

MEYVE SUYU SANAYİNDE ENZİMATİK UYGULAMALAR

Filiz Uçan*¹, Asiye Akyıldız²

¹ Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği AbD, Adana

² Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana.

Geliş tarihi / *Received*: 14.06.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 19.07.2012

Kabul tarihi / *Accepted*: 21.08.2012

Özet

Pektik maddeler, hemiselüloz, selüloz, lignin ve nişasta gibi polimerler, polifenoller, proteinler, arabanlar, tanenler ve metaller gibi maddeler meyve suyunda bulanıklığa yol açmaktadır. Berrak ve stabil bir meyve suyu üretimi için bu kolloidler küçük moleküllerine kadar parçalanmalıdır. Bu amaçla kullanılan pektik enzimler; poligalakturonazlar, pektin esterazlar, pektin liyazlar ve pektat liyazlardır. Ayrıca selülazlar, hemiselülazlar, amilazlar ve arabanazlar gibi diğer enzimler de kullanılmaktadır. Bu sayede meyve suyu verimi, presleme ve durultma verimi artmakta, vizkositenin düşmesine bağlı olarak filtrasyon kolaylaşmakta ve daha berrak bir ürün elde edilmektedir. Bu derlemede özellikle önemli pektolitik enzimler, bunların substratları olan pektik bileşikler ve meyve suyu sanayinde bu enzimlerin kullanımı anlatılmıştır.

Anahtar kelimeler: Pektin, pektik maddeler, pektolitik enzimler, berrak meyve suyu

ENZYMATIC APPLICATIONS IN FRUIT JUICE INDUSTRY

Abstract

Turbidity in fruit juice is caused by polymers such as pectic substances, hemicellulose, cellulose, lignin and starch, and by some compounds such as polyphenols, proteins, arabans, tannins and metals. These colloids need to be degraded to small molecules for manufacturing a clear and stable fruit juice. Following are the pectic enzymes used for the degradation of these colloids; polygalacturonases, pectin esterases, pectin liyases and pectat liyases. In addition, cellulases, hemicellulases, amylases, arabanases and some other enzymes are also used for the degradation. The enzyme application increases fruit juice yield and press yield and improves clarification process, furthermore the filtration becomes easier and a clear product is obtained due to low viscosity. In this review, important pectolytic enzymes and their substrates including pectic compounds and use of these enzymes in the fruit juice industry are described.

Keywords: Pectin, pectic substances, pectolytic enzymes, clear fruit juice

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ucanfiliz@gmail.com,

☎ (+90) 541 569 2932,

☎ (+90) 322 338 6614

GİRİŞ

Meyve suyu üretiminde temel amaç, en yüksek randımana en yüksek üretim hızıyla, ürün dayanımı ve kalitesini geliştirerek ulaşmaktır. Bu amaca ulaşabilmek için kullanılan cihazlar, işleme tekniği ve özellikle enzimler önem taşımaktadır. Meyve suyu işlemede enzim uygulamaları, hızlı maserasyon ve depektinizasyon, daha fazla meyve suyu ekstraksiyonu, üzümü meyvelerde maksimum renk ekstraksiyonu, presleme süresince maksimum kapasite, filtrasyon oranında artış, hızlandırılmış sedimentasyon ve vizkosite azalması gibi avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca daha düşük işlem maliyeti, daha uygun işlem koşulu, turunçgil meyve suları için stabilize edilmiş bulanıklık, portakal ve limon gibi turunçgil meyve sularında albedo tabakası ile flavodonun soyulması gibi avantajlar da sağlanmaktadır. Bu enzimlerin başında pektin parçalayan enzimler, yani pektinazlar gelmektedir. Zaman içinde üretim teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak daha yoğun ve çeşitli enzimler kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca selülazlar, amilazlar ve hemiselülazlar gibi diğer enzimler de kullanılmaktadır. Kullanış amacına göre uygulamada bu enzim gruplarını belli bir kombinasyon halinde içeren preparatlar bulunmaktadır (1). Bu enzimlerin kullanımının başlıca amaçları; hammaddeden su ekstraksiyonu verimini arttırmak, presleme ve durultma verimini arttırmak, son ürüne kristal bir berraklık vermektir (2).

