

Biyosistemlerde Dondurma ve Bazı Yeni Teknolojik Gelişmeler

Y. Doç. Dr. Fatih YILDIZ

Ö.D.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

Genelde, biyosistemler bitkisel hücre, doku ve organları, hayvansal hücre doku ve organlar ile mikroorganizmaları (protozoalar, küfler, mayalar, bakteriler ve virüsleri) içermektedir. Gıdalar ise, biyolojik açıdan aşağıdaki şekilde sınıflandırılır.

a) Bütün hücre ve dokulardan oluşan gıdalar : örneğin meyve ve sebzeler, et yumurta gibi bu tür gıdalar canlılıklarını sürdürmekte, veya başka bir ifade ile metabolik aktivitelerini devam ettirmektedirler. Havadan oksijen alıp metabolizma sonunda CO₂ ve enerji üretmektedirler.

b) Parçalanmış hücre sistemlerinden oluşan gıdalar, kıyma et, meyve sebze püreleri, un, salça vb. gıdalar. Metabolik aktiviteler çok düşük bir düzeye indirilmiştir.

c) Hüresel yapıda olmayan gıdalar. Süt, meyve suyu, yağlar, şeker, bal v.b. gıdalar.

d) Yukarıdaki gruplardan birkaçının birarada bulunduğu gıdalar Örneğin : Reçel, yoğurt, turşu gibi.

Canlı sistemlerdeki metabolik tepkimeler sıvı ortamlarda cereyan etmektedir. Bu nedenle canlıların büyümeleri, çoğalmaları ancak suyun sıvı halde olduğu sıcaklık derecelerinde mümkündür.

— 2°C ile 90°C arasındaki bu sıcaklık derecelerine biyokinetik bölge denmektedir. Bitkisel ve hayvansal hücrelerin temel bileşimi olan su dondurma sırasında sıvı fazdan katı faza geçmektedir.

Biyosistemlerdeki metabolik tepkime hızlarının sıcaklık ile nasıl değiştiği Arrhenius denklemleri ile gösterilmektedir.

$$K = A e^{E_a/RT}$$

K = Tepkime hızı

A = Sabit (frekans faktörü) 1/dak.

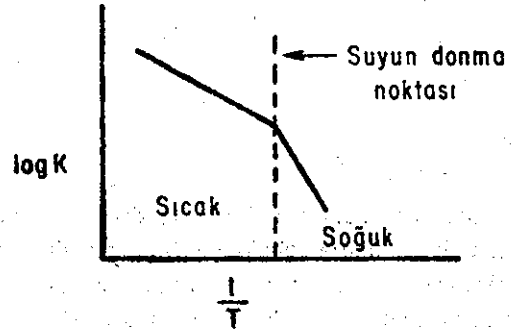
Birim zamandaki tepkimeye giren aktif molekül sayısı ile ilgili faktör.

E_a = Aktivasyon enerji sabiti (Cal/mol)
molekülleri tepkimeye sokmak için gerekli enerji

R = Gaz sabiti 1.99 Cal/mol

T = Mutlak sıcaklık (°K)

Aktivasyon enerjisindeki E_a veya sıcaklıktaki çok bir değişme tepkime hızında önemli değişiklikler yapmaktadır. İki ayrı sıcaklıktaki tepkime hız sabitlerindeki de şu şekilde gösterebiliriz.



$$\log_{10} \frac{K_2}{K_1} = \frac{E_a}{2.303 R} = \frac{(T_2 - T_1)}{(T_2 T_1)}$$

veya grafikte şu şekilde gösterebiliriz;

Enzim tepkimelerinde donma noktasından sonra gözlenen tepkime hızı sabitindeki değişme, yukarıdaki grafikte görülmektedir (Milford S. Brown 1979).

Gıdalar donma noktalarının altında metabolik aktiviteleri çok azalmakta ve hatta —18°C nin altında durmaktadır. Bunun doğal sonucu olarak dondurularak korunan gıdalar, renk, koku, tad, tekstür ve besin elementleri kaybı bakımından diğer tüm metodlardan daha üstündür. Çeşitli gıda maddelerinin donma noktaları tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bazı gıdaların donma noktaları

Sıcaklık °C	Gıda Maddesi
0	Su
-0.6	marul, lahana, salatalık, domates, bezelye
-1.1	kuşkonmaz, çilek
-1.7	Et, balık, patates
-2.8	kuzu, dana
-3.3	vişne, sarmısak
-3.9	muz, kakako
-6.7	ceviz
-8.3	yerfıstığı

Gıdaların donma noktası içindeki su miktarına değil, hücre içinde çözünen maddelerin konsantrasyonuna bağlıdır. Meyve ve sebzeler daha fazla çözünmüş şeker, tuz ve asit içermeleri nedeniyle donma noktaları daha düşüktür.

Çeşitli kültürlerin uzun süre canlılık ve genetik özelliklerini bozmadan muhafaza etmeleri ise ancak -70°C de dondurma veya dondurarak kurutma yöntemleri ile mümkün olmaktadır.

Kan eritrositlerinin, suni tohumlamada kullanılan spermilerin, göz, böbrek, deri gibi çeşitli organların muhafaza edilerek sonra kullanılmalarında ancak dondurma ile mümkün olmaktadır.

Biyolojik maddelerin ve gıdaların dondurulması genellikle dört aşamada gerçekleşmektedir.

1) Biyomateryalin dondurmaya hazırlanması, meyve ve sebzelerin yıkanması ayıklanması, haşlanması, kültürlerin korunmasında dimetil sülfür dioksit (DMSD) veya, gliserol gi-

bi canlılığı koruyucu maddelerin dondurma ortamına ilave edilmesi,

2) Dondurma işlemi; dondurma işleminde iki önemli değişken bulunmaktadır bunlar; Donma hızı ve donma sıcaklığıdır.

Donma hızı ise şu şekilde değişmektedir,
Yavaş : $1^{\circ}\text{C}/50$ dak.

Hızlı : $1^{\circ}\text{C}/1$ dak dan $100^{\circ}\text{C}/\text{dak}$.

Ultra hızlı : $5^{\circ}\text{C}/\text{Sn}$ veya $100^{\circ}\text{C}/\text{Sn}$ ye kadar.

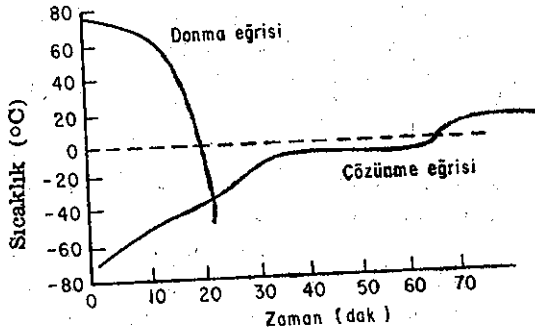
Donma sıcaklığı : Ticari donma işlemlerinde genellikle -15°C ile -40°C sıcaklıklar kullanılmaktadır.

3) Dondurulmuş depolama : Sabit sıcaklıkta donmuş halde depolama ürün kalitesi ve canlılığın korunması için en uygun olmaktadır. Değişen dondurulmuş sıcaklıkta muhafaza ise, buz kristallerinde sürekli değişmeye neden olduklarından ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

4) Çözünme veya Eritme : Dondurulmuş canlıların tekrar aktif hale getirilmeleri veya

gıdaların tekrar yenebilmesi ancak çözünme ile mümkündür.

Biyosistemlerdeki donma ve çözünme eğrileri tablo 2'de verilmiştir. Görüldüğü gibi eşit sıcaklık farklılıklarında donma, çözünmeden daha hızlıdır. Genellikle sıcaklık farklılıkları çözünme sırasında daha az olduğundan çözünme sırasındaki kalite kayıpları önem kazanmaktadır.



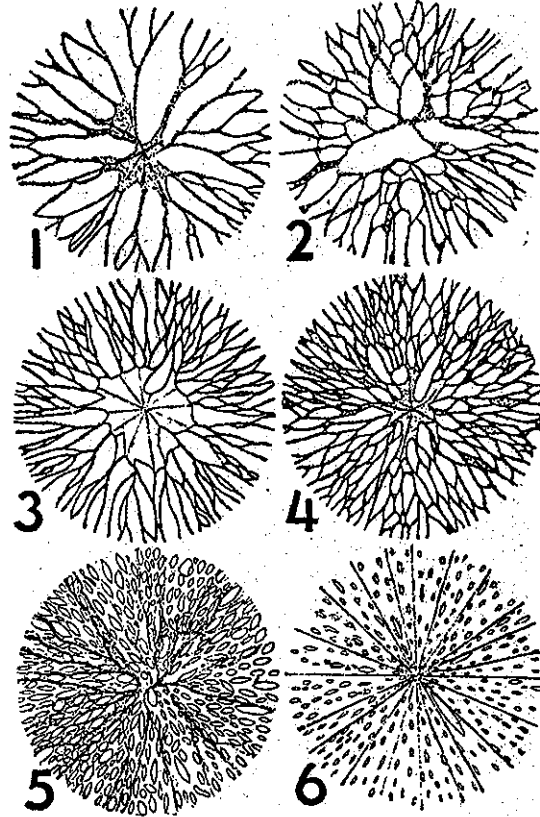
Tablo 2. Silindir şeklinde bir maddenin donma ve çözünme eğrileri

Dondurma veya donma sırasında oluşan fiziksel, kimyasal ve biyolojik olayları ve bu olayların sistem üzerindeki etkilerini inceleyelim :

Donma derecesinin üstünde ve çabuk soğutma ile hücreleri çevreleyen membran geçirgenliği artacak ve su kaybından dolayı turgor kaybolacaktır. Buna ısı şoku denmektedir. Genellikle hücreler arasındaki ve dışındaki su hücre içindeki protoplasttaki suda daha önce donmaktadır. Gıdalarda ve bakterilerde, ticari dondurma koşullarında hücre içindeki sıvının % 80'i difüzyonla hücre dışına çıkmakta ve hücre dışında donmaktadır. Ultra hızlı dondurma da ise hücre içi buz donması olduğundan hücre normal büyüklüğünü korumaktadır. Yavaş dondurmada ise hücre küçülür. Yavaş dondurma sırasında hücre içinde veya dışında oluşan büyük buz kristalleri hücre duvarlarını parçalamaktadır. Tablo 3'de buz kristallerinin büyüklüğü gösterilmektedir.

Fiziksel değişimler şu şekilde sıralanabilir:

1 — Otektik oluşum : hücre içinde çözünmüş halde bulunan tuzlar otektik sıcaklık derecesinde çökerek çözüldüğüden ayrılırlar ve pH değişimine sebep olurlar. Canlılık aktivi-



Tablo 3. Çeşitli donma hızlarında oluşan buz kristallerinin görünüşü (Fennema, Powrie, Marth. 1973)

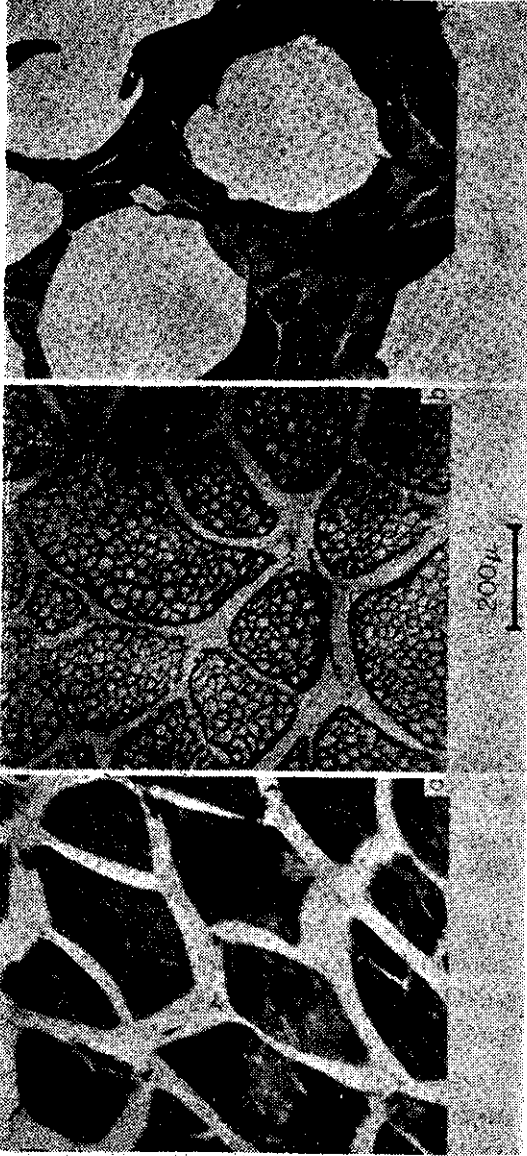
telerinin korunmasını istediğimiz kültürleri son otektik noktalarının altında muhafaza etmek gerekmektedir.

2 — Kabuk oluşumu (veya yanma) - Dondurulmuş veya dondurularak depo edilmiş biyomateriyallerde yüzeyden sublimasyon ile su kaybı olmaktadır ve ürünün dış yüzeyinde kuruma olmaktadır. Nem kaybının önlenmesi için en yaygın yöntemler şunlardır.

- Buz ile kaplama (glazing)
- Jelatin ile kaplama
- Paketleme
- Parafinleme

3 — Kristal değişimi : Tekrar buz kristallerinin oluşumunu özetlersek :

Yavaş dondurma ile büyük ve az sayıda buz kristalleri oluşmakta bu ise biyosistemler için daha zararlı olmaktadır. Hızlı dondurmalarda ise hücre içinde küçük ve çok sayıda buz kristalleri oluşmakta bu ise hücreler için daha az zararlı olmaktadır. Hücre dışında olu-



Tablo 4. Donma hızının buz kristallerinin oluşumuna etkisi a) donmamış doku, b) hızlı donmuş, c) Yavaş donmuş.

şan büyük kristaller 0.24 mm civarında iken hücre içi kristaller 5 - 10 µ çapında olmaktadır. Buz kristalleri bir kez oluştuktan sonra şekli ve büyüklüğü değişmeseydi buz kristallerinin büyüklüğünü kontrol etmek mümkün olurdu. Kristaldeki değişme buz kristallerinin sayısının şeklinin, büyüklüğünün, bulunduğu yerin ve kristal yapıdaki hataların oluşumu şeklinde görülür. Sıvı azot içine daldırma ile çok hızlı dondurulmuş ve 1 - 5 dakika içinde çözünmüş elma, domates, salatalık gibi gıdalar tekstür ve turgorlarını oldukça koruyabilmektedir.

Tablo 4 de dondurulmuş hücrelerin durumu görülmektedir.

Dondurma İşlemleri Sonucu Gözlenen Kimyasa Değişmeler :

a) Yağların oksidasyonu : oto oksidasyon veya hidroliz ile serbest radikal oluşmaktadır. Bu ise acılaşıma v.b. bozukluklara yol açmaktadır.

b) Enzimatik esmerleşme

c) Aroma (Tad ve koku) bozulması

d) Protein etkileşmesi : Protein - protein tepkimesi sonucu disulfid bağları oluşmakta ve proteinlerin çökmesi sonucunu doğurmaktadır.

e) Pigment parçalanması : Klorofil, Antosiyanin gibi meyve ve sebzelerde renk pigmentleri hidrolize olmaktadır.

f) Vitaminlerin parçalanması : en önemli ve çabuk oto - oksidasyona uğrayan vitamin C olduğundan dondurulmuş gıdalarda besin kayıplarının indikatörü olarak kullanılır.

g) Hücre membranlarına bağlı enzimlerin serbest hale geçmeleri otolize sebep olmaları.

h) Hücre içinde çözünen maddelerin konsantrasyonu değişir. Bunun sonucu olarak, pH, buhar basıncı, donma noktası, yüzey ve yüzeyler arası gerilim, oksidasyon - reduksiyon (yükseletgenme - indirgenme) potansiyeli, viskozite gibi özellikleri etkilemektedir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında geriye dönebilen, veya tek yönlü şekilde, RNA, DNA, proteinler ve polipeptidlerde değişmeler gözlenmektedir. Örneğin laktik dehidrogenaz enzimi donma ile denatüre olmakta çözünme ile tekrar eski haline dönmektedir. Bazı enzimlerin ise artan iyon konsantrasyonlarında aktiviteleri artmaktadır. Örneğin ribonükleaz ve deoksiribonükleaz.

Biyolojik Değişmeler

Dondurma işlemi ile gıda sanayinde temel olarak iki amaç hedef alınmıştır.

a) Optimum kalitenin korunması : renk, koku, tad, tekstür ve besin elementlerinin korunması.

b) Canlılığın korunması : Dondurma işlemi sonunda biyosistemlerde üç temel değişme olabilir:

1. Ölüm veya inaktif hale gelme
2. Yaralanma veya zedelenme
3. Sağlam değişiklik olmadan canlılığın tüm genetik özelliklerini korumasıdır.

Ayrıca dondurma ortamında hücrelerin canlı kalabilme veya yaralanma durumuna etki etmektedir. Donma veya dondurmanın zararlı etkilerini önlemek için gliserol ve Dimetilsulfoxid (DMSO) gibi maddeler kullanılmaktadır. Kriyobiyolojide bu tür maddelere kriyoprotektif maddeler denmektedir. Düşük sıcaklıkta mikroorganizmaların ölümü veya yaralanmaları iki önemli teori ile izah edilmektedir.

a) Hücre içindeki çözünmüş maddelerin donma işlemi ile buzun ayrılması sonucu konsantrasyonu artmakta ve hücre ölmektedir.

b) Hücre içinde ve dışında oluşan bu kristaller hücre zarını parçalamakta çözünmeden sonra hücre bütünlüğünü kaybetmektedir. Bu ise mekanik teori olarak bilinmektedir.

Genetik özelliklerinden dolayı bazı mikroorganizmalar -273°C de mutlak sıfırda bile canlılıklarını koruyabilmektedir. Mutasyonu önlemek için kültürlerin -70°C de muhafazası en uygun olduğu önerilmektedir (R.J. Heckley, 1978)

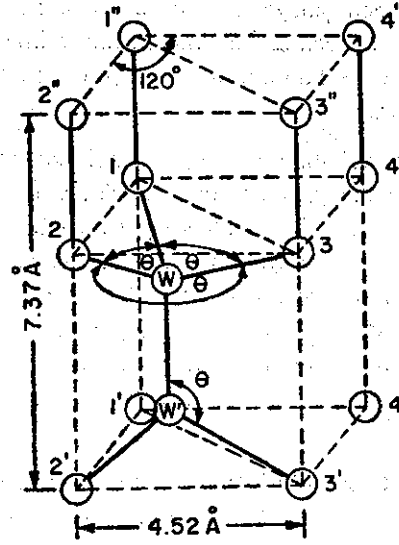
Çok düşük sıcaklık derecelerinde (-150°C ve daha düşük) hızlı soğutma veya dondurmada kristal anası oluşmazsa amorf kristal denen vitreoz buz oluşmaktadır. Daha sonra sıcaklığın -120°C ye yükselmesi ile büyük buz kristalleri oluşmaktadır bu ise hücrenin parçalanmasına neden olmaktadır.

Dondurma işleminin optimizasyonu için gerekli şartları aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz:

a) Donma hızının artırılması ile hücre içinde küçük ve çok sayıda buz kristallerinin oluşması : Burada temel gaye birim buz kristal büyüklüğü olan 7.37 \AA genişliğinden daha küçük kristal oluşturulması ile protein helozonu boyutu olan 5.1 \AA dan daha küçük kristallerin oluşmasını sağlamak. Tablo 5 de birim buz kristalinin boyutları verilmiştir.

b) Çözünmenin hızlandırılması : Mikrodalga veya diğer radyofrekans dalgaları yöntemi ile çözünmenin hızlandırılması gerekmektedir.

c) Krayokoruyucu maddelerin kullanılması : Bitkisel hücreler, hayvansal hücreler kadar esnek olmadığından, katı hale geçen suyun hücre parçalanmasına engel olmak için çok çeşitli krayokoruyucu maddeler kullanılmaktadır. Bu maddelerin en önemlisi gliserol ve dimetil sulfoxit (DMSO) dir.



Tablo 5. Birim buz kristali

Dondurma ve Soğuk Depolama ile İlgili Yeni Bazı Teknolojik Uygulamalar

- 1) Kontrollü atmosferde depolama ve nakliye
- 2) Hidro soğutma (Hydrocooling)
- 3) Soğuk ve düşük atmosferik basınçta depolama ve nakliye
- 4) Dondurarak kurutma (Freeze - drying)
- 5) Dondurarak konsantre (Freezing - concentration)
- 6) Küçük ambalajlı paketlerde dondurma (IQF) veya dondurup ambalajlama (Individually Quick Frozen Foods before or after packaging)
- 7) Vacumda soğutma.

Normal soğuk depolamada bitkisel dokular havadaki oksijeni metabolik tepkimelerde kullanıp CO_2 ve enerjiyi çevreye yayarlar. Normal atmosfer yerine CO_2 % 2-3 e çıkarılması oksijenin ise % 3'e düşürülmesi bitkisel metabolizmayı yavaşlattığı ve etilen oluşumunu azalttığı için, meyve ve sebzelerde depolama müddetlerini % 50 kadar artırdığı gözlenmiştir. (Marcus Karel - 1975) Kontrollü atmosferde depolamada nisbi nem, sıcaklık, oksijen miktarı, CO_2 , N_2 vantilyasyonla kontrol edilmek-

tedir. Karbon dioksidin % 15 den fazla olması oksidatif acılaşmaya sebep olmaktadır. Azot veya CO₂ konsantrasyonunun artması bitki ve sebze yüzeylerinde mikrobiyel gelişmeyi engellemektedir.

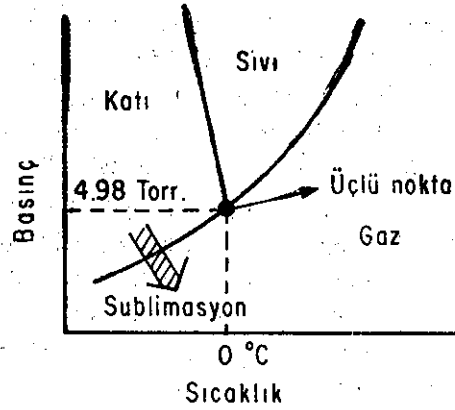
Hidro soğutma : Yaygın olarak kullanılan bu metod kolay, ekonomik, çabuktur. Ürünler 0°C'de su veya buzlu su ile püskürtülür veya daldırılır. Buzlu suya dezenfektan olarak klor veya fenol katılmaktadır. Bezelye, mısır, havuç, karpuz, kavun, salatalık, şeftali gibi meyve ve sebzeler bu yöntemle hemen hasattan sonra soğutulmakla dayanma müddeti % 50 - 60 artmaktadır.

Düşük Basınçta Depolama (Hypobaric Storage) : Daha önce bahsettiğimiz gibi meyveler solunum sırasında CO₂ ile birlikte erilende meydana getirmektedir. Etilen meyvenin olgunlaşmasını sağlamaktadır. Bitkisel doku ve hücrelerden etilenin alınması olgunlaşmayı geciktirmekte ve dayanma müddetini uzatmaktadır. Düşük basınçta depolamada basınç atmosferik 760 mm hg yerine 5 - 100 mm hg basınç kullanılmaktadır. Oksijen konsantrasyonu direkt olarak basınçla ilgili olduğundan, düşük basınçta depolamada O₂ konsantrasyonunda % 0 - 2.6'ya düşmektedir. Normal basınçta O₂ konsantrasyonunun düşürülmesi bitkisel dokularda anaerobik fermentasyona sebep olmaktadır. Düşük basınçta ise fermentasyon olmamaktadır. Basıncın düşürülmesi, düşük sıcaklık, nem ve havalandırma önemli parametreler olarak çeşitli meyve ve sebzeler için et ve balık için ayrı ayrı saptanmalıdır. Bu depolama ile dayanma müddeti % 100 ile 300 arasında artmaktadır. Örneğin çilek normal soğuk depolamada 7 - 10 gün dayanmasına karşılık düşük basınçlı depolamada 21 - 28 gün dayanmaktadır.

Dondurarak Kurutma : Katı halde dondurulmuş gıda maddelerinden sublimasyon yolu ile suyun alınması yöntemine dondurarak kurutma denmektedir. (Tablo 6'da suyun faz diyagramı ve sublimasyonu gösterilmiştir.

Doku ve hücre yapısı bozulmadan düşük sıcaklıkta suyun alınması sebebiyle dondurarak kurutma yöntemi ile kaliteli ürün elde edilmektedir. Enzimlerin, mikrobiyel kültürlerin

saklanması, kahve üretiminde dondurarak kurutma yöntemi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yüksek sıcaklıktan zarar gören bitkisel ve hayvansal dokular dondurarak kurutma yöntemi ile uzun dönemler için (1 - 3 yıl) muhafaza edilebilirler.



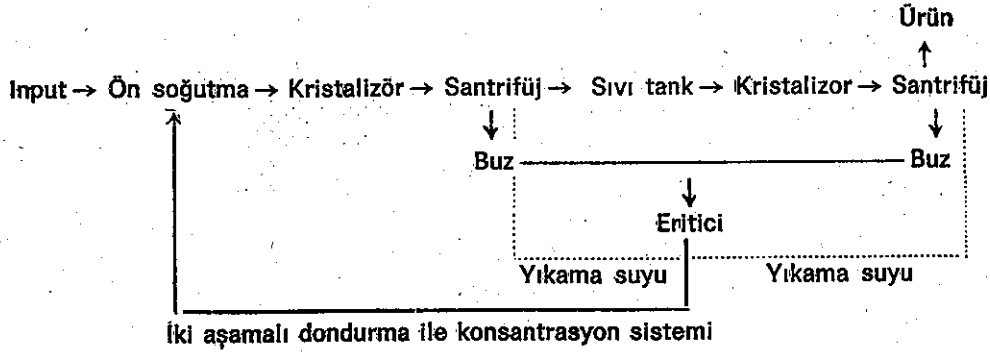
Tablo 6. Suyun faz diyagramı ve sublimasyon

Dondurarak kurutmayı hava geçirmeyen paketleme sistemi ile korumak zorunludur. Aksi halde havadan nem ile rehidrate olan ürünlerin dayanma müddeti çok sınırlıdır.

Dondurarak Konsantrasyon : Normal evaporasyon yöntemi ile konsantre etmede iki önemli sorun bulunmaktadır.

- Uçucu aroma maddelerinin kaybı
- Ürün kalitesine ısının yaptığı olumsuz etki. Dondurarak konsantre etme bu iki dezavantajı önlemektedir.

Bu metodun esası ürünü kısmen dondurup saf buz kristallerinin üründen ayrılmasıdır. Geriye suyun dışındaki maddelerin konsantrasyonu artmaktadır. Maliyet yüksek olduğundan bu yöntem sadece kalitenin çok önemli olduğu ürünlerde kullanılmaktadır. