

1-1-1998

Characteristics of Polyphenol Oxidase in Hale Haven Paches

Ahmet YEMENİCİOĞLU

Bekir CEMEROĞLU

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture>



Part of the [Agriculture Commons](#), and the [Forest Sciences Commons](#)

Recommended Citation

YEMENİCİOĞLU, Ahmet and CEMEROĞLU, Bekir (1998) "Characteristics of Polyphenol Oxidase in Hale Haven Paches," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 22: No. 3, Article 7. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol22/iss3/7>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Agriculture and Forestry by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Hale Haven Şeftalilerinde Polifenol Oksidaz Enzimlerinin Bazı Nitelikleri

Ahmet YEMENİCİOĞLU, Bekir CEMEROĞLU
A.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 14.03.1996

Özet: Bu çalışmada "Hale Haven" şeftalilerinde polifenol oksidaz (PPO) enziminin nitelikleri araştırılmıştır. Ham, yarı olgun ve tam olgun şeftalilerden öncelikle "Aceton powder" hazırlanmıştır. "Aceton Powder"dan hazırlanan enzim çözeltisinde optimum pH, Michaelis konstantı (Km), maksimum hız (Vmax) ve enzim aktivitesinin termal inaktivasyonu incelenmiştir.

Olgunluk aşamasına göre enzimin optimum pH derecesi 6.0-6.5 arasında bulunmuştur. Tam olgun şeftalilerde elde edilmiş enzimin pH 6.2 de Km=14.3 mM kateşol ve Vmax=1.25 Abs.da⁻¹. mL⁻¹ olduğu saptanmıştır.

Enzimin termal inaktivasyon kinetiği 70°C de araştırılmıştır. Her enzim ekstraktının termal inaktivasyon kurvesi, başlangıçta dik bir doğru, sonra daha yatık bir doğru olmak üzere iki bölümden oluştuğu belirlenmiştir. Bu nedenle şeftali PPO enziminin ısıya direnci farklı iki izoenzimden oluştuğu sonucuna varılmıştır. Başlangıçtaki hat, ısıya duyarlı enzimin inaktivasyonunu, ikinci hat ise ısıya dirençli enzimin inaktivasyonunu temsil etmektedir. Isıya dirençli fraksiyonun 70°C de inaktivasyonu, birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uymaktadır. Reaksiyon hız konstantları, ham, yarı olgun ve tam olgun şeftalilerde sırasıyla, 20.36, 23.17 ve 19.66.10⁻².dak⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Toplam enzim aktivitesinde ısıya dirençli kısmın oranı, inaktivasyon kurvesinin sıfır zamana kadar ekstrapolasyonu ile hesaplanmıştır. Bu değerlerin, ham, yarı olgun ve tam olgun meyveler için sırasıyla %83, %48 ve %55 olduğu saptanmıştır.

Characteristics of Polyphenol Oxidase in Hale Haven Paches

Abstract: The characteristics of polyphenol oxidase (PPO) from "Hale Haven" peaches were investigated. "Aceton Powder" was first prepared from peaches at three different maturity stages, namely unripe, half-ripe and fully ripe.

The optimum pH, Michaelis constant (Km), maximum velocity (Vmax) as well as thermal inactivation of enzyme activity were studied with the enzyme solution prepared from "Aceton Powder".

According to the degree of maturity, the pH optimum of PPO was between 6.0 and 6.5. The enzyme from fully ripe peaches showed a Km of 14.3 mM for catechol and Vmax of 1.25 OD min⁻¹ mL⁻¹ at pH 6.8.

The thermal inactivation kinetics of enzyme was studied at 70°C. The heat inactivation curve for each enzyme extract consisted of an initial steep straight line, and a final straight line with a shallow slope. It was therefore concluded that two isoenzymes of PPO with different resistances were present in peaches. The initial line represented inactivation of heat-labile enzyme and second heat-resistant enzyme. The inactivation of the heat-resistant fraction at 70°C followed a first order reaction kinetics. The rate constants were 20.36, 23.17 and 19.66.10⁻².min⁻¹ for unripe, half-ripe and fully ripe peaches, respectively.