Meyve ve sebze hücreleri, iç basınç ve dış etkilere karşı direnç gösteren bir hücre duvarı ile çevrilidir. Bir bitkinin hücre duvar yapısının %90-100'ünü polisakkaritler oluşturmaktadır. Pektik maddeler, hemiselüloz, selüloz, lignin ve nişasta gibi polimerler, polifenoller, proteinler, arabanlar, tanenler ve metaller gibi maddeler meyve suyunda bulanıklığa yol açmaktadır (3-7). Berrak meyve suyu üretiminde kolloid içeriğinin oldukça düşük olması istenmektedir. Böylece durultma işlemi oldukça kolaylaşmakta önemli sorunlarla karşılaşmamaktadır. Meyve sularının kolloid içeriği, meyve çeşidine, olgunluk düzeyine, meyvenin taze olup olmadığına, tarımsal ve iklimsel şartlara, depolama şekli ve süresine ve işleme yöntemine göre değişmektedir (6).

Galakturonik asit, pektinin yapısının omurgasıdır ve mayşe enzimasyonlarında pektinin düz bölgeler olarak isimlendirilen bu bölgelerine özellikle etki edilmelidir. Daha berrak ve stabil bir meyve suyu üretmek için pektinin dallı bölgelerine etki etmek gerekmektedir. Mayşe enzimasyonunda sadece homogalakturonanlar parçalanmamalıdır. Mayşe enzimasyonunda geniş enzim aktivitesi spektrumu, yüksek kapasiteli verim ve briks artışı için selülozlara, hemiselülozlara ve pektik maddelere etki edilerek bunların parçalanması sağlanmalıdır. Durultma uygulamasında esas olarak homogalakturonan ve arabanlara etki edilmelidir. Akıcılığı yüksek meyve suyu üretimi için uygulamada esas olarak ramnogalakturonan, ksilanlar ve ksiloglukanlar parçalanmalıdır (1).

PEKTİK MADDELER

Pektik maddeler, genç bitki hücrelerinin bitişik duvarları arasında bulunan, yapıştırıcı ekstraselüler maddenin ince bir tabakası olan orta lamelin ana bileşenini oluşturmaktadır. Ayrıca, pektik maddeler bitki hücre duvarının en önemli bileşenidir (8-11).

Pektik maddeler, büyük oranda anhidrogalakturonik asit birimlerinden oluşan karmaşık, koloidal karbonhidrat türevlerinden meydana gelen, yüksek su tutma kapasitesine sahip maddelerdir. Pektinik asit, pektin, pektik asit ve bunların tuzlarını içeren bir grup maddeye pektik maddeler denilmektedir (9). Pektik maddeler, meyve sularının bulanıklığından ve görünüşünden sorumlu maddelerdir (12). Amerikan Kimya Derneğine göre pektik maddeler protopektinler, pektik asitler, pektinik asitler ve pektinler olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadır. Bu maddelerden protopektinlerin suda çözünmediği, diğer üçünün kısmen veya tamamen suda çözündüğü bildirilmiştir (8).

Protopektinin büyük molekül ağırlığına sahip olması, pektinin karboksilik asit grupları ile diğer hücre bileşenlerinin hidroksil grupları arasında oluşan ester bağları ve pektinin karboksilik asit grupları ile proteinlerin basit grupları arasında oluşan hidrojen bağlarının protopektinin çözünürlüğünü sınırlayan faktörlerden olduğu bilinmektedir (13).

Pektik asitlerin içerdiği poligalakturonik asit zincirinde bulunan karboksil gruplarının çok az bir miktarı metille esterleşmiştir. Daha fazla metille

esterleşmiş poligalakturonik asit birimlerinden oluşan polisakkaritlere pektinik asit denilmektedir. Pektinik asitlerin ihtiva ettikleri galakturonat birimleri farklı oranlarda metille esterleşmiştir. Pektinik asitler, asit ve şekerlerle jel formuna dönüşebilmektedir. Ayrıca düşük oranda metille esterleşmiş olanların kalsiyum ile de jel formuna dönüştüğü bilinmektedir (14).

Pektin, bitki hücreleri arasında doğal bir harç maddesi olarak görülmektedir (15-17). Pektinin temel yapısı, 300-1000 galakturonik asit ünitesinin ucuca eklenmesiyle oluşmuştur (18, 19). Pektin, α -1,4 bağlı d-galakturonik asit birimlerinden oluşan karmaşık bir polisakkarittir (20). Zincir boyunca metoksil guruplarının büyük ölçüde esterifiye olduğu bilinmektedir. Ayrıca serbest hidroksil gurupları mevcut asetil gurupları olabilmektedir. Galakturonik asit ana zinciri bazen ramnoz gurupları ve yan zincirlerinde nötral şekerler içermektedir. En sık görülen yan zinciri şekerlerin ksiloz, galaktoz ve arabinoz olduğu bildirilmektedir (19). Metille esterleşme yüzdesi 50'den düşük olan pektinler, düşük pH (3,5-4,0) ve kalsiyum iyonları varlığında ısıyla geri dönüşümlü olarak jel formuna dönüşürken, metille esterleşme yüzdesi 50'den yüksek olan pektinler yeterli miktarda şeker ve düşük pH (<3,5) da ısıyla geri dönüşümsüz bir şekilde jel yapısına dönüşmektedir (21).

Meyvede pektin miktarı, çeşit ve olgunlaşma düzeyine bağlı olarak da değişmektedir ve genel olarak toplam pektin miktarı, olgunluk ilerledikçe azalmaktadır. Pektin meyve suyunda (-) elektrik yüklüdür ve presten alınan meyve suyunda bulunan dispers haldeki diğer parçacıkların etrafını sararak onlara da (-) yük kazandırmaktadır (22).

Pektin durultmanın depektinizasyon aşamasında parçalanmaktadır. Durultma, meyve suyunda bulunan pektin ve diğer polisakkaritleri uzaklaştırmak için uygulanan önemli bir adımdır (23). Meyve suyunun durultulmasının amacı, meyve sularına ekonomik, kolay ve hızlı bir filtrasyon niteliği kazandırmak, sonradan bulanmayı önlemek ve bu arada pektini parçalayarak konsantride jel oluşumunu engellemektir (22). Pektinin varlığında filtrasyon zorlaşmaktadır (23). Bu amaçla ticari pektinaz preparatları (Pektin esteraz (PE), Poligalakturonaz (PG) ve pektintranseliminaz (PTE) kullanılmaktadır (25-27).

Durultmanın depektinizasyon aşamasında kullanılan pektinaz aktiviteleri ile pektin molekülünün daha çok α -(1,4) bağlı bölgeleri parçalanmakta ve pektinin oluşturduğu kolloid sorunu önemli ölçüde aşılmaktadır (27). Meyve suyunun depektinizasyonunda pektinazların kullanılması bir çok çalışmada bulanıklığı azaltan alternatif bir metot olarak kabul edilmektedir (28-31). Meydana gelen meyve suyu çok daha düşük miktarda pektin içermekle birlikte daha düşük vizkoziteye sahip olmakta ve filtrasyonda da kolaylık sağlanmaktadır (32-34). Pektik enzimler şarap, sirke ve meyve sularını berraklaştırmak ve verimlerini artırmak için de kullanılmaktadır (35). Pektik maddelerin enzimatik hidrolizi; enzimin tipine, hidroliz zamanına, enzim konsantrasyonuna, inkübasyon sıcaklığına ve pH' ya bağlıdır. Maksimum berraklıkta bir meyve suyu üretimi için bu parametrelerin optimum düzeyde olması şarttır (35-37).

PEKTİK ENZİMLER

Berrak meyve suyu üretimi için polisakkaritler küçük moleküllerine kadar parçalanmalıdır. Pektinaz ve amilaz uygulamaları ile pektin ve nişasta parçalanmaktadır. Pektinazlar, koloidal olarak çözünebilen pektinleri hidrolize etmekte ve pektin-protein kompleksleri oluşturarak flokülasyona neden olmaktadır (38). Benzer şekilde amilazlar, nişastanın maltoz ve glukozu kadar parçalanmasına yol açmaktadır. Pektin ve nişastanın tamamen parçalanması berrak ve stabil bir meyve suyu üretimi için çok önemlidir (39).

Pektinazların bakteriler (40), mantarlar (8) mayalar (41), böcek, nematod ve protozoa gibi çok sayıda organizma ve bitki tarafından üretildiği bildirilmiştir (42).

Pektin içeren meyve sularının durultulmasında geleneksel metot pektinazların kullanıldığı aşama olan enzimasyon, bentonit ve jelatin gibi durultma ajanlarının eklendiği durultma ve filtrasyondan basamaklarından meydana gelmektedir (19).

Pektik enzimler etki mekanizmalarına göre (43) şu şekilde sınıflandırılmaktadırlar: (a) Poligalakturonaz (PG): α -1,4-glikozidik bağlarını hidrolitik olarak parçalamaktadır. Endo ve ekzo olmak üzere iki tipi vardır. Ekzo-PG, substrata indirgen olmayan uçtan, Endo-PG ise rastgele etki etmektedir (10).

Bu depolimerizasyon sonunda meyve suyunun viskozitesi düşmektedir (44). (b) Pektin metilesteraz (PE) (Pektin pektinhidrolaz): Metil ester gruplarını hidrolize ederek pektini deesterifiye etmektedir. Enzim tercihen esterleşmemiş bir galakturonat birimi yanındaki galakturonat biriminin metil ester grubuna etki etmektedir.

Pektin metilesteraz

Pektin + H₂O ⇨ Pektik asit + Metanol (45).

(c) Pektat liyaz (PEL): β-eliminasyonla esterleşmemiş galakturonat birimlerinin kırılmasını katalizlemektedir (46). Hem ekzo-PEL ve hem de endo-PEL türleri vardır. Pektat ve düşük metoksilli pektin bu enzimler için tercih edilen substratları oluşturmaktadır (d) Pektin liyaz (PNL): β-eliminasyonla esterleşmiş galakturonat birimlerinin kırılmasını katalizlemektedir (10).

PE (veya PME), pektin zincirindeki metoksil gruplarını ayırarak pektinin esterleşme derecesini düşürmektedir. Yüksek metoksilli pektini düşük metoksilli pektine dönüştürmektedir. Reaksiyon daha ileri düzeye ulaşınca zincirdeki metoksil grupları adeta temizlenerek pektin poligalakturonik aside dönüşmektedir. Böylece karboksil grupları ortaya çıkarken metoksil gruplarından da metil alkol meydana gelmektedir (10). Pektin liyaz tek başına, ticari ürünlerde normal olarak bulunan PG ve PE kombinasyonlarının aksine, β-eliminasyonu mekanizması ile durultma boyunca metanol üretmeksizin yüksek derecede esterifiye olmuş pektin içeren meyve sularını berraklaştırma yeteneğine sahiptir (16, 48-51). Poligalakturonazlar, düşük vizkoziteye neden olmakla birlikte daha kolay meyve suyu ekstraksiyonu için su bağlama kapasitesine ve pres veya dekantörlerin daha iyi çalışmasına kolaylık sağlamaktadır. Poligalakturonaz içeren ticari pektinazlar, elma suyunda daha yüksek meyve suyu verimi ve berraklık için kullanılmışlardır (52). Endo-Poligalakturonaz maserasyon etkilidir ve çözünmeyen protopektini çözündürmektedir (27). Ekzo-Poligalakturonazlar yüksek moleküllü pektatlarda molekülün indirgen olmayan ucundan parçalamaya başlamaktadır. Ekzo-PG, sivilaşma, ekstraksiyon, berraklaştırma ve filtrasyonda kolaylık sağlamaktadır (53).

Meyve pulplarının sivilaştırılması için gerekli sürenin meyvenin tipine, enzimin tipine, enzim konsantrasyonuna, inkübasyon sıcaklığına ve inkübasyon zamanına bağlı olduğu bildirilmiştir (32). Depektinizasyon uygulamasıyla, kolloidlerin parçalanması ve vizkositenin düşmesine bağlı olarak filtrasyon kolaylaşmaktadır. Meyve suyu veriminde artış olmakta ve daha berrak bir ürün elde edilmektedir (5, 7, 33, 37, 48, 54).

İşlem görmemiş meyve suyunun temel olarak pektik maddelerin oluşturduğu çözünmeyen partiküllerle zengin bir yapıya sahip olduğu bildirilmektedir. Bu partiküller pozitif yüklü proteinlerin negatif yüklü pektinlerce sarılması sonucunda oluşmaktadır. Pektinazlar, pektinleri parçalamakta ve böylelikle pozitif yüklü proteinlere maruz kalarak bulanıklık maddelerinin daha büyük kümeler şeklinde çökelmelerine sebep olup meyve suyundaki bulanıklığın giderilmesine yardımcı olmaktadır (29). Pektinin pektolitik enzimlerce parçalanması sonucu oluşan galakturonik asit grupları süspansiyon halindeki parçacıkların flokülasyonuna yardımcı olmaktadır. Ayrıca kullanılan enzim preparatlarındaki arabanz gibi sekonder aktiviteler yardımıyla sonradan bulanma gibi sorunlar da engellenmektedir (55).

Pektin liyazın elma, limon, portakal ve mango gibi meyve sularının ekstraksiyonu, durultulması ve bulanıklık stabilizasyonunda ve bitki dokularının maserasyonunda kapsamlı uygulamaları olan bir enzim olduğu bildirilmiştir (56). Mayşe enzimi uygulamalarında yeni geliştirilen pektinazlarca hücre duvar yapısı optimal derecede parçalanmakta ve böylece meyveden meyve suyu ayrılması daha kolay olmaktadır. Meyveden ayrılan meyve suyu miktarı artmaktadır ve bunun sonucunda preslemeden önce kendiliğinden meyve suyu ayrılmakta dekanter performansı ile pres kapasitesi artmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda pres kapasitesi bu yeni geliştirilen enzimlerin kullanılmasıyla birlikte saatte 11 tondan 15 tona çıkabilmektedir. Ayrıca bulanıklık stabilitesi daha yüksek ürünler elde edilebilmektedir (18). Pektolitik enzimlerle mayşe uygulamaları, özellikle meyve suyu endüstrisinde, daha kısa proses zamanı ile daha yüksek verim almak, yüksek kalitede aromatik meyve suyu üretmek ve katı posa artığını azaltmak için kullanılmaktadır. Bu prosesle protopektin ve pektin galakturonik aside kadar parçalanmakta böylece ürünün toplam

asitliği, metanol içeriği ve üronik asit miktarı artmaktadır (58).

