2013 | İstanbul Aydın Üniversitesi - Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü |
| 2015 | İstanbul Aydın Üniversitesi - Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü |

TEZDEN TÜRETİLEN BİLDİRİ ÖZETİ

- **Eskiocak, B., Karataş, Ş. (2015).** Portakal Konsatresinde Acılığın Enzimlerle Giderilmesi, 2. Uluslararası Tarım, Gıda ve Gastronomi Kongresi, syf 101-102, Nisan 8-12, Antalya.