The proportion of heat-resistant portion in total activity was estimated by extrapolating the heat resistant curve to zero time. These values were 83%, 48% and 55% of total enzyme activity for unripe, half-ripe and fully ripe fruit, respectively.

Giriş

Bir çok meyve ve sebzelerde gerek hasat veya taşıma sırasında mekanik bir zedelenme sonucu, gerekse bunların herhangi bir ürüne işlenmesi aşamasında uygulanan doğrama, parçalama ve ezme gibi işlemler sırasında renkte esmerleşme ve bozulmalar belirmektedir. Bu olayın nedeni polifenol oksidaz enzim (PPO) aktivitesidir (1, 2). PPO enzimleri, oksidoredüktaz grubuna giren enzimlerdir (3). Enzimatik esmerleşme denen bu olay, iki farklı mekanizmaya göre gelişmektedir. Bunlardan birisi, monofenolik bileşiklerin o-difenollere hidroksilasyonu (krezolaz aktivitesi), diğeri ise o-difenollerin o-kinonlara

oksidasyonudur (kateşolaz aktivitesi). Uluslararası enzim sistematğine göre; krezolaz aktivitesi; "Monofenol monooksigenaz" (1.14.18.1), kateşolaz aktivitesi ise "Difenol oksidaz" (1.10.3.2) ismi ile anılan enzimlerce gerçekleştirilmektedir (4). PPO enzimlerinin neden olduğu esmerleşmeler, ürünün sadece renginde bozulmaya neden olmamakta, aynı zamanda diğer duyuşal özelliklerine de yansımaktadır (5). Bu nedenle olayın önlenmesi veya sınırlandırılması amacıyla PPO enzimlerinin nitelikleri üzerinde çok çeşitli araştırmalar yürütülmüştür (1, 4, 6, 7, 8, 9). Her meyve ve sebzede ki PPO enziminin nitelikleri birbirinden oldukça farklıdır

(3). Hatta aynı tür meyve ve sebzenin PPO enziminin nitelikleri, yetiştirme koşulları ve olgunluk aşamasına göre farklı olabilmektedir (10, 11). Buna bağlı olarak şeftali PPO enziminin nitelikleri üzerinde de bazı çalışmalar yapılmıştır (12, 13, 14, 15).

Bu araştırmada Bursa yöresinde yetiştirilmekte olan farklı olgunluklardaki Hale Haven çeşidi şeftalilerin PPO enziminin bazı nitelikleri incelenmiştir.

Materyal ve Metod

Materyal

Materyal olarak, A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot işletmesine pulpa işlenmek üzere Bursa yöresinde sağlanmış Hale Haven şeftalileri kullanılmıştır. Bu şeftaliler, ham, yarı olgun ve olgun olmak üzere üç gruba ayrılmış ve her biri araştırmanın çeşitli aşamalarında materyal olarak kullanılmıştır.