Total sıvılaştırma, hücre duvarlarının pektinaz ve selüloz enzimlerinin sinerjistik etkisi ile tamamen sıvılaştırılmasıdır. Hücre duvarının enzimatik hidrolizi; ekstraksiyon verimi, ürünlerin indirgen şeker ve çözünür kuru madde içeriği ile galakturonik asit içeriği ve titrasyon asitliğinde artışa neden olmaktadır. Pulp düşük viskoziteye sahip olmakta ve atık posanın kalitesi de düşük olmaktadır (57). Pektinazlar yoluyla mayşe sıvılaştırma ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir meyve suyu verimi elde edilmektedir. Meyve suyunun akışkanlığı artmakta ve pres malzemelerine gerek olmadan pres süresi kısalmaktadır (54). Bu prosesin meyve suyunun duyu kalitesinde zayıflık, esmerleşme eğilimi ile serbest polifenollerin artışı ve yüksek enzim dozajı kullanılması gibi dezavantajları vardır. Posaya sıvılaştırma enzimleri ekleyip sıcak suyla karıştırmak ve ekstraksiyon süresinden sonra tekrar preslemekten oluşan iki aşamalı bir proses uygulayarak bu dezavantajlardan kaçınmanın mümkün olduğu bildirilmiştir (59).

Selüloz

Selülozun glikoz birimlerinin β -1,4 glikozidik bağlarla bağlanarak oluşturduğu, doğada en bol bulunan yenilenebilir bir biyopolimer olduğu bilinmektedir. Düz bir zincir şeklinde nişastadan ayrılmakta ve herhangi bir sarmal yapı göstermemektedir (60, 61). Selüloz, büyük molekülü olması nedeni ile suda çözünmediği ve su bağlama yeteneğinin de kısıtlı olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle meyve suyunda dispers olarak dağılmakta ve mekanik etki ile uzaklaştırılmaktadır. Asidik ve enzimatik (selüloz) hidrolizle glukozu kadar parçalanmaktadır (60). Selülozu parçalayan selüloz enzimleri 3 gruba ayrılır: a) Ekzoglukanazlar (Sellobiyohidrolazlar (CelloBioHydrolase, CBH)); selüloz polimerini bütün şekliyle veya endoglukanazlar tarafından parçalanmış kısımlardaki ara ürünlerin uçlarından parçalamaya başlamaktadırlar ve son ürünleri ise sellobiozlardır. b) Endoglukanazlar (EG (endo- β -1,4 glukozidaz, CMCAz)); selüloz polimerinin orta kısmından (genelde amorf bölgeden) parçalamaktadırlar ve son ürünleri ise oligosakkaritlerdir. c) β -glukozidazlar; ara ürün olan sellobiozları glukozu parçalamaktadırlar (62).

Nişasta

Nişasta bir doğrusal bir polimer olan amiloz (sadece α -1,4 bağı) diğeri de dallanmış bir polimer olan amilopektinden (aynı zamanda α -1,6 bağı da) oluşmuş bir polisakkarittir. Nişasta gibi polimerik karbonhidratlar, yavaş filtrasyon, membran tıkanıklığı, konsantrede jelleşme ve sonradan bulanmaya neden olabilmektedir. Nişasta, meyve sularının depektinasyonu süresince pektinazlarla birlikte nişastayı parçalayan bir enzim tarafından ortadan kaldırılmaktadır (47). Nişasta, α -amilaz veya amiloglukozidaz ile parçalanmaktadır. α -amilaz, amiloz ve amilopektin ayrımı yapmadan bunların zincirlerini gelişigüzel yerlerinden hidrolitik olarak parçalamaktadır. α -amilaz enzimi, nişasta molekülündeki α -1,4 bağlarını parçalayarak glikoz, maltoz, maltotrioz ve α -limit dekstrinlerin oluşumunu sağlamaktadır. Amiloglukozidaz (veya Glikoamilazlar) ise nişastanın α -1,4 bağları yanında α -1,6 bağlarını da parçalamaktadır. Böylece nişastanın glukozu kadar parçalanması mümkün olmaktadır (63).

