

Domateste Bulunan Enzimlerin Önemi ve Isıl/Isıl Olmayan Teknolojilerle İnaktivasyonu

Seda Ersus Bilek ✉, Atiye Yayğaz

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 26.07.2014, Kabul Tarihi (Accepted): 27.09.2014

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): seda.ersus@ege.edu.tr (S. Ersus Bilek)

☎ 0 232 388 01 10 / 2061 📠 0 232 342 75 92

ÖZET

Domateste (*Solanum lycopersicum*) bulunan ve teknolojik anlamda en önemli enzimler pektin metilesteraz (PME), poligalakturonaz (PG) ve lipoksigenaz (LOX)'dir. Bunlardan PME ısıya en dirençli pektolitik enzim olduğundan ısı uygulaması ile gerçekleştirilen inaktivasyon çalışmalarında indikatör enzim olarak kabul edilmektedir. Pektik enzimler (PME ve PG) domates ve ürünlerinin sertliği, viskozitesi, renk stabilitesi, berraklığı ve son ürün verimi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. LOX aktivitesi ise esansiyel yağ asitlerini yıkıma uğratarak domates ve ürünlerinde istenmeyen lezzete neden olmaktadır. Bu derlemede, domateste bulunan enzimlerin yapısı ve bu enzimlerin domates ürünlerinin kalitesi üzerine etkileri konusunda bilgi verilmiş ayrıca domates işlemede ısı ve ısı olmayan işlemlerin bu enzimler üzerine etkilerinin belirlendiği çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Domates, Enzim inaktivasyonu, Isıl/Isıl olmayan işlem, Kalite

Importance of Tomato Enzymes and Inactivation by Thermal/Non Thermal Processing

ABSTRACT

Pectin methylesterase (PME), polygalacturonase (PG) and lipoxygenase (LOX) are the most important enzymes in tomatoes (*Solanum lycopersicum*) and in tomato processing. PME is generally chosen as an indicator enzyme for thermal processing due to its highest thermal stability. Pectolytic enzymes have great impact on texture, viscosity, color stability, clarity and efficiency of the product. LOX activity catalyses the essential fatty acids oxidation which causes off-flavor compounds in tomato and tomato products. Hence, enzyme properties in tomatoes and effects of enzymes on quality of tomato products will be summarized, in addition effect of thermal and non thermal processing on enzyme inactivation will be overviewed.

Key Words: Tomato, Enzyme inactivation, Thermal/non thermal processing, Quality

GİRİŞ

Taze domateste (*Solanum lycopersicum*) bulunan ve teknolojik anlamda en önemli enzimler pektin metilesteraz (PME), poligalakturonaz (PG) ve lipoksigenaz (LOX)'dir [1]. Domates hammaddesinden başta salça olmak üzere, domates suyu, çorba, ketçap, sos, kurutulmuş domates gibi birçok farklı ürün üretilmektedir. Pektik bileşiklerin parçalanmasını

katalizleyen enzimler olan pektin metilesteraz (PME) ve poligalakturonaz (PG) domates ve domates ürünlerinde tekstürel ve reolojik değişikliklere neden olmaktadır. Lipoksigenaz (LOX) enzimi tarafından katalizlenen oksidasyon reaksiyonları ise renk ve lezzeti önemli ölçüde etkilemekte domates ve domates ürünlerinde istenmeyen lezzet oluşturmaktadır.

Domateste Bulunan Pektin, Pektin Metilesteraz ve Poligalakturonaz Enzimleri ve Etkileri

Bitki hücrelerinin hücre duvarının başlıca bileşeni olan pektin, α -D-galakturonik asit moleküllerinin α -1,4-glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmasıyla oluşan poligalakturonik asit zinciridir [2]. Pektinin yapısında poligalakturonik asit, ramnogalakturonik asit, galaktanlar ve arabinogalaktanlar bulunmaktadır [3]. Pektin molekülü bitkinin golgi cisimciğinde sentezlenmektedir.

Pektinin pektat ve metanole hidrolizini katalizleyen pektin metilesteraz enzimi (EC 3.1.1.11) tercihen esterleşmemiş bir galakturonat birimi yanındaki galakturonat biriminin metil ester grubuna etki eder [4]. Enzimin metillenmiş galakturonat polimerlerini hidrolizlemesi ile yüksek metoksilli pektin düşük metoksilli pektin haline çevrilir. Metanol ile esterleşmiş halde bulunan galakturonik asitin % 50'nin altında veya üzerinde olmasına göre düşük veya yüksek esterleşme dereceli pektin olarak sınıflandırma yapılmaktadır [5]. Esterleşme derecesi toplam galakturonik asit birimindeki esterleşmiş karboksil gruplarının toplam karboksil gruplarına oranı olarak ifade edilmektedir. Metilasyon derecesi düşük pektin, olgunlaşma üzerine etkilidir. Enzimin aktivite göstermesi ile meydana gelen bölgesel pH düşüşü ise otoliz ve büyümede rol oynayan enzimleri aktive ederek hücre duvarının genişlemesini sağlar. Reaksiyonun ilerlemesi halinde tüm metoksil grupları hidrolizlenir ve sonuç olarak poligalakturonik asit ve metanol meydana gelir [6]. Pektik enzimlerden özellikle PME enzimi sertlik, viskozite, renk stabilitesi, berraklık ve son ürün verimi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir [7]. PME domateste bulunan ısıya en dirençli pektolitik enzim olduğundan ısı uygulaması ile gerçekleştirilen inaktivasyon çalışmaları endikatör enzim olarak kabul edilmektedir [8]. Domateste diğer meyve ve sebzelerde olduğu gibi pektin, yüksek esterleşmiş formda sentezlenmiştir. PME aktivitesi sonucu pektin molekülünün esterleşme derecesi değişmektedir. Pektinin esterifiye olması ile moleküle bağlı kalsiyum tutunma bölgeleri sayısı artmakta ve bu çapraz bağlanma nedeni ile yapı daha sert olmaktadır. Ayrıca çift değerlikli iyonlarla birleşmiş düşük esterleşme derecesindeki pektin zincirleri poligalakturonaz gibi depolimerizasyon enzimlerinin saldırısına ve ısı işlemi nedeniyle görülen β -eliminasyonu yoluyla parçalanmaya direnç kazanmaktadır [9-11]. Bunun yanı sıra dokusal özellikler üzerinde etkili diğer bir enzim de poligalakturonaz enzimidir. Poligalakturonaz enziminin (EC 3.2.1.15) domatesin hücre duvarında bulunan pektik bileşiklerin depolimerizasyonundaki rolü birçok araştırmada belirtilmiştir [12-17]. PME enzimi ile oluşan düşük esterleşme derecesine sahip pektin dokuda bulunan poligalakturonaz enzimi ile depolimerize edilir [18]. Bunun sonucunda intraselüler yapışkanlık ve doku sertliği azalır [19].