Metod

Enzim Ekstraktının Hazırlanması: Enzim ekstraktı hazırlanmada; birçok araştırmacı tarafından izlenen, önce "aseton tozu" (Aceton Powder) elde edilmesi ve sonra bundan enzimin ekstraksiyonu olmak üzere iki aşamalı bir işlemde oluşan yöntem uygulanmıştır (16). Bu amaçla bir miktar şeftali iyice yıkandıktan sonra çekirdekleri çıkarılmış ve beş altı parçaya bölünmüştür. Bundan yaklaşık 200 g kadar tartılıp bir Waring Blender haznesine aktarılmıştır. Üzerine daha önce derin dondurucuda bekletilerek -30°C civarına kadar soğutulmuş yaklaşık 400 mL aseton eklenmiştir. Waring blender, en yüksek devrinde 2 dakika çalıştırılarak şeftaliler bu soğuk aseton içinde parçalanmışlardır. Elde edilen bulamaç Buchner hunisinde Whatman No 1 filtre kağıdı yardımıyla filtre edilmiştir. Filtre kağıdı üzerindeki kalıntı, Waring Blender haznesine geri alınarak ve üzerine yeniden 200 mL, -30°C'ye kadar soğutulmuş aseton eklenerek işlem peşpeşe üç defa tekrar edilmiştir. Filtre üzerindeki son kalıntı geniş bir porselen kaba yayılarak oda sıcaklığında bir gece kendi haline kurumaya bırakılmıştır. Açık sarı renkli, pudra görünümündeki bu materyale yaygın terim ile "aseton tozu" (Aceton Powder) denmektedir. Aseton tozu, kullanılabilece kadar -30°C civarında saklanmıştır. Gereklikçe deneylerde kullanılacak enzim ekstraktı bu aseton tozundan üretilmiştir. Bu amaçla bir behere yaklaşık 2 g aseton tozu alınıp üzerine, önceden yaklaşık +4°C'ye kadar soğutulmuş, pH 6.8, 0.05 M Na-fosfat tampon çözeltisinden 150 mL eklenmiştir. Beher içeriği soğuk bir ortamda, manyetik karıştırıcı ile 30 dakika süreyle karıştırılmak ve karışımın sıcaklığı +4°C de tutulmak suretiyle enzimin ekstraksiyonu sağlanmıştır.

Nihayet, santrifüjden geçirilerek ekstraktın olabildiğince berraklaşması sağlanmıştır. PPO enziminin başlıca niteliklerini belirlemede bu ekstrakt kullanılmıştır. Ekstrakt daima taze olarak hazırlanmış ve kullanılabilece kadar geçen kısa süre içinde ise, buzdolabında +4°C civarında saklanmıştır.

Aktivite Tayini: PPO aktivitesinin tayininde substrat olarak kateşol kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı; 2 mL fosfat tampon çözeltisi (pH 6.2, 0.05 M) + 0.5 mL "enzim içeren çözelti" + 0.5 mL substrat (0.5 M) çözeltisinden oluşturulmuştur. Reaksiyon karışımı 30°C de 5 dak inkübe edildikten sonra 15 saniye aralıklarla 410 nm dalga boyunda (1) absorbans ölçümleri yapılmıştır. Bu amaçla PYE UNICAM Spektrofotometreden yararlanılmıştır. Absorbans x süre ilişkisini yansıtan kurvenin eğimi, "Absorbans. dak⁻¹. ml⁻¹" cinsinden hesaplanmış ve "aktivite düzeyi" olarak belirtilmiştir.

Enzim Aktivitesine pH derecesinin etkisi: 0.05 M Na-Fosfat tampon çözeltisiyle reaksiyon ortamının pH derecesi, 5.2-6.7 arasında farklı 7 pH düzeyine ayarlanmış ve bu ortamlarda enzim aktivitesi belirlenmek suretiyle pH'nın etkisi saptanmıştır.

Enzimin Isıl Direncinin Saptanması: Bu amaçla Termal Ölüm Tüpleri (TDT Tubes) kullanılmıştır. Tüplere konan pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi, enzimin eklenmesinden önce su banyosunda 70°C ye kadar ısıtılarak ısıtmada gecikme süresi (lag time) olabildiğince sınırlandırılmaya çalışılmıştır.

Enzimlerin ısıllı yolla inaktivasyonu çoğunlukla birinci dereceden kinetiğe uyduğundan (17, 18, 19) reaksiyon hız konstantı (k) 1 No'lu eşitlikle, yarı ömür süresi (t_{1/2}) 2 No'lu eşitlikle hesaplanmıştır.

$$\ln \frac{C}{C_0} = -k.t \quad (1)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 0.5}{k} \quad (2)$$

Burada; (C₀) ve (C) sıra ile başlangıçtaki ve (t) süre sonundaki aktivitelere dir.