SONUÇ

Meyve suyu işlemede enzim uygulamaları hammaddenin etkin kullanımı ve maliyet kontrolü için gerekli bir işlemdir. Meyve sularındaki büyük bir ürün çeşitliğine rağmen, elmalar hala en önemli meyvelerdendir. Üzümsü ve renkli meyveler son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Meyvelerde enzimasyon uygulamalarının ürün kalitesi ve kalitenin sürekliliği üretici ve tüketiciler için önemli bir konudur. Büyük enzim üreticileri, tüketicilerin ihtiyaçlarını karşılamak için özel enzimlerin daha geniş bir yelpazesini sunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Höhn A, Maier G, Stutz C. 2010. Successfully developed, innovative and robust enzymes for fruit juice processing. 16th IFU Congress, 4-5 May, İstanbul, Turkey.
2. Höhn A, Daqing S, Nolle F. 2005. Enzymes in fruit juice and wine industry, Ch. 5. *In: Processing Fruits, Science and Technology*, 2nd Ed, Barrett DM (chief ed), CRC Press, Florida, USA, pp.98-112.

3. Kumpoun W, Motomura Y. 2002. Degradation of pectic polysaccharides in various fruits by pectinase derived from *Aspergillus niger*. *Bull Fac Agric Life Sci Hirosaki Univ*, No.4: 31-36.
4. Vaillant F, Millan A, Dornier M, Decloux M, Reynes M. 2001. Strategy for economical optimisation of the clarification of pulpy fruit juices using crossflow microfiltration. *J Food Eng*, v.48, p: 83-90.
5. Abdullah AGL, Sulaiman NM, Aroua MK, Noor MJMM. 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. *J Food Eng*, 81: 65-71.
6. Aehle W (ed). 2004. *Enzymes in Industry: Production and Applications*. 2nd Edn. Published by Wiley-VCH, Weinheim, The Netherlands, 508 p.
7. Sandri IG, Fontana RC, Barfknecht DM, Silveira MMD. 2011. Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *Lwt-Food Sci Technol*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.02.008>. (Accessed 8 August 2012).
8. Alkorta I, Garbisu C, Llama MJ, Serra JL. 1997. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochem*, Vol. 33, No. 1, pp: 21-28.
9. Maraş M, Çavusoglu K, Aksöz E, Kırındı, T. 2004. Pektin, poligalakturonik asit ve liyofilize pektinaz enziminin yapısal analizi. *İTÜ Dergisi /C*, 2(1): 3-10.
10. Jacob N, Prema P. 2006. Influence of mode of fermentation on production of polygalacturonase by a novel strain of *Streptomyces lydicus*. *Food Technol Biotechnol*, 44 (2): 263-267.
11. Ladjama A, Taibi Z, Meddour A. 2007. Production of pectinolytic enzymes using streptomyces strains isolated from palm grove soil in Biskra Area (Algeria). *Afr Crop Sci Conf Proc*, Vol. 8, pp: 1155-1158.
12. Bonnin E, Goff AL, Van-Alebeek GW, Voragen AGJ, Thibault JF. 2003. Mode of action of *Fusarium moniliforme* endopolygalacturonase towards acetylated pectin. *Carbohydr Poly*, Volume 52, issue 4, Pages: 381-388.
13. Yoshitake S, Numata T, Katsuragi T, Hours RA, Sakai T. 1994. Purification and characterization of a pectin-releasing enzyme produced by *Kluyveromyces wickerhamii*. *J Ferment Bioeng*, 77 (4): 370-375.
14. Kilara A. 1982. Enzymes and their uses in the processed apple industry: a review. *Process Biochem*, 17 (4): 35-41.
15. Taşkın E, Eltem R. 2008. The enhancement of polygalacturonase and polymethylgalacturonase production on solid-state conditions by *Aspergillus foetidus*. *J Food Biotech*, 22/3: 203-217.
16. Yu J, Lencki RW. 2004. Effect of enzyme treatments on the fouling behavior of apple juice during microfiltration. *J Food Eng*, 63, 413-423.
17. Alimardani-Theuil P, Gainvors-Claisse A, Duchiron F. 2011. Yeasts: An attractive source of pectinases-from gene expression to potential applications: a review. *Process Biochem*, 46: 1525-1537.
18. Maier G. 2003. Enzymatic applications in fruit juice industry. *Meyve Suyu Gelişmeler ve Eğilimler Semineri*. Meyve suyu endüstri derneği, No:1, S: 121-129.
19. Arunachalam C, Asha S. 2010. Pectinolytic enzyme-a review of new studies advanced Biotech journal- online. <http://www.advancedbiotech.in/online%20article%20Pectinolytic%20Enzyme.pdf> (Accessed 8 August 2012).
20. Yuan P, Meng K, Huang H, Shi P, Luo H, Yang P, Yao B. 2011. A novel acidic and low-temperature-active endo-polygalacturonase from *Penicillium sp.* CGMCC 1669 with potential for application in apple juice clarification. *Food Chem*, 129: 1369-1375.
21. Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food hydrocolloid*, 17 (1): 25-39.
22. Acar J, Gökmen V. 2000. *Meyve ve sebze İşleme Teknolojisi*. Cilt 1-Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, Yayın No:48, Ankara, Türkiye, 81-85: 109-123.