Domates suyu, ketçap, salça, domates çorbası, pizza ve spagetti sosları gibi domates ürünlerinde viskozite pektik bileşen kompozisyonu ile yakından ilişkilidir. Pektinin parçalanması veya yapıda bozunmadan alıkonmasının kontrolünde pektik bileşenlere etki eden enzimler oldukça önemlidir [20-22]. Çorba ve domates suyunda

tat ve rengin mümkün olduğunca korunması ve viskozitenin düşük olması istenirken ketçap, pizza ve spagetti soslarında viskozitenin yüksek olması tercih edilmektedir. Salça üretiminde domatesler parçalandıktan hemen sonra ısıtılma işlemi uygulanmazsa stabil bir domates suyu veya konsistansi yüksek bir salça elde edilememektedir [23]. Bu ürünlerde esterifiye olmuş çözünebilir pektine kalsiyumun bağlanması pektinin çökmesine ve serum ayrılmasına neden olmaktadır. Reaksiyonun ilerlemesiyle PG enziminin substratı haline gelen pektin polimerinin molekül ağırlığında ve domates suyu viskozitesinde azalma meydana gelmektedir [24, 25]. Bu nedenle salça üretiminde sıcak işleme yöntemi ile 90°C üzerindeki sıcaklıklara mümkün olduğu kadar kısa sürede ısıtma yapılmakta, PG ve PME enzimleri inaktive edilmektedir [26]. Sıcak işleme ile pektinazlar hızla inaktive edildiğinden pektin doğal nitelikleriyle korunmaktadır. Bu şekilde daha viskoz nitelikte pulp elde edilmektedir. Bazı durumlarda yöntemine uygun bir sıcak işleme uygulansa bile, istenen konsistenste bir ürün elde edilemeyebilir. Bunun nedeni meyvenin aşırı olgunlaşması sırasında doğal olarak, hasat ve taşıma sırasındaki zedelenmeye bağlı olarak, domateste bulunan enzim ve substratın teması gelmesi ve pektik maddelerin işleme öncesinde hızla parçalanmasıdır [23].

Domatesin yapısında bulunan enzimler domates ürünlerinin asitlik değeri üzerinde de etkilidir. Örneğin domatesin hammadde olarak kullanıldığı soğuk işlenmiş domates suyunun asitliğinin benzer hammaddeden sıcak işleme yöntemiyle üretilen domates suyundan daha yüksek olduğu belirtilmiştir [27]. Soğuk işlenmiş domates suyunda PME aktivitesi sonucu oluşan galakturonik asit nedeniyle titrasyon asitliği artmaktadır. Benzer şekilde Anthon ve Barrett [28] tarafından yapılan çalışmada aynı hammaddenin kullanıldığı soğuk işlenmiş domates suyunun sıcak işleme yöntemine göre üretilen domates suyuna göre pH değeri 0.21 daha düşük, titrasyon asitliği ise 12.4 meq/g daha yüksek bulunmuştur.

PME açısından zengin domateste enzimin çeşitli izoformları mevcuttur [24, 29, 30, 31]. İşlem görmemiş üründe PME ve esterleşmiş pektinin bir arada bulunduğu ancak enzim ile substratını birbirinden ayıran farklı hücresel bölgelerin olduğu belirtilmiştir. Domatesin dokusu herhangi bir nedenle zarar gördüğünde enzim ve substrat bir araya gelmektedir. Enzim inaktive edilmezse oda sıcaklığında sadece birkaç dakika içerisinde pektin esterifiye olmaktadır. Örneğin küp şeklinde doğranmış soyulmuş domates üretiminde PME enzimi dokuda aktif hale gelmektedir [24]. Dokuda meydana gelen fiziksel zararla birlikte 50 ile 70°C arasında uygulanan düşük sıcaklıkta haşlama işlemi ile PME enziminin aktivitesi artmaktadır. Bu işlemin ardından uygulanan sterilizasyon ile son ürüne sert bir doku kazandırılmaktadır. Sterilizasyon işleminin etkisi birçok sebze için çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir [24, 32, 33-36]. Küp şeklinde doğranmış domatesin 50-70°C'de ısıtılması ile PME enzimi dokuda oldukça aktif hale gelmekte ve hızlı bir metanol oluşumu gerçekleşmektedir. Küp doğranmış domateslere bu tip ısı işlem uygulamaları ile doku sertleştirilmektedir [24].

Doğranmış domates üretiminde saflaştırılmış PME kullanımı [37, 38] veya endojen PME'nin aktiveştirilmesi için pH'nin yükseltilmesi [39] gibi yöntemlerden de yararlanılmaktadır.

Pektin molekülünü PG enziminin substratı haline getiren ve dolayısı ile yumuşama olayının temelini oluşturduğu belirtilen PME [18] bazı ürünlerde yetersiz haşlama işlemi sonucu sertleşmeye neden olabilmektedir. Sertleşme yetersiz ısı işlemi nedeniyle inaktive edilemeyen PME'in metil gruplarını parçalaması sonucu oluşan karboksil gruplarının divalent metal iyonları yardımıyla çapraz bağlar oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Yetersiz haşlama işleminin ardından dondurularak muhafaza edilen ürünlerde sert bir doku problemi ile karşılaşmaktadır [23]. Dolayısıyla son ürün özelliklerinde istenen dokusal özelliklerin optimize edilebilmesi için pektin metilesteraz ve poligalakturonaz enzimlerinin aktivitesinin kontrollü bir şekilde sağlanması veya enzimlerin tamamen inaktivasyonu gereklidir.

Domateste Bulunan Lipoksigenaz Enzimi ve Etkileri

Domates ve diğer birçok gıdada aroma bileşikleri uçucu aldehitlerdir. Karakteristik domates lezzetinden sorumlu bileşen olan linoleik asitin (ya da diğer ω -3 yağ asitlerinin) yıkıma uğraması ile oluşan cis-3-heksanaldir [40, 41]. Lipit kökenli uçucu aldehitler bütün haldeki domateste düşük miktarda bulunmaktadır. Domatesin homojenizasyonu ile cis-3-heksanal miktarı artmaktadır [41]. Domates homojenatında uçucu aldehitlerin oluşumundan sorumlu enzimlerden birisi lipoksigenaz (LOX)'dır [42, 43]. Lipoksigenaz enzimi varlığında yağ asitleri okside olarak hidroperoksi türlerine dönüşmektedir. Domatesten saflaştırılan LOX çoğunlukla 9-hidroperoksi lipit üretmektedir. Ancak istenen lipit kökenli aroma bileşenleri 13-hidroperoksi lipitlerden elde edilen 6 karbonlu aldehitlerdir. Bu nedenle söz konusu reaksiyonlarda LOX enziminin rolü sorgulanmaktadır. Ancak lipoksigenaz enziminin daha az bulunan formunun 13-hidroperoksi lipitlerin oluşumundan sorumlu olması olasıdır. Bunun yanında 13-hidroperoksi lipitlerin enzimatik olmayan bir reaksiyon sonucu oluşma ihtimali de bulunmaktadır [44].

Domates suyunun depolaması sürecinde LOX aktivitesi ile esansiyel yağ asitlerinin yıkıma uğraması sonucu istenmeyen lezzet oluşabilmektedir. Ayrıca, reaksiyon sonucunda oluşan hidroperoksitler ve serbest radikaller vitamin ve proteinlerin parçalanmasına neden olabilmektedir. Domates suyunda LOX aktivitesi son üründe istenen özelliklere bağlıdır. Eğer ürünün uzun raf ömrüne sahip olması isteniyorsa LOX aktivitesi minimum olmalıdır. Taze domates lezzetine sahip ve buzdolabı sıcaklığında kısa bir süre muhafaza edilecek domates suyu üretiminde ise LOX aktivitesi uzun raf ömrüne sahip domates suyundan daha yüksek olabilmektedir [45].

Lipoksigenaz enziminin karotenoidlerin oksidatif parçalanmasını teşvik ettiği belirtilmektedir. Fakat bu etkinin doğrudan olmadığı, lipoksigenazın öncelikle yağ

asidinin oksidasyonunu katalizlediği ve oluşan peroksitlerin karotenoidlerle reaksiyona girdiği belirtilmektedir [46]. Enzimin oksijen, su aktivitesi, ısı ve bazı metaller, peroksit radikal oluşumunu katalizlemesi nedeniyle bu faktörlerin, karotenoid oksidasyonunda rol oynadığı bildirilmektedir [47].