Enzim Kinetiği: Substrat olarak kateşol kullanılmak suretiyle, Michaelis konstantı (K_m) ve maksimum hız (V_{max}), 3 No'lu eşitlik yardımıyla ve Hanes yerleşimi uygulanarak hesaplanmıştır.

$$\frac{S}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} \cdot S \quad (3)$$

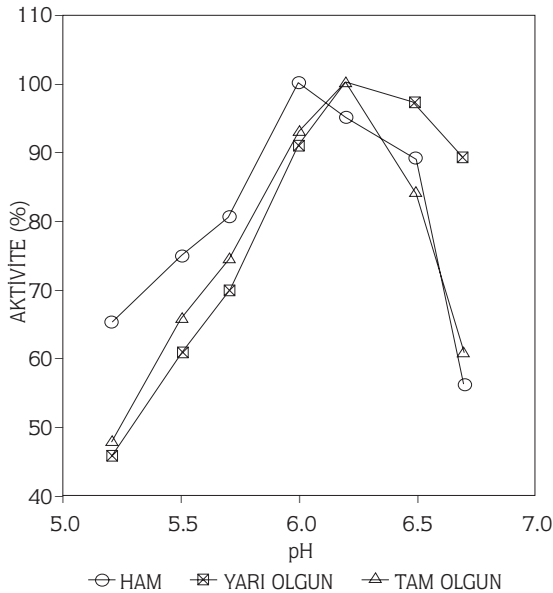
Burada; S (mM) ve V (Δ Abs.dak⁻¹.mL⁻¹) sıra ile; substrat konsantrasyonu ile reaksiyon hızını göstermektedir.

Bulgular ve Tartışma

Optimum pH

Şekil 1'de farklı olgunluk düzeyindeki şeftalilerden ekstrakte edilmiş PPO enzimlerinin aktivitelerinin üzerine, ortamın pH derecesinin etkisine ait bulgular verilmiştir. Buna göre, pH optimumunun ham şeftali kökenli PPO'lar için 6.0, yarı olgun ve olgun şeftali kökenliler içinse 6.2 olduğu anlaşılmaktadır. Birçok araştırmacı tarafından şeftali PPO enziminin optimum pH derecesi, 5.9-7.2 arasında saptandığı bildirilmektedir (3). Şeftali PPO enziminin optimum pH derecesinin çeşide göre belli bir düzeyde değiştiği belirtilmekle birlikte bu hususta ayrıca ortam olarak kullanılan tampon çözeltisinin niteliğinin de etkili olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim, optimum pH derecesinin Red Haven şeftalilerinde 6.0-6.5 ve Halford şeftalilerinde ise 6.2 olduğu bildirilmektedir (11). Ayrıca Fay Elberta şeftalilerinde sitrat-fosfat tamponunda 5.9-6.3, okzalat-fosfat tamponunda ise 6.5-6.8 olduğu açıklanmaktadır (13).

Tarafımızdan şeftali PPO enziminin pH optimumunun 6.0-6.5 arasında saptanmış olması özellikle, konserve üretiminde veya şeftalilerin doldurularak muhafazasında kabukların alkali ile soyulma işleminin titizlikle yürütülme gereğini göstermektedir. Böylece soyma sonunda pH derecesinin hızla düşürülmesi amacıyla şeftalilerin yıkanıp asit banyosundan geçirilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır.



Şekil 1. Şeftali PPO enzim aktivitesi üzerine ortam pH derecesinin etkisi.