23. Domingues RCC, Junior SBF, Silva RB, Cardoso VL, Reis MHM. 2012. Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments. *Process Biochem*, 47: 467-471.
24. Sulaiman MZ, Sulaiman NM, Liew SY. 1998. Limiting permeate flux in the clarification of untreated starfruit juice by membrane ultrafiltration. *Chem Eng J*, 69(2): 145-148.
25. Mohamed SA, L Al-Malki AA, Kumosani T. 2009. Characterization of a polygalacturonase from *Trichoderma harzianum* grown on citrus peel with application for apple juice. *Aust J Basic Appl Sci*, 3(3): 2770-2777.
26. Echavarria A, Pagan J, Ibarz A. 2011. Effect of previous enzymatic recirculation treatment through a tubular ceramic membrane on ultrafiltration of model solution and apple juice. *J Food Eng*, 102: 334-339.
27. Cemeroglu B (ed). 2009. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*. 1. Cilt. 3. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:38, Bizim Grup Basımevi Ankara, Türkiye, 707 p.
28. Landbo AK, Kaack K, Meyer AS. 2007. Statistically designed two step response surface optimization of enzymatic prepress treatment to increase juice yield and lower turbidity of elderberry juice. *Innov Food Sci Emerg Tech*, v. 8, p: 135-142.
29. Kashyap DR, Vohra PK, Chopra S, Tewari R. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technol*, 77 (3): 215-227.
30. Vaillant F, Millan P, O'Brien G, Dornier M, Decloux M, Reynes M. 1999. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. *J Food Eng*, 42: 215-224.
31. Diaz AB, Ory ID, Caro I, Blandino A. 2012. Enhance hydrolytic enzymes production by *Aspergillus awamori* on supplemented grape pomace. *Food bioprod process*, 90: 72-78.
32. Chauhan SK, Tyagi SM, Singh D. 2001. Pectinolytic liquefaction of apricot, plum, and mango pulps for juice Extraction. *Int J Food Prop*, 4: 1, 103-109.
33. Lee WC, Yusof S, Hamid NSA, Baharin BS. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *J Food Eng*, 73: 55-63.
34. Busto MD, Garcia-Tramontin KE, Ortega N, Perez-Mateos M. 2006. Preparation and properties of an immobilized pectinlyase for the treatment of fruit juices. *Bioresource Technol*, 97: 1477-1483.
35. Rodriguez-Nogales JM, Ortega N, Perez-Mateos M, Busto MD. 2008. Pectin hydrolysis in a free enzyme membrane reactor: An approach to the wine and juice clarification. *Food Chem*, 107: 112-119.
36. Sin HN, Yusof S, Sheikh Abdul Hamid N, Abd Rahman R. 2006. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *J Food Eng*, 73: 313-319.
37. Kaur S, Sarkar B C, Sharma HK, Singh C. 2009. Optimization of enzymatic hydrolysis pretreatment conditions for enhanced juice recovery from guava fruit using response surface methodology. *Food Bioprocess Technol*, 2: 96-100.
38. Heerd D, Yegin S, Tari C, Fernandez-Lahore M. 2012. Pectinase enzyme-complex production by *Aspergillus spp*. In solid-state fermentation: A comparative study. *Food bioprod process*, 90: 102-110.
39. Türkyılmaz M, Yemiş O, Özkan M. 2012. Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota L.*) juice. *Food Chem*, 134: 1052-1058.
40. Magro P, Varvaro I, Chilosi G, Avanzo C, Balestra GM. 1994. Pectinolytic enzymes produced by *Pseudomonas syringae pv. Glycinea*. *FEMS Microbiology Letters* 117: 1-6.
41. Sunnotel O, Nigam P. 2002. Pectinolytic activity of bacteria isolated from soil and two fungal strains during submerged fermentation. *World J Microbiol Biotechnol*, Volume 18, Number 9: 835-839.
42. Pedrolli DB, Carmona EC. 2010. Purification and characterization of the exopolygalacturonase produced by *Aspergillus giganteus* in submerged cultures. *J Ind Microbiol Biotechnol*, Jun; 37(6): 567-73.