LOX aktivitesi dondurulmuş küp şeklindeki domateslerde renk kaybına neden olmaktadır. Depolama süresince LOX aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Renk kaybını önlemek için küp şeklindeki domateslerin modifiye nişasta ile kaplandığı bir çalışmada dondurarak depolama aşamasında nişasta ile kaplanmış örneklerde LOX aktivitesinin azaldığı böylece domates örneklerinin renginin kontrol örneklerine göre daha iyi korunduğu belirlenmiştir [48]. Domates püresinin depolama süresince renk değişiminin incelendiği bir çalışmada lipoksigenaz enzimi haşlama işleminin yeterliliğinin belirlenmesinde indikatör enzim olarak kullanılmıştır. Haşlama işlemi uygulanan ve uygulanmayan örnekler plastik petri kaplarına konulmuş ve plastik film ile kaplanmıştır. Çoğunlukla ısıya dayanıklılığının yüksek olması ve kalitatif olarak kolay tespit edilmesi nedeniyle indikatör enzim olarak peroksidaz seçilmektedir [49]. Peroksidaz enzimi hedeflendiğinde yüksek ısı işlem uygulamasına gerek duyulması ve bunun sonucunda ürün dokusunda belirgin kayıp oluşması nedeniyle bazı sebzeler için lipoksigenazın inaktivasyonunun baz alınmasının yeterli olacağı belirtilmektedir [50]. Lipoksigenaz aktivitesi ile sebzelerde renk değişimi ve istenmeyen lezzet oluşumu gibi kalite değişimlerinin korelasyonunun daha iyi olabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır [50, 51, 52]. Bu kapsamında gerçekleştirilen bir çalışmada 100°C'de 20 dakika süreyle haşlama uygulamasının LOX inaktivasyonunda yeterli olduğu saptanmış ve depolama süresi boyunca LOX rejenerasyonu tespit edilmemiştir. Haşlama işlemi uygulanmadan üretilen domates püresi -7 ve -18°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanmıştır. Bu örneklerde 130 günlük depolama boyunca enzimin aktivitesinin gittikçe azaldığı ve bu süre uzatıldığında herhangi bir kalıntı aktivite gözlenmediği bildirilmiştir [53].

Domates suyuna ısı işlem uygulamasının LOX aktivitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 40°C ve altındaki sıcaklıklarda enzimin aktivitesinde herhangi bir değişiklik belirlenmemiştir. 50 ve 55°C'de 12 dakikalık ısı işlem sonucunda kalıntı LOX aktivitesi sırası ile yaklaşık %30 ve 5 bulunurken 60°C'de aynı süredeki haşlama işleminin enzim aktivitesini tamamen yok ettiği belirlenmiştir [54]. Anese ve Sovrano [55] küp şeklinde doğranmış domates ve saflaştırılmamış enzim ekstraktında ısı işleminin LOX enziminin aktivitesine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada saflaştırılmamış ticari enzim karışımlarının kullanılmama nedeni olarak domates ürünlerinde oldukça karmaşık yapıdaki matriksin ısı transferinin hızını ve mekanizmasını etkilemesi gösterilmiştir. Küp şeklinde doğranmış domates ve saflaştırılmamış enzim ekstraktına farklı sıcaklık (80-98°C) ve süre (0-150 dakika) aralıklarında ısı işlem uygulanmıştır. Çalışma sonuçları beklendiği üzere ısıtma süresi arttıkça LOX aktivitesinin azaldığını göstermiştir. Tüm örnekler için özellikle en yüksek

sıcaklık (98°C) uygulamasında ısıtma işleminin ilk birkaç dakikasında enzim aktivitesinde büyük bir azalma gerçekleşmiştir. Sürenin uzatılması sonucunda ise azalma hızı azalmıştır. Bu farklılık domateste farklı ısıl stabiliteye sahip en az iki LOX izoenziminin varlığı ile açıklanmıştır. Domateste ısıya dayanıklı ve duyarlı LOX izoenzimlerinin bulunduğu ile ilgili literatürde kısıtlı sayıda çalışma yer almaktadır [44, 55]. Anese ve Sovrano [55] domateslere uygulanan buhar ile veya kaynar su içerisinde, birkaç dakikalık haşlama işleminin LOX enziminin tamamen inaktive edilmesinde büyük bir olasılıkla yeterli olmadığını belirtmişlerdir. Anthon ve Barrett [44] yaptıkları çalışmada ise LOX enziminin ısıya dayanıklı ve duyarlı her iki formunun 60°C'de hızlı bir şekilde inaktivasyona uğradığı saptanmıştır.

Literatür çalışmalarında LOX enziminin inaktivasyonu için gerekli sıcaklık ve ısıl işlem süresindeki farklılıklar çeşit, olgunluk, enzim konsantrasyonu gibi hammadde kaynaklı değişikliklerden ve ısıtma yönteminin farklılığından [56, 57] kaynaklanabilmektedir [55].

Isıl İşlemlerin Domatesin PME, PG ve LOX Aktivitesine Etkisi

Gıda endüstrisinde enzimleri inaktive etmek için kullanılmakta olan en yaygın işlem ısı uygulamasıdır. Atmosferik basınç altında, pH 4.4'te %80 esterleşme derecesine sahip pektin ve saflaştırılmış PME varlığında domateste bulunan PG enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık 50°C olarak belirlenmiştir [29]. Pektinin esterleşme derecesine bağlı olarak PG enziminin inaktivasyon sıcaklıklarında farklılıklar olabilmektedir. PME enzimi ile esterifiye edilmiş esterleşme derecesi %35 olan pektin varlığında da optimum sıcaklık 50°C'dir. Ancak ortamda esterleşme derecesi %80 olan pektin bulunduğu PG optimum 60°C sıcaklıkta aktivite göstermektedir [58]. Mevcut literatür çalışmalarında PG aktivitesinin pektinin esterleşme derecesi azaldıkça arttığı bildirilmiştir [58, 59, 60].

Isıl işlem uygulamalarının PME ve PG enzimlerinin inaktivasyonu üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Isıl işlemin domates ve ürünlerinde bulunan pektolitik enzim inaktivasyonuna etkisi

Ürün	Enzim	Sıcaklık/Süre	Inaktivasyon(%)	Referans
Domates	PME	70°C/5 dk	100	Rodrigo ve ark. [64]
Domates suyu	PME	70°C/1 dk	38	Vercet ve ark. [61]
Domates suyu	PME	60, 65, 70°C/ 90.1, 23.5, 3.5 dakika	90	Wu ve ark. [62]
Domates suyu	PG	93°C/3 dk	100	Fachin ve ark. [65]
Domates püresi	PME	75°C/1 dk	100	Houben ve ark. [63]

Domates salçasının reolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada 70°C'de 1 dakika ısıtılan domates suyunun başlangıç PME aktivitesinde %38 azalma saptanmış, PG aktivitesinin ise değişmediği tespit edilmiştir [61]. Bir başka çalışmada ise domates suyunun 60, 65 ve 70°C'de sırasıyla 90.1, 23.5 ve 3.5 dakika ısıtılması ile PME aktivitesinde yaklaşık %90 azalma belirlenmiştir [62].

Houben ve ark. [63] domates püresinde bulunan PME enziminin tamamen inaktive edilebilmesi için 75°C'de 5 dakikalık ısıl işlem uygulanması gerektiğini belirtmişlerdir. Rodrigo ve ark. [64] ise dört farklı domates çeşidinden ekstrakte edip saflaştırdıkları PME enzimlerinin 70°C'de 5 dakikalık ısıl işlem ile tamamen inaktive olduğunu ayrıca domatesten saflaştırılmış PME'in sıcaklığa karşı PG₂'den daha dayanıklı olduğunu PG₁'den ise daha az dayanıklı olduğunu belirlenmişlerdir. Bu sonuçlar Fachin ve ark. [65] tarafından tek bir domates çeşidinde gerçekleştirilen PME inaktivasyonu için de benzer şekilde bulunmuştur.

