

SHORT COMMUNICATION

ENZYMATISCH-OXIDATIVE VERÄNDERUNG VON LIMONEN BEI DER ZERSTÖRUNG DES ZELLVERBANDES VON FRÜCHTEN*

R. TRESSL, F. DRAWERT,† W. HEIMANN und R. EMBERGER

Institut für Lebensmittelchemie der Universität Karlsruhe und Institut für Chemisch-technische Analyse der Technischen Hochschule München, Freising-Weihenstephan, Germany

(Received 7 February 1970)

Abstract—Limonene, one of the major components of orange flavour, is changed during the destruction of cell structure in the fruits to a greater or less extent depending on biochemical factors. This enzymic-oxidative process can be inhibited by addition of 80% MeOH, trichloroacetic acid, CO₂ or quercetin.

Zusammenfassung—Limonen, eine der wesentlichsten Komponenten des Orangenaromas, wird beim Zerstören des Zellverbandes der Früchte in Abhängigkeit von biochemischen Faktoren mehr oder weniger stark umgebaut. Dieser enzymatisch-oxidative Vorgang kann, wie die Tabelle zeigt, inhibiert werden. Die im Prinzip dargestellten Prozesse sind von großer Bedeutung für die Aromagewinnung bzw. die Lebensmitteltechnologie.

LIMONEN ist eine typische Hauptaromakomponente des Orangenaromas.¹⁻³ Intakte Orangen geben Limonen als stärkste Komponente in den umgebenden Gasraum ab.³

Untersucht man Preßsäfte von Orangen gaschromatographisch, so stellt man fest, daß Limonen nur eine Komponente mittlerer Konzentration im Aroma darstellt. Auch handelsübliche, technologisch gewonnene Orangenaromakonzentrate enthalten wenig Limonen und sind in physiologischer Hinsicht (Geruch und Geschmack) oft unbefriedigend.

In einer Reihe von Aufarbeitungsversuchen mit und ohne Inhibierung der Enzyme konnten wir zeigen, daß Limonen ohne Inhibierung der Enzyme beim Homogenisieren von Orangen teilweise enzymatisch-oxidativ zerstört wird. Die Reaktion benötigt O₂ und ist durch Quercetin gut hemmbar. Die rein chemische Oxidation ist, wie die Versuche zeigen, innerhalb der gewählten Versuchszeiten gering.

Reife, intakte Jaffa Orangen enthielten bei Sofortinhibierung der fruchteigenen Enzyme mit Methanol nach 10 min Homogenisieren der Früchte etwa 1700 µg Limonen/100 g. Erfolgte die Inhibierung der Enzyme erst nach 10 min Homogenisieren unter Luftzutritt, so wurden für Limonen nur noch 700 µg ermittelt, d.h. nach 10 min sind bereits 60% des Limonens zerstört.

* Über die Biogenese von Aromastoffen bei Pflanzen und Früchten—IX. VIII. Mitteilung: R. TRESSL, F. DRAWERT, W. HEIMANN und R. EMBERGER, *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* im Druck.

† Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. F. Drawert, Institut für Chemisch-technische Analyse der TH München, 805 Freising-Weihenstephan, Germany.

¹ T. H. SCHULTZ, D. R. BLACK, J. L. BOMBEN, T. R. MOON und R. TERANISHI, *J. Food Sci.* **32**, 698 (1967).

² S. NORMAN, C. C. CRAFT und P. L. DAVIS, *J. Food Sci.* **32**, 656 (1967).

³ J. A. ATTAWAY und M. F. OBERBACHER, *J. Food Sci.* **33**, 287 (1968).

Auch in anderen Früchten wird Limonen beim Aufarbeiten der Früchte zu Aromakonzentraten zerstört, wenn nicht auf eine Inhibierung der Enzyme beim Zerstören des Zellverbandes geachtet wird. So ist Limonen in reifen *Erdbeeren* als eine Hauptaromakomponente enthalten (ca. 100 µg/100 g). Wir stellten dies erstmals gaschromatographisch nach entsprechender Aufarbeitung fest. Die Identifizierung von Limonen erfolgte dabei massenspektrometrisch.^{4,5} Auch in *Banane* konnte Limonen als Komponente mittlerer Konzentration mit der Kombination Gaschromatographie—Massenspektrometrie von uns erstmals nachgewiesen werden (ca. 10 µg/100 g). Der Gehalt von Limonen in Erdbeeren und Bananen variiert je nach Sorte und Reifegrad.

TABELLE 1. AUSWIRKUNG VERSCHIEDENER ENZYMINHIBITOREN AUF DIE ZERSTÖRUNG VON LIMONEN BEI ORANGEN

Inhibitor	Homogenisieren, min	Luftzutritt	Limonen, µg/100 g
Methanol, 80 %	10	+	1700
Methanol 80 %	10	+	1600
	Anschließend 15 Std bei 30°		
Trichloressigsäure, 2,5 %	10	+	1700
CO ₂	10	+	1900
Quercetin 0,1 %	10	+	1700
—	10	+	700
—	10	+	200
	Anschließend 15 Std bei 30°		

MATERIAL UND METHODEN

300 g Orangen (Jaffa) werden vorsichtig von den Schalen befreit und mit Phosphatpuffer wie beschrieben 10 min im Starmix homogenisiert. Anschließend wurde mit Methanol inhibiert, abgepreßt und die Aromastoffe unter Zusatz eines internen Standards 8 Stdn. mit Pentan-Methylenchlorid (2:1) extrahiert, schonend konzentriert und gaschromatographisch untersucht.

Bei *Sofortinhibierung* der Enzyme werden 300 g Orangen in Methanol 10 min homogenisiert und wie oben aufgearbeitet. Methodische Einzelheiten wurden von uns schon früher angegeben.⁶

Gaschromatographie (GC)

Geräte. Aerograph 1200 und 1520

Quantitative Bestimmung von Limonen

Trennsäule. 5 m ($\frac{1}{8}$ Zoll) 5% SE-30 (Silikongummi) auf Chromosorb W (60/80 mesh); Durchfluß 20 ml N₂/min; Temperaturprogramm 80–200° (2°/min).

Detektor. FID; 200°. Injektor: 200°. Probemenge: 3 µl.

Identifizierung durch Kopplung GC-MS

Trennsäule. 100 m (0,25 mm) Propylenglycol (Original Kapillarsäule Perkin-Elmer); Durchfluß 1,2 ml He/min; 80° isotherm.

Detektor. Totalionenstrom MS. Injektor: 200°; Split zur Säule 1:50.

Probemenge. 1 µl.

Kopplung. Über 1-stufigen He-trenner nach Watson und Bieman;⁷ T = 200°; Elektronenenergie 70 eV; Massendurchlauf 20–250 in 2,5 sec.

Massenspektrometer (MS)

CH 7—Varian MAT.

⁴ R. TRESSL, F. DRAWERT und W. HEIMANN, *Z. Naturforsch.* **24b**, 1201 (1969).

⁵ R. TRESSL, F. DRAWERT und W. HEIMANN, *Chromatographia* in Vorbereitung.

⁶ F. DRAWERT, W. HEIMANN, R. EMBERGER und R. TRESSL, *Chromatographia* **2**, 57 (1969).

⁷ J. K. WATSON und K. BIEMAN, *Anal. Chem.* **36**, 1135 (1964).