43. Yang J, Luo H, Li J, Wang K, Cheng H, Bai Y, Yuan T, Fan Y, Yao B. 2011. Cloning, expression and characterization of an acidic endo-polygalacturonase from *Bispora sp.* MEY-1 and its potential application in juice clarification. *Process Biochem*, 46: 272-277.
44. Ortega N, Diego SD, Perez-Mateos M, Busto MD. 2004. Kinetic properties and thermal behaviour of polygalacturonase used in fruit juice clarification. *Food Chem*, 88: 209-217.
45. Zhang H, Woodams EE, Hang YD. 2011. Influence of pectinase treatment on fruit spirits from apple mash, juice and pomace. *Process Biochem*, 46: 1909-1913.
46. Anurag P, Prakash CM, Girdhar GS. 2006. Purification and characterization of pectate lyase from banana (*Musa acuminata*) fruits. *Phytochem*, Volume 67, Issue 9: Pages 861-869.
47. Ceci L, Lozano J. 1997. Determination of enzymatic activities of commercial pectinases for the clarification of apple juice. *Food Chem*, Vol. 61, No. 1/2: 237-241.
48. Mantovani CF, Geimba MP, Brandelli A. 2005. Enzymatic clarification of fruit juices by fungal pectin lyase. *Food Biotechnol*, 19: 3, 173-181.
49. Yadav S, Yadav PK, Yadav D, Yadav KDS. 2009. Pectin lyase: a review. *Process Biochem*, 44: 1-10.
50. Busto MD, Garcia-Tramontin KE, Ortega N, Perez-Mateos M. 2006. Preparation and properties of an immobilized pectin lyase for the treatment of fruit juices. *Bioresource Technol*, 97:1477-1483.
51. Ladjama A, Taibi Z, Meddour A. 2007. Production of pectinolytic enzymes using streptomyces strains isolated from palm grove soil in Biskra Area (Algeria). *Afr Crop Sci Conf Proc*, Vol. 8, pp: 155-1158.
52. Nakkeeran E, Umesh-Kumar S, Subramanian R. 2011. *Aspergillus carbonarius* polygalacturonases purified by integrated membrane process and affinity precipitation for apple juice production. *Bioresource Technol*, 102 : 3293-3297.
53. Swain MR, Ray RC. 2010. Production, characterization and application of a thermostable exo-polygalacturonase by *Bacillus subtilis* CM5. *Food Biotechnol*, 24: 1, 37-50.
54. Mutlu M, Sarioğlu K, Demir N, Ercan MT, Acar J. 1999. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part I: viscosimetric determination of enzyme activity. *J Food Eng*, 4: 147-150.
55. Alvarez S, Alvarez R, Riera FA, Coca J. 1998. Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration. *Colloids Surf A*, Volume 138, Issues 2-3: Pages 377-382.
56. Gummadi SN, Kumar DS. 2008. Batch and fed batch production of pectin lyase and pectate lyase by novel strain *Debaryomyces nepalensis* in bioreactor. *Bioresource Technol*, 99: 874-881.
57. Demir N, Acar J, Sarioğlu K, Mutlu M. 2001. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3: Immobilized pectinase for mash treatment. *J Food Eng*, 47: 275-280.
58. Sarioğlu K, Demir N, Acar J, Mutlu M. 2001. The use of commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of the kinetic behaviour of immobilized commercial pectinase. *J Food Eng*, 47: 271-274.
59. Mehrlander K, Dietrich H, Sembries S, Dongowski G, Will F. 2002. Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction. *J Agric Food Chem*, 50: 1230-1236.
60. Bhat MK. 2000. Cellulase and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol Adv*, 18(5): 355-383.
61. Xu F, Ding H, Tejirian A. 2009. Detrimental effect of cellulose oxidation on cellulose hydrolysis by cellulase. *Enzyme Microb Tech*, 45: 203-209.
62. Oberoi HS, Sandhu SK, Vadlani PV. 2012. Statistical optimization of hydrolysis process for banana peels using cellulolytic and pectinolytic enzymes. *Food bioprod process*, 90: 257-265.
63. Souza PMD, Magalhaes PDOE. 2010. Application of microbial-amylase in industry-a review. *Braz J Microbiol*, 41: 850-861.