Houben ve ark. [63] domates püresinde ısıtmanın PME enziminin yanı sıra PG enziminin aktivitesine etkisini belirlemişlerdir. PG enzimi için inaktivasyon fazlarından biri 60°C'nin altında diğeri ise 80°C'de başlamaktadır. Bu izoenzimlerin varlığı domates çeşidine göre değişiklik göstermekte ve ısıya dirençli PG izoenzimi PG populasyonunun %14-75'ini oluşturmaktadır [20, 64, 65]. Bu çalışmada PG enziminin ısıya dirençli formunun

varlığının domates püresinin üretim prosesine bağlı olabileceği ve olgun domateste bulunmayabileceği belirtilmiştir. Peeters ve ark. [66] domates suyunda enzimin ısıya dirençli formunun önemli bir miktarda bulunduğunu ancak parçalanmış domateste bulunmadığını gözlemlemişlerdir [63].

Domates suyunun ısıtılmasının PG aktivitesine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 5 dakika süreyle 40-90°C aralığında ısıl işlem gerçekleştirilmiştir. 70-93°C arasındaki sıcaklıklarda 1 dakika süreyle uygulanan ısıl işlem sonucunda kalan enzim aktivitesinin %3 ile 17 arasında değiştiği ve 93°C'de 3 dakikalık ısıtma ile PG enziminin tamamen inaktive olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada PG enziminin iki inaktivasyon aşaması olduğu 1. aşamada inaktivasyonun yaklaşık 55°C'de başladığı diğer aşamada ise inaktivasyonun başladığı sıcaklığın 65°C olduğu görülmüştür [65]. Söz konusu iki inaktivasyon aşaması farklı ısıl stabiliteye sahip, iki tip PG izoenziminin varlığı ile ilişkilendirilmiştir [65, 67, 68]. Bir başka çalışmanın sonuçlarına göre farklı ısıl stabiliteye sahip PG izoenzimlerinden PG₁ 85°C ve üzerindeki sıcaklıklarda inaktive olurken PG₂ 75°C'nin altında hızlı bir inaktivasyona uğramaktadır [20]. Dolayısıyla enzimlerin farklı izoenzimlerinin inaktivasyon kinetikleri birbirinden farklılık göstermekte, hammaddeye göre bu durum gıda işlemede göz önünde bulundurulmalıdır.

Isıl Olmayan İşlemlerin Domatesin PME, PG ve LOX Aktivitesine Etkisi

Domatese ısı işlem uygulaması ile mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu böylelikle ürünün raf ömrünün uzatılması gıda muhafazasında en sık kullanılan yöntemdir. Ancak, ısı işlemler gıdaların besleyici ve duyuşsal özelliklerinde kayıplara neden olabilmektedir [69, 70]. Bu nedenle, son yıllarda ısı olmayan teknolojiler üzerinde yoğunlaşmış ve vurgulu elektrik alan, yüksek basınç, ultrasonikasyon ve UV-C uygulaması olmak üzere bu teknolojilerin tek başına ya da ısı işlemlerle birlikte kullanımının enzim inaktivasyona etkisinin araştırıldığı çalışmalar artış göstermiştir.

Bu teknolojiler arasında yer alan vurgulu elektrik alan sıvı ürünlerin raf ömrünü artırırken tat, renk ve besleyici öğelerin kaybını azaltmaktadır [71, 72, 73, 74]. Enzimler üzerine etkisinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmalardan domates kaynaklı pektin metilesteraz üzerine vurgulu alan uygulaması sonucunda (24 kV/cm, 20 µs vurgu genişliği 400 adet vurgu, 800 µs işlem süresi) enzim aktivasyonunda % 93.8 azalma olduğu belirlenmiştir [7]. Diğer benzer bir çalışmada vurgulu elektrik alan uygulama koşulları (19.1 kV/cm, 40 µs vurgu genişliği, 1600 µs işlem süresi, 5 Hz) değiştirildiğinde domatesten elde edilen pektin metilesteraz aktivitesinde % 87'lik azalma gerçekleşmiştir [75]. Vurgulu elektrik alan etkisi enzim tipine ve bulunduğu gıda maddesinin özelliklerine göre farklılık göstermektedir.

Domates suyuyla yapılmış olan iki farklı çalışmada ise vurgulu elektrik alan uygulamasının lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. 40 kV/cm, 2 µs vurgu genişliği, 57 µs işlem süresi, 1000 pps, 500 L/h uygulaması sonucunda LOX enziminin aktivitesi % 54 azalırken, 30 kV/cm, 3 µs vurgu genişliği, 60 µs işlem süresi, 1 mL/s, 50°C uygulaması ile azalma % 88.1'e yükselmiştir [45, 76]. Vurgulu elektrik alan uygulamasının sıcaklık etkisiyle birlikte kullanılması enzimlerin inaktivasyonu arttırdığı çalışma sonuçlarından da görülmektedir. Vurgulu elektrik alan uygulamasının enzimler üzerine etkisini belirlemek için yapılmış çalışma sonuçlarına göre hedef enzime göre inaktivasyon oranları değişiklik göstermektedir. Sonuçların karşılaştırılabilmesi için yeterli sayıda çalışma literatürde yer almamaktadır. Domates yapısında bulunan enzimlerden pektin metilesteraz ve lipoksigenaz ile ilgili çalışmalar yapılmış ancak poligalaktronaz ile ilgili herhangi bir veriyeye ulaşılamamıştır.

Gıdalara ısı olmayan teknolojilerden bir diğeri olan yüksek basınç uygulamalarında da genellikle sıvı ya da püre halindeki gıdalarla çalışılmaktadır. Ancak domateslere yüksek basınç uygulamaları küp şeklinde kesilmiş, bütün kiraz domates, domates püresi ve suyu gibi ürünlerde denenmiştir. Ayrıca domatesten ekstrakte edilen saf enzimler üzerinde gerçekleşen etkiler de çalışılmıştır. Shellhammer ve ark. [1] küp şeklinde doğranmış domatese yüksek basınç uygulamasının PME, PG ve LOX enzimlerine etkisini araştırdıkları çalışmada domateslere iki farklı sıcaklıkta (25 ve 45°C)

1, 3 ve 5 dakika süre ile 400, 600 ve 800 MPa basınç uygulanmıştır. 800 MPa basıncın LOX ve PG enzimlerinin inaktivasyonunda belirgin bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). PME'in ise yüksek basınca oldukça dirençli olduğu saptanmıştır. Bütün haldeki kiraz domatese yüksek basınç uygulanan bir başka çalışmada ise 20 dakika 600 MPa basınçta kontrol örneğe göre PME enziminin aktivitesinde belirgin bir farklılık görülmemiştir [77].

Domates püresine oda sıcaklığında 30 saniye uygulanan 700 MPa yüksek basınç ile 90°C'de ısıtılan domates püresine kıyasla viskozite ve su tutma özelliği bakımından daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek basınç kullanımının pektik enzimlerin inaktivasyonunda yeterli olmadığı ancak belirtilen koşullarda basınç ve sıcaklık birlikte uygulandığında pektik enzimlerin (PME ve PG) aktivitesinde % 99'dan daha fazla azalma sağlandığı bildirilmiştir [78].