Termal Stabilité

Farklı üç olgunluk aşamasındaki şeftalilerden ekstrakte edilmiş PPO enzimlerinin pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi ve 70°C de inaktivasyonlarına ait bulgular Şekil 2'de yarı logaritmik skalalı grafikte gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi her üç enzim; başlangıçta hızla inaktive olan, sonra daha yavaş bir hızla inaktive olan iki fraksiyondan oluşmaktadır. PPO enzimleri üzerinde yapılmış araştırmalarda, ısı dirençleri açısından ısıya duyarlı (heat labile) ve ısıya dirençli (heat stabile) olmak üzere genellikle iki fraksiyonun varlığı gözlenmiş bulunmaktadır (18, 20, 21). Şekil 2'de aynı sonuç açıkça belirtilmektedir. Nitekim, her üç enzim preparatında, "ısıya duyarlı" ve "ısıya dirençli" iki fraksiyonun birlikte bulunması nedeniyle her kurve, eğimleri birbirinden farklı 2 doğrudan oluşmaktadır. Bu kurvelerin birinci dakikaya kadar olan başlangıçtaki kısa bölümler, "ısıya duyarlı" izoenzimi temsil etmektedir. Bu ikinci hatların geri uzantılarının ordinatı kestiği noktaların, bu fraksiyonun yüzde oranını yaklaşık olarak gösterebileceği ileri sürülmektedir (20). Bu görüş tarafımızca da benimsenmektedir. Bu ilkeye göre, ısıya dirençli fraksiyonun toplam PPO'daki oranının; ham, yarı olgun ve olgun şeftaliler için sıra ile %83, %48 ve %55 olduğu Şekil 2'deki verilerden anlaşılmaktadır. Şunu da unutmamak gerekir ki bu oranlar 70°C de yapılmış deney verilerine dayanarak belirlenmiş oranlardır. Sıcaklık derecesi değiştiğinde bu oranların da değiştiği sonuçları burada verilmemiş deneylerden anlaşılmıştır. Buna göre ham şeftalilerde ısıya dirençli PPO enzimi fraksiyonunun çok yüksek olduğu, olgunlaşma ile bunun azaldığı fakat yarı olgun ve olgunlarda bu açıdan önemli bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonucun uygulamadaki anlamı; özellikle pulp üretiminde olgunlaşmamış meyvelerin ayrılması ve ısıtmanın meyvenin olgunluk düzeyine göre dikkatle yapılması gerektiğidir.

Şekil 2'de verilen termal inaktivasyon kurvelerinin ısı direnci yüksek izoenzimlere ait olan bölümlerinin yarı logaritmik skalalı grafikte düz hatlar şeklinde belirmesi, inaktivasyonun birinci dereceden kinetiğe uyduğunu

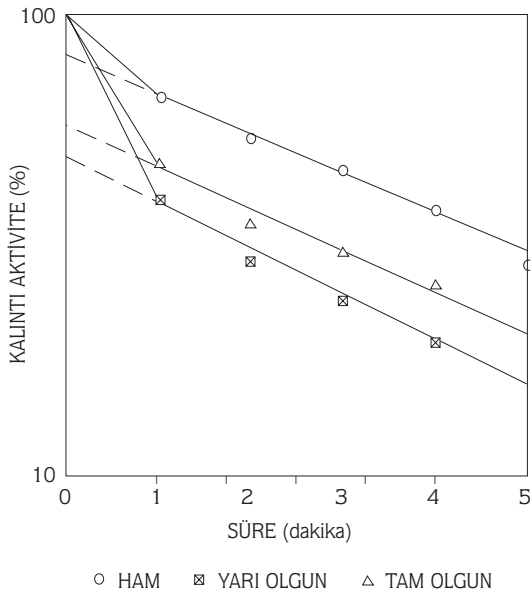
Tablo 1. Şeftali PPO Enziminin pH 6.8 fosfat tampon çözeltide, 70°C de inaktivasyonunda birinci dereceden hız konstantları (k) ve yarı ömür süreleri ($t_{1/2}$)

OLGUNLUK AŞAMASI	$k \cdot 10^2 \cdot \text{dak}^{-1}$	$t_{1/2}$ dak
HAM	20.36 (0.994)	3.4
YARI OLGUN	23.17 (0.994)	3.0
OLGUN	19.66 (0.983)	3.5

* Parantez içindeki değerler, korelasyon katsayılarını göstermektedir.

göstermektedir. Bu nedenle, farklı olgunluk düzeyindeki şeftalilere ait PPO enziminin ısıya dirençli fraksiyonlarının hız konstantları (k) ile yarı ömür süreleri ($t_{1/2}$) hesaplanmış ve tablo 1'de verilmiştir. Isıya duyarlı fraksiyonlar çok hızlı bir şekilde inaktive olduğundan, sadece 1 dakika sonundaki aktivasyon düzeyleri saptanabilmiş ve bu yüzden bunlara ait hız konstantlarının hesaplanması yoluna gidilmemiştir.