Hidrostatik basınç (100-500 MPa, 4, 25 ve 50°C, 10 dk.) uygulamasının domates suyu kalitesine etkisinin incelendiği bir başka çalışmada basıncın PME ve PG enzimlerinin aktivitesine etkisi değerlendirilmiştir. 100 MPa basınç her üç sıcaklıkta da PME aktivitesinde belirgin bir değişikliğe neden olmamıştır. PME aktivitesi 300 MPa basınç ve 50°C sıcaklıkta, 0.1 MPa basınç uygulanmış kontrol örneğe göre yaklaşık 1.7 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu aktivite artışı basınç ile enzim ya da substrat molekülünde meydana gelen geri dönüşümlü yapısal değişimlere dayandırılmıştır [79, 80]. PME enziminin inaktivasyonu için en etkili basınç-sıcaklık kombinasyonu 200 MPa ve 25°C olarak belirlenmiştir. Belirtilen basınç ve sıcaklıkta enzimin aktivitesinde %27.8 azalma sağlanmıştır. Çalışmada 4°C ve 25°C sıcaklık, 400 MPa ve üzerindeki basınç uygulaması ile PG aktivitesinde % 90'a varan azalma elde edilmiştir. 50°C sıcaklıkta uygulanan basınca PG enziminin çok daha dayanıklı olduğu görülmüştür [80]. Benzer bir çalışmada domatesten bulunan PME enzimi 0.1 MPa ve 70°C'de tamamen inaktive olmuştur. Ancak inaktivasyon hız sabiti 300-600 MPa arasındaki basınç uygulamalarında belirgin ölçüde azalma göstermiştir [81]. Domates suyu ile çalışılan bir başka araştırmada basınç ve sıcaklığın birlikte kullanımı ile (200-550 MPa, 5-55°C, 210-6 dakika) PG aktivitesinin %30-80 aralığında azaldığı belirtilmiştir. Buzlu su içerisinde 4 gün süreyle depolama boyunca PG reaktif olmamıştır. 550 MPa basınç ve 20°C sıcaklıkta PG enziminin tamamen inaktive olduğu görülmüştür [65]. Rodrigo ve ark. [54] domates suyuna 400 MPa'nın altındaki basınç uygulaması ile atmosferik basınca göre LOX aktivitesinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumu basınç uygulamasının enzimin ekstraksiyonuna etkisi ve hücre membranına bağlı durumdaki enzimin kullanılabilirliğini kolaylaştırması ile açıklamışlardır. 550 MPa üzerindeki 12 dk. basınç uygulaması ile LOX enziminin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

Dört farklı domates çeşidinden ekstrakte edilip saflaştırılan PME ve PG enzimlerine yüksek basıncın etkisinin incelendiği bir çalışmada basınç ve sıcaklığa karşı enzimlerin stabilitelerinin dört domates çeşidi için aynı olduğu belirlenmiştir. Domatesten PG enziminin iki

formu bulunmaktadır. Isıya dayanıklı formu olan PG₁ 90°C'de 5 dakikada, ısıya duyarlı formu ise PG₂ ise 65°C'de 5 dakikada inaktive olmuştur. PG₂ homodimer yapıda iken PG₁ formu heterodimer yapıda olup katalitik ve katalitik olmayan (ya da β) alt birimler içermektedir. Enzimin iki formunun inaktivasyon sıcaklığındaki farklılık söz konusu yapı farklılığından kaynaklanmaktadır [66, 82]. Buna karşın PG₁ ve PG₂ basınca karşı aynı stabiliteyi göstermiş, her ikisi de oda sıcaklığında 300-500 MPa basınçta aktivitesini kaybetmiştir. PME 70°C'de 5 dk. ısı uygulaması ile inaktive olurken yüksek basınçta (850 MPa, 15 dk., 25°C) aktivitesinin % 50'sini koruduğu belirlenmiştir [64].

Verlent ve ark. [58] aynı esterleşme derecesine sahip iki farklı tipte pektik substrat (pektinin domateste bulunan PME ya da fungal PME ile deesterifikasyonu ile elde edilmiş) varlığında basınç ve sıcaklığın PG aktivitesine etkisini belirlemişlerdir. Çalışmada fungal PME varlığında serbest karboksil gruplarının rastgele dağıldığı ve bu rastgele dağılım nedeniyle substratın PG enziminin daha iyi korunduğu bildirilmiştir. Bu nedenle çalışma kapsamında sıcaklık-basınç uygulamalarında PG aktivitesi domates PME'si varlığında daima fungal PME varlığındaki PG aktivitesinden daha yüksek bulunmuştur. Pektik substratların her ikisi için test edilen tüm sıcaklıklarda basınç artışı ile PG aktivitesinde azalma meydana geldiği görülmüş ve bu azalmanın yüksek sıcaklıklarda daha belirgin olduğu saptanmıştır.

Çalışmalarda genellikle sıcaklık ve basınç artışının domateste bulunan PME enziminin aksine PG enziminin inaktivasyon hızını arttırdığı belirtilmektedir. Bununla birlikte, literatürde domates ekstraktından elde edilmiş PG enziminin basınca dayanıklı formunun % 5'inin 300-600 MPa ve 50°C'ye kadar uzun süreli bir basınç uygulamasından etkilenmediği bir çalışma da bulunmaktadır [83]. Ancak, enzimin aynı basınç aralığında domates püresinde [63] domates suyunda [81] ve küp şeklindeki domateste [1] basınca dayanıklı formu belirlenmemiştir [82]. Basınç ile PG inaktive edildiğinden ve pektinin su bağlama kapasitesi arttığından [78, 84] yüksek basınç teknolojisi, işlem koşulları optimize edildiğinde viskoz domates ürünlerinin üretiminde ısı işlemlere alternatif olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

Ultrasonikasyon ise enzimler üzerine etkili olabilen bir diğer ısı olmayan işlemdir. Ultrason uygulamasının domates üzerine etkilerinin belirlendiği çalışmalardan birisinde Vercet ve ark. [61] sıcaklık, basınç ve ultrasonun birlikte kullanımının (manotermosonikasyon) domateste bulunan pektik enzimlere (PME, PG) ve domates salçasının reolojik özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Domates suyuna manotermosonikasyon (20 kHz, 200 kPa, 117 µm, 70°C) uygulanmış bununla birlikte 70°C sıcaklıkta 1 dk. süreyle ısıtılan domates suyunda enzim inaktivasyonu belirlenmiştir. Sadece ısıtılan domates suyunda başlangıç PME aktivitesinde % 38 azalma sağlanırken manotermosonikasyon işlemi uygulanmış domates suyunda PME belirlenmemiştir. Manotermosonikasyon ile PG aktivitesi ise % 62 azalmıştır. Isı uygulamasıyla PG aktivitesinin hiç değişmediği saptanmıştır. Çalışmadan elde edilen

sonuçlar doğrultusunda yüksek viskozitede domates suyu üretiminde manotermosonikasyonun kullanılabilmesi vurgulanmıştır. Domates suyuna termosonikasyonun (24 kHz, 25, 50 ve 75 µm, 60, 65 ve 70°C) veya belirtilen sıcaklıklarda ısı işlemin etkisinin belirlendiği bir çalışmada kalitenin artırılmasına yönelik çalışılmış bu amaçla PME enziminin inaktivasyonu incelenmiştir. 60, 65 ve 70°C'de sırasıyla 41.8, 11.7 ve 4.3 dakikalık sürelerde termosonikasyon uygulaması PME aktivitesinde yaklaşık %90'lık bir azalma sağlamıştır. Sadece ısı işlem ile 60, 65 ve 70°C için sırasıyla 90.1, 23.5 ve 3.5 dakikada PME enziminin aktivitesinde yine yaklaşık %90 azalma saptanmıştır. Termosonikasyon uygulamasında sıcaklığın 70°C'ye yükseltilmesinin herhangi bir avantaj sağlamadığı diğer sıcaklıklar ile aynı etkiyi gösterdiği görülmüştür. Bu durumun yüksek sıcaklıklarda hava kabarcıkları içerisinde artan buhar basıncının işlemin etkinliğini engelleyici etkisinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir [85]. Bu nedenle aynı sıcaklıkta ve sürede gerçekleştirilen 60 ve 65°C'de uygulanan termosonikasyon işlemi ile yüksek viskozitede PME enziminin aktivitesinin minimum olduğu domates suyu üretilebileceği belirtilmiştir. Çalışma kapsamında PG enziminin inaktivasyonu değerlendirilmemiştir. Ancak termosonikasyonun PG enzime etkisinin PME enzime etkisine benzer olabileceği ve söz konusu uygulama ile sağlanan PG inaktivasyonunun yüksek viskozitede ürün elde edilmesine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir [62]. Wu ve ark. [62] farklı genlikte termosonikasyon uygulamasının (27-75 µm) PME enziminin inaktivasyonunda belirgin bir artışa neden olmadığını belirtmişlerdir. Raviyan ve ark. [86] tarafından yapılan çalışmada ise domates suyunda kaviteasyon artırılması ile inaktivasyon hızında belirgin bir artış sağlanmıştır. Bu çalışmada ayrıca, ısı ve ultrasonun birlikte kullanımının (termosonikasyon) yalnızca ısı işlem uygulamasına göre PME inaktivasyonunda daha etkili bir artış sağladığı rapor edilmiştir. Mevcut literatür çalışmalarında ultrason teknolojisi ısı işlemlerin neden olduğu kayıpların önlenmesinde ve PME enziminin inaktivasyonunda kullanılabilme potansiyeline sahip yeni teknolojilerden biri olarak değerlendirilmektedir.

Çevre dostu teknolojilerden biri olarak kabul edilen bir diğer uygulama olan UV-C (190-280 nm) meyve ve sebzelerin muhafaza süresini uzatmak bakımından olumlu görülen yeni bir yaklaşımdır [87, 88]. Bu ve ark. [89] kiraz domatese 4.2 kJ/m² dozda 8 dk. süre ile UV-C uygulanmasının PME ve PG aktivitesine etkisini belirlemişlerdir. Hem UV-C uygulanan hem de kontrol grubundaki kiraz domatesler 18 °C'de 35 gün süre ile % 95 bağıl neme sahip ortamda depolanmışlardır. Kontrol örnekteki PME aktivitesinde depolamanın ilk 10 gününde PME aktivitesi belirgin bir artış göstermiştir. UV-C uygulanan örnekte ise PME aktivitesinde herhangi bir artış saptanmamıştır. Kontrol örnekteki PG aktivitesi 25 gün süresince kararlı bir artış göstermiştir. Bu periyottan sonra kontrol örneğin PG aktivitesi azalmıştır. UV-C radyasyona maruz bırakılan kiraz domateste depolamanın ilk 20 gününde PG aktivitesinde artış meydana gelmemiştir. Daha sonraki depoma süresi boyunca PG aktivitesinin kontrol örneğinden belirgin bir

şekilde ($P < 0.05$) düşük olduğu rapor edilmiştir. Phan ve ark. [90] tarafından yapılan araştırmada ise PME aktivitesi baskılanmış domatesin sertliğinde artış sağlanmıştır. UV-C teknolojisi hücre duvarının degradasyonunda rol oynayan enzimlerin aktivitesini azaltmakta ve böylece meyvenin yumuşamasını geciktirmektedir [89, 91]. Söz konusu teknolojinin pratikte kullanılabilmesi için gerek hammaddede gerekse işlenmiş domates ürünlerinde pektik enzimlere olan etkisinin açıklığa kavuşturulması ve işlem koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir.

SONUÇ

Domates ve domates ürünlerinde en önemli kalite kriterleri konsistens, renk, tekstür ve lezzet olup bu kriterler ürün çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Domateste bulunan pektolitik enzimlerden en önemlisi pektin metilesteraz olup ürünlerin dokusal ve dolayısıyla akışkanlık özellikleri üzerinde oldukça etkilidir. Bu etki, domates ve ürünlerindeki pektin molekülünün esterleşme derecesine, pektin metilesteraz ve poligalakturonazın birlikte olan etkilerine ve ortamdaki izoenzimlerin bulunmasına kadar birçok faktörden etkilenmektedir. Ayrıca domates ve ürünlerinde en önemli sorunlardan bir diğeri ise depolamaya bağlı olarak renkte meydana gelen açılmalarıdır. Oksidasyon sonucu olan bu istenmeyen durum üzerinde karotenoidleri okside eden lipoksigenaz enziminin etkisi oldukça önemlidir. Lipoksigenaz aktivitesi ayrıca esansiyel yağ asitlerinin yıkıma uğraması sonucu istenmeyen lezzet oluşturmada ve bu reaksiyon sonucunda oluşan hidroperoksitler ve serbest radikaller vitamin ve proteinlerin parçalanmasına neden olabilmektedir. Gıda sanayinde domates ve domatesten elde edilen ürünlerin kalitesinde rol oynayan enzimlerin aktivitesinin kontrolünde ısı ve ısı olmayan teknolojiler veya bunların kombinasyonlarından yararlanılarak enzimlerin neden olduğu bu olumsuzluklar ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Ticari uygulamalarda ısı işlem bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır. Isı olmayan teknolojileri domates enzimleri üzerine olan etkileri literatürde yer almakta ancak ticari uygulamaları bulunmamaktadır. Ticari uygulamalarda kullanımları durumunda ise istenen özellikte üretime uygun olacak şekilde optimize edilmeleri gerekmektedir.

Yapılan çalışmalar işlem görmemiş domatesten ürünün işlenip tüketilmesine kadar pektin metilesteraz (PME), poligalakturonaz (PG) ve lipoksigenaz (LOX) aktivitesinin ürün kalitesi üzerinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle kaliteli gıda üretimi açısından söz konusu enzimler ve izoenzimleri ile ilgili araştırma sonuçları önemli ve yol göstericidir.

KAYNAKLAR

- [1] Shook, C.M., Shellhammer, T.H., Schwartz, S.J., 2001. Polygalacturonase, pectinesterase, and lipoxygenase activities in high pressure-processed diced tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 664-668.
- [2] Yener, F., 2007. Pektinaz enziminin farklı iki destek üzerine immobilizasyonu ve karakterizasyonu.

- [3] Celestino, S.M.C., Freitas, S.M., Medrano, F.J., Sousa, M.V., Filho, E.X.F., 2006. Purification and characterization of a novel pectinase from *Acrophialophora nainiana* with emphasis on its physicochemical properties. *Journal of Biotechnology* 123(1): 33-42.
- [4] Pedrolli, D.B., Monteiro, A.C., Gomes, E., Carmona, E.C., 2009. Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes. *The Open Biotechnology Journal* 3: 9-18.
- [5] Acar, J., Gökmen, V., 2005. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Ankara, Türkiye.
- [6] Özler, A., 2009. Malatya kayısılarından (*Prunus armeniaca* L.) pektinesteraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 74s.
- [7] Giner, J., Gimeno, V., Espachs, A., Elez, P., Barbosa Canovas, G.V., Martin, O., 2000. Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 1: 57-67.
- [8] Yıldız, H., Baysal, T., 2006. Effects of alternative current heating treatment on *Aspergillus niger*, pectin methylesterase and pectin content in tomato. *Journal of Food Engineering* 75: 327-332.
- [9] Yemencioğlu, A., Cemeroglu, B., 2003. Sıcaklık ve sürenin havuç ve yeşil fasulyelerde bulunan pektin metilesteraz enzimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi. *Gıda* 28(5): 491-495.
- [10] Laats, M.M., Grosdenis, F., Recourt, K., Voragen, A.G.J., Wichers, H.J., 1997. Partial purification and characterization of pectin methylesterase from green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 572-577.
- [11] Hudson, J.M., Buescher, R.W., 1986. Relationship between degree of pectin methylation and tissue firmness of cucumber pickles. *Journal of Food Science* 51: 138-140.
- [12] Chun, J.P., Huber, D.J., 1998. Polygalacturonase-mediated solubilization and depolymerization of pectic polymers in tomato fruit cell walls. *Plant Physiology* 117: 1293-1299.
- [13] DellaPenna, D., Lashbrook, C., Toenjes, K., Giovannoni, J.J., Fischer, R.L., Bennett, A.B., 1990. Polygalacturonase isozymes and pectin depolymerization in transgenic rin tomato fruit. *Plant Physiology* 94: 1882-1886.
- [14] Smith, C.J.S., Watson, C.F., Morris, P.C., Bird, C.R., Seymour, G.B., Gray, J.E., Arnold, C., Tucker, G.A., Schuch, W., Harding, S., Grierson, D., 1990. Inheritance and effect on ripening of antisense polygalacturonase genes in transgenic tomatoes. *Plant Molecular Biology* 14: 369-379.
- [15] Giovannoni, J.J., DellaPenna, D., Bennett, A.B., Fischer, R.L., 1989. Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic rin (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide

- degradation but not fruit softening. *Plant Cell* 1: 53–63.
- [16] Seymour, G.B., Lasslett, Y., Tucker, G.A., 1987. Differential effects of pectolytic enzymes on tomato polyuronides *in vivo* and *in vitro*. *Phytochemistry* 26: 3137–3139.
- [17] Huber, D.J., 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews* 5: 169–219.
- [18] Yemencioğlu, A., Cemeroğlu, B., 2004. Kornişon (*Cucumis sativus*) pektin metilesteraz enziminin bazı nitelikleri. *Gıda* 29(1): 51-55.
- [19] Alonso, J., Rodriguez, T., Canet, W., 1995. Effect of calcium pretreatments on the texture of frozen cherries, role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1011-1016.
- [20] Anthon, G.E., Sekine, Y., Watanabe, N., Barrett, D.M., 2002. Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6153-6159.
- [21] Hayes, W.A., Smith, P.G., Morris, A.E.J., 1998. The production and quality of tomato concentrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38: 537-564.
- [22] Thakur, B.R., Singh, R.K., Nelson, P.E., 1996. Quality attributes of processed tomato products: a review. *Food Reviews International* 12: 375-401.
- [23] Cemeroğlu, B.S., 2011. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Cilt I. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye.
- [24] Anthon, G.E., Barrett, D.M., 2010. Changes in pectin methylesterification and accumulation of methanol during production of diced tomatoes. *Journal of Food Engineering* 97: 367–372.
- [25] Pressey, R., Avants, J., 1982. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonase: effects of pectinesterases. *Journal of Food Biochemistry* 6: 57-74.
- [26] Chuong, H.H., Şimşek, S., Reuhs, B.L., 2009. Analysis of cell-wall pectin from hot and cold break tomato preparations. *Food Research International* 42: 770–772.
- [27] Stadtman, F.H., Buhlert, J.E., Marsh, G.L., 1977. Titratable acidity of tomato juice as affected by break procedure. *Journal of Food Science* 42: 379-382.
- [28] Anthon, G.E., Barrett, D.M., 2012. Pectin methylesterase activity and other factors affecting pH and titratable acidity in processing tomatoes. *Food Chemistry* 132: 915-920.
- [29] Gaffe, J., Tieman, D.M., Handa, A.K., 1994. Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues. Effects of expression of a pectinmethylesterase antisense gene. *Plant Physiology* 105: 199–203.
- [30] Warrilow, A.G.S., Turner, R.J., Jones, M.G., 1994. A novel form of pectinesterase in tomato. *Phytochemistry* 35: 863–868.
- [31] Lee, M., Macmillan, J.D., 1968. Mode of action of pectin enzymes. I. Purification and certain properties of tomato pectinesterase. *Biochemistry* 7: 4005–4010.
- [32] Stolle-Smits, T., Beekhuizen, J.G., Recourt, K., Voragen, A.G.J., Van Dijk, C., 2000. Preheating effects on the textural strength of canned green beans. 1. Cell wall chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5269–5277.
- [33] Stanley, D.W., Bourne, M.C., Stone, A.P., Wismer, W.V., 1995. Low temperature blanching effects on chemistry, firmness and structure of canned green beans and carrots. *Journal of Food Science* 60: 327–333.
- [34] Greve, L.C., McArdle, R.N., Gohlke, J.R., Labavitch, J.M., 1994. Impact of heating on carrot firmness. Changes in cell wall components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 2900–2906.
- [35] Van Buren, J.P.S., 1979. The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies* 10: 1–23.
- [36] Bartolome, L.G., Hoff, J.E., 1972. Firming of potatoes: biochemical effects of preheating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20: 266–270.
- [37] Grassin, C., 2002. Firm up your fruit. *Fruit Processing* 12: 208–211.
- [38] Castaldo, D., Servillo, L., Laratta, B., Fasanaro, G., Villari, G., De Giorgi, A., Giovane, A., 1995. Preparation of high-consistency vegetable products: tomato pulps (part II). *Industrial Conserve* 70: 253–258.
- [39] Castaldo, D., Villari, G., Laratta, B., Impembo, M., Giovane, A., Fasanaro, G., Servillo, L., 1996. Preparation of high-consistency diced tomatoes by immersion in calcifying solutions: a pilot plant study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2600–2607.
- [40] Tandon, K.S., Baldwin, E.A., Shelwfelt, R.L., 2001. Aroma perception of individual volatile compounds in fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) as affected by the medium of evaluation. *Postharvest Biology and Technology* 2: 261–268.
- [41] Buttery, R.G., Teranishi, R., Ling, L.C., 1987. Fresh tomato volatiles: a quantitative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35: 540–544.
- [42] Hatanaka, A., 1993. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34: 1201–1218.
- [43] Galliard, T., Matthew, J.A., Wright, A.J., Fishwick, M.J., 1977. The enzymatic breakdown of lipids to volatile and non-volatile carbonyl fragments in disrupted tomato fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28: 863–868.
- [44] Anthon, G.E., Barrett, D.M., 2003. Thermal inactivation of lipoxygenase and hydroperoxytrieneic acid lyase in tomatoes. *Food Chemistry* 81: 275–279.
- [45] Min, S., Min, S.K., Zhang, Q.H., 2003. Inactivation Kinetics of Tomato Juice Lipoxygenase by Pulsed Electric Fields. *Journal of Food Science* 68(6): 1995-2001.
- [46] Von Elbe, J.H., Schwartz, S.J., 1996. Colorants. In: *Food Chemistry*, Edited by OR. Fennema, Marcel Dekker, New York, pp. 651-765.
- [47] Simpson, K.L., 1985. Chemical changes in natural food pigments. In: *Chemical changes in food during processing*, Edited by T. Richardson, JW. Finley, New York, pp. 409-443.