Tablo 1'de verilmiş bulunan (k) değerlerinin birbirlerine çok yakın olması nedeniyle, bu eğrilerin üst üste çakışması gerekirdi. Çünkü her 3 deneyde başlangıç aktivitesi hangi düzeyde olursa olsun bunlar 100 olarak alınmıştı. Buna rağmen şekil 2'deki kurvelerin üst üste gelmeyişi; bunlardaki ısıya duyarlı ve dirençli fraksiyonların farklı oranda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Yoksa kurvelerin konumu bu izoenzimlerin ısıya direnç düzeyi ile ilgili değildir. Tablo 1'de, ısıya dirençli fraksiyonun 70°C de yarı ömür süresinin 3.0-3.5 dakika olduğu anlaşılmaktadır.

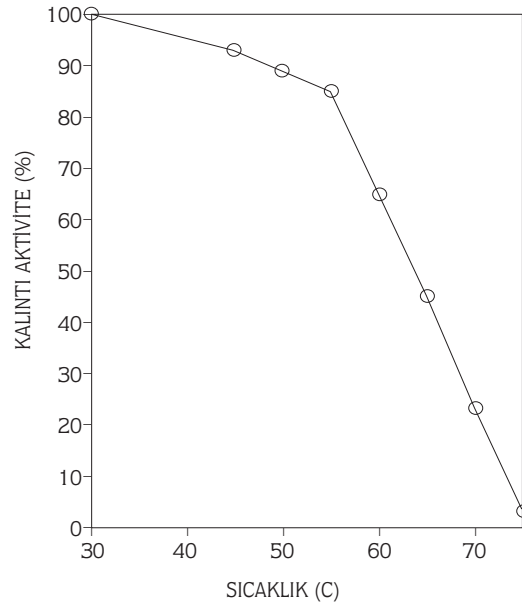


Şekil 2. Şeftali PPO enziminin, pH 6.8 tampon çözeltisi içinde 70°C de inaktivasyonu

Şeftali PPO enziminin ısıl stabilitesi üzerinde literatürde çok az veri bulunmaktadır. Cortez çeşidi şeftalilerden izole edilmiş 4 izoenzimden üçünün 55°C deki yarı ömür sürelerinin ($t_{1/2}$) sıra ile 5.5, 14.1 ve 14.6 dakika olduğu, dördüncüye ait $t_{1/2}$ değerinin ise 50 dakikaya kadar çıktığı ve bunun ancak 76°C de kısa sürede inaktive edilebileceği belirtilmektedir (22).

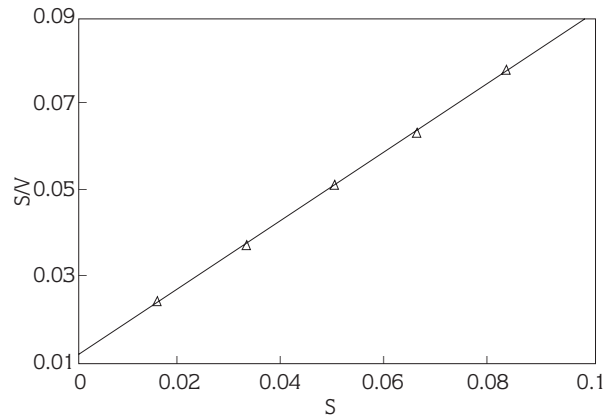
Enzimlerin ısıl stabilitesinin belirlenmesinde izlenen diğer bir yöntem ise, farklı sıcaklıklarda sabit bir süre sonunda kalıntı aktivite oranlarının saptanmasıdır. Şeftali PPO enziminin termal stabilitesini bu yöntemle uygun

olarak saptamak için, yarı olgun şeftalilerden elde edilmiş enzim ekstraktı kullanılmıştır. Enzim stabilitesi, enzim ekstraktının pH 6.2 fosfat tampon çözeltide, 30°-75°C'ler arasındaki çeşitli sıcaklıklarda 5'er dakika süreyle ısıya arzedilmesiyle belirlenmiş ve bulgular Şekil 3'de gösterilmiştir. 30°-55°C arasındaki sıcaklıkların 5 dakika süren etkisinin, enzim aktivitelerini çok az düzeyde düşürdüğü bu şekilde belirgin olarak görülmektedir. Ayrıca 55°C'nin inaktivasyon açısından kritik bir sıcaklık olduğu, bunun üzerindeki sıcaklıklarda inaktivasyonun çok hızlandığı aynı şekilde açıklıkla görülmektedir. Bütün bunlar, şeftali pulpu



Şekil 3. Yarı olgun şeftalilerden izole edilmiş PPO enziminin farklı sıcaklıklarda 5'er dakika süreyle ısıya arzedilmesinde kalıntı aktivite düzeyi.

üretiminde meyvenin, yeterli bir sıcaklıkta, yeterli süreyle ısıya arzedilmesinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Yine aynı şekilde dondurulacak şeftalilere ön



Şekil 4. Olgun Şeftali PPO enziminin Hanes yerleşimi (r=1.00)

işlem olarak "hafif bir haşlama" uygulamasının doğru olmayacağı anlaşılmaktadır.

Enzim Kinetiği

Şekil 4'de, tam olgun meyvelerden ekstrakte edilmiş PPO enziminin Michaelis konstantı (Km) ve, maksimum reaksiyon hızı (Vmax) gibi iki kinetik değer hesaplanmasına temel teşkil eden Hanes yerleşimi gösterilmiştir. Bu grafik yardımıyla şeftali PPO enziminin Km=14.3 mM kateşol ve Vmax=1.25 Δ Abs. $\text{dak}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ olduğu hesaplanmıştır. Michaelis konstantı enzimin substrata afinitesini, Vmax ise enzimin substrata doyduktan sonra ulaştığı

aktiviteyi gösterdiğinden bu katsayılar, substratlar arasındaki kıyaslamalarda kullanılabilir. Bu çalışmada sadece kateşol kullanıldığından böyle bir kıyaslama yapılamamaktadır. Ancak literatürdeki bazı verilerle kıyaslanabilir. Buna göre; Fay Elberta çeşidi şeftalilerden ekstrakte edilmiş PPO enzimi için Km=120 mM (kateşol) ve Vmax=16.7 Klett Üntesi/dak. olarak saptanmıştır (13). Red Haven şeftalilerinde ise, Km=29 mM (kateşol) (23), Halford şeftalilerinde Km=15 mM (kateşol) düzeyinde bulunduğu bildirilmektedir (24). Bu verilere göre tarafımızdan belirlenmiş bulunan Km değerinin literatür verileriyle uyduğu görülmektedir.

Kaynaklar

1. Lee, P.M., Lee, K., Karim, M.I.A., Biochemical Studies of Cocoa Bean Polyphenol Oxidase, *J. Sci. Food Agric.*, 55, 251-260, 1991.
2. Fujita, S., Tano, T., Kawahara, H., Purification and Properties of Polyphenol oxidase in Head Lettuce (*Lactuca sativa*), *J. Sci. Food Agric.* 55, 643-651. 1991.
3. Vamos-Vigyazo, L., Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci.*, 15, 49-127, 1981.
4. Siddiq, M., Sinha, N.K., Cash, J.N., Characterization of Polyphenoloxidase from Stanley Plums, *J. Food Sci.*, 57, 1177-1179, 1992.
5. Ponting, J.D., Bean, R.S., Notter, G.K., Makower, B., Degree of Heat-Inactivation of Polyphenol Oxidase and Quality of Frozen Apricot Puree, *Food Technol.*, 8, 573-575, 1954.
6. Tate, J.N., Luh, B.S., Yort, G.K., Polyphenol Oxidase in Bartlett Pears, *J. Food Sci.*, 29, 829-836, 1964.
7. Valero, E., Varon, R., Garcia-Carmano, F., Characterization of Polyphenol Oxidase from Airen Grapes, *J. Food Sci.*, 53, 1482-1485, 1988.
8. Dijkstra, L., Walker, R.L., Enzymic Browning in Apricots (*Prunus armeniaca*), *J. Sci. Food Agric.*, 54, 229-234, 1991.
9. Zhou, H., Feng, X., Polyphenol Oxidase from Yali Pear (*Pyrus bretschneideri*), *J. Sci. Food Agric.*, 57, 307-313, 1991.
10. Williams, D.C., Lim, M.H., Chen, A.O., Pangborn, R.M., Whitaker, J.R., Blanching of Vegetables for Freezing-Which Indicator Enzyme to Choose, *Food Technol.*, 6, 130-140, 1986.
11. Vamos-Viglazo, L., Mihalyi, K., Review of the International Literature on Diphenol Oxidases of Peach Fruits, *Confructa.*, 21, 234-241, 1976.
12. Guadagni, D.G., Sorber, D.G., Wilbur, J.S., Enzymatic Oxidation of Phenolic Compounds in Frozen Peaches. *Food Technol.*, 3, 359-364, 1949.
13. Reyes, P., Luh, B.S., Characteristics of Browning Enzymes in Fay Elberta Freestone Peaches, *Food Technol.*, 14, 570-575, 1970.
14. Harel, E., Mayer, A.M., Lerner, H.R., Changes in the levels of Catechol Oxidase and Laccase Activity in Developing Peaches. *J. Sci. Food Agric.*, 21, 542-544, 1970.
15. Lee, C.Y., Kagan, V., Jaworski, A.W., Brown, S.K., Enzymic Browning in Relation to Phenolic Compounds and Polyphenoloxidase Activity Among Various Peach Cultivars, *J. Agric. Food Chem.*, 38, 99-101, 1990.
16. Coseteng, M.Y., Lee, C.Y., Changes in Apple Polyphenoloxidase and Polyphenol Concentrations in Relation to Degree of Browning, *J. Food Sci.*, 4, 985-989, 1987.
17. Naveh, D., Mizrahi, S., Kopelman, I.J., Kinetics of Peroxidase Deactivation in Blanching of Corn on the Cob, *J. Agric. Food Chem.*, 30, 967-970, 1982.
18. Lee, C.Y., Pennesi, A.P., Isolation and Further Characterization of a Heat Resistant Peroxidase Isoenzyme from Cauliflower, *J. Food Sci.*, 49, 1616-1617, 1984.
19. Lopez P., Burgos, J., Peroxidase Stability and Reactivation after Heat Treatment and Manothermosonication, *J. Food Sci.*, 3, 451-455, 1995.
20. Yamamoto, H.Y., Steinberg, M.P., Nelsso, A.I., Kinetic Studies on the Heat Inactivation of Peroxidase in Sweet Corn, *J. Food Sci.*, 27, 113-119, 1961.
21. Ling, A.C., Lund, D.B., Determining Kinetic Parameters for Thermal Inactivation of Heat-Resistant and Heat-Labile Isozymes from Thermal Destruction Curves, *J. Food Sci.*, 43, 1307-1310, 1978.
22. Wong, T.C., Luh, B.C., Whitaker, J.R. Isolation and Characterization of Polyphenoloxidase Isozymes of Clingstone peach. *Plant Physiol.*, 48, 19-23, 1971.
23. Jen, J.J., Kahler, K.R., Characterization of Polyphenol oxidase in Peaches Grown in the Southeast. *Hort. Science*, 9, 590-591., 1974.
24. Luh, B.S., Phithakpol, B., Characteristics of Polyphenol Oxidase Related to Browning in Cling Peaches. *J. Food Sci.*, 37, 264-268, 1972.