- [48] Baysal, T., Demirdöven, A., 2007. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme and Microbial Technology* 40(4): 491-496.
- [49] Cemeröglu, B., Karadeniz, F., Özkan, M., 2003. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye.
- [50] Barrett, D.M., Theerakulkait, C., 1995. Quality indicators in blanched, frozen, stored vegetables. *Food Technology* 49(62): 64–65.
- [51] Barrett, D.M., Garcia, E.L., Russell, G.F., Ramirez, E., Shirazi, A., 2000. Blanch time and cultivar effects on quality of frozen and stored corn broccoli. *Journal of Food Science* 65(3): 534-540.
- [52] Cabibel, M., Nicolas, J., 1990. Lipoxygenase from tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* L.). Partial purification, some properties and in vitro cooxidation of some carotenoid pigments. *Sciences des Aliments* 11(2): 277-290.
- [53] Calligaris, S., Falcone, P., Anese, M., 2002. Color changes of tomato purees during storage at freezing temperatures. *Journal of Food Science* 67(6): 2432-2435.
- [54] Rodrigo, D., Jolie, R., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2007. Thermal and high pressure stability of tomato lipoxygenase and hydroperoxide lyase. *Journal of Food Engineering* 79: 423-429.
- [55] Anese, M., Sovrano, S., 2006. Kinetics of thermal inactivation of tomato lipoxygenase. *Food Chemistry* 95: 131–137.
- [56] Martens, M., Scheerlinck, N., De Belie, N., De Baerdemaeker, J., 2001. Numerical model for the combined simulation of heat transfer and enzyme inactivation kinetics in cylindrical vegetables. *Journal of Food Engineering* 47: 185–193.
- [57] Williams, D.C., Lim, M.H., Chen, A.O., Pangborn, R.M., Whitaker, J.R., 1986. Blanching of vegetables for freezing – which indicator enzyme to choose. *Food Technology* 40(6): 130–140.
- [58] Verlent, I., Smout, C., Duvetter, T., Hendrickx, M.E., Van Loey, A., 2005. Effect of temperature and pressure on the activity of purified tomato polygalacturonase in presence of pectins with different patterns of methyl esterification. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 293–303.
- [59] Bonnin, E., Le Goff, A., Korner, R., Vigouroux, J., Roepstorff, P., Thibault, J.F., 2002. Hydrolysis of pectins with different degrees and patterns of methylation by the endopolygalacturonase of *Fusarium moniliforme*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1596: 83–94.
- [60] Thibault, J.F., Mercier, C., 1979. *Aspergillus niger* endopolygalacturonase. 2. Characterization and some properties. *Journal of Food Biochemistry* 2: 379–393.
- [61] Vercet, A., Sanchez, C., Burgos, J., Montanes, L., Lopez Buesa, P., 2002. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. *Journal of Food Engineering* 53: 273–278.
- [62] Wu, J., Gamage, T.V., Vilku, K.S., Simons, L.K., Mawson, R., 2008. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9: 186–195.
- [63] Houben, K., Jamsazzadeh Kermani, Z., Van Buggenhout, S., Jolie, R., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2013. Thermal and high-pressure stability of pectinmethylesterase, polygalacturonase, β -galactosidase and α -arabinofuranosidase in a tomato matrix: Towards the creation of specific endogenous enzyme populations through processing. *Food and Bioprocess Technology* 6(12): 3368-3380.
- [64] Rodrigo, D., Cortes, C., Clynen, E., Schoofs, L., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2006. Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. *Food Research International* 39: 440–448.
- [65] Fachin, D., Van Loey, A., Nguyen, B.L., Verlent, I., Indrawati, I., Hendrickx, M.E., 2003. Inactivation kinetics of polygalacturonase in tomato juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 4: 135–142.
- [66] Peeters, L., Fachin, D., Smout, C., Van Loey, A., Hendrickx, M.E., 2004. Influence of β -subunit on thermal and high-pressure process stability of tomato polygalacturonase. *Biotechnology and Bioengineering* 86(5): 543-549.
- [67] Lopez, P., Sanchez, A.C., Vercet, A., Burgos, J., 1997. Thermal resistance of tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase at physiological pH. *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung undforschung*. *Food Research and Technology* 204: 146–150.
- [68] Knecht, E., Vermeer, E., Bruinsma, J., 1988. Conversion of the polygalacturonase isoenzymes from ripening tomato fruits. *Physiologia Plantarum* 72: 108–114.
- [69] Braddock, R.J., 1999. Single strength orange juices and concentrate. In: *Handbook of citrus by-products and processing technology*, Wiley, New York, pp. 53–83.
- [70] Rouseff, R.L., Leahy, M.M., 1995. Fruit flavors. In: *Biogenesis, characterization, and authentication*, American Chemical Society, Washington D.C, pp. 164–81.
- [71] Evrendilek, G.A., Jin, Z.T., Ruhlman, K.T., Qiu, X., Zhang, Q.H., Richter, E.R., 2000. Microbial safety and shelf life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 1(1): 77–86.
- [72] Yeom, H.W., Streaker, C.B., Zhang, Q.H., Min, D.B., 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(10): 4597–4605.
- [73] Jin, Z.T., Zhang, Q.H., 1999. Pulsed electric field inactivation of microorganisms and preservation of quality of cranberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation* 23: 481–497.
- [74] Qiu, X., Sharma, S., Tuhela, L., Jia, M., Zhang, Q.H., 1998. An integrated PEF pilot plant for continuous nonthermal pasteurization of fresh

- orange juice. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 41(4): 1069–1074.
- [75] Espachs-Barroso, A., Van Loey, A., Hendrickx, M., Martín-Belloso, O., 2006. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7(1-2): 40-48.
- [76] Min, S., Zhang, Q.H., 2003. Effects of commercial-scale pulsed electric field processing on flavor and color of tomato juice. *Journal of Food Science* 68(5): 1600-1606.
- [77] Tangwongchai, R., Ledward, D.A., Ames, J.A., 2000. Effect of high-pressure treatment on texture of cherry tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1434-1441.
- [78] Krebbers, B., Matser, A.M., Hoogerwerf, S.W., Moezelaar, R., Tomassen, M.M.M., Van den Berg, R.W., 2003. Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 4: 377-385.
- [79] Ogawa, H., Fukuhisa, K., Kubo, Y., Fukumoto, H., 1990. Pressure inactivation of yeast, molds and pectinesterase in Satsuma mandarin juice: Effect of juice concentration, pH and organic acids and comparison with heat sanitation. *Agricultural and Biological Chemistry* 54(5): 1219–1225.
- [80] Hsu, K-C., 2008. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *Food Science and Technology* 41: 450–459.
- [81] Crelier, S., Robert, M.C., Claude, J., Juillerat, M.A., 2001. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) pectin methylesterase and polygalacturonase behaviors regarding heat- and pressure-induced inactivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5566–5575.
- [82] Bermejo-Prada, A., Van Buggenhout, S., Otero, L., Houben, K., Van Loey, A., Hendrickx, M.E., 2014. Kinetics of thermal and high-pressure inactivation of avocado polygalacturonase. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* doi: 10.1016/j.ifset.2014.05.005.
- [83] Fachin, D., Van Loey, A., Indrawati, L., Ludikhuyze, L., Hendricx., 2002. Thermal and high-pressure inactivation of tomato polygalacturonase: a kinetic study. *Journal of Food Science* 67: 1610–1615.
- [84] Fernandez Garcia, A., Butz, P., Tauscher, B., 2001. Effects of high-pressure processing on carotenoid extractability, antioxidant activity, glucose diffusion, and water binding of tomato puree (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Food Science* 66: 1033–1038.
- [85] Mason, T.J., 1990. Introduction. In: Chemistry with ultrasound, Edited by, T.J. Mason, Elsevier Applied Science, New York, pp. 1–26.
- [86] Raviyan, P., Zhang, Z., Feng, H., 2005. Ultrasonication for tomato pectin methylesterase inactivation: Effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *Journal of Food Engineering* 70: 189–196.
- [87] Bal, E., Çelik, S., 2008. Hasat sonrası UV-C uygulamalarının giant erik çeşidinin meyve kalitesi ve soğukta muhafazası üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi* 14(2): 101-107.
- [88] Ben-Yehoshua, S., Mercier, J., 2005. UV irradiation, biological agents, and natural compounds for controlling postharvest decay in fresh fruits and vegetables. In: S. Ben-Yehoshua, Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality. CRC Taylor & Francis, Boca Roton, FL, pp. 265–299.
- [89] Bu, J., Yu, Y., Aisikaer, G., Ying, T., 2013. Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 86: 337–345.
- [90] Phan, T.D., Bo, W., West, G., Lycett, G.W., Tucker, G.A., 2007. Silencing of the major salt-dependent isoform of pectinesterase in tomato alters fruit softening. *Plant Physiology* 144: 1960–1967.
- [91] Barka, E.A., Kalantari, S., Makhlof, J., Arul, J., 2000. Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 667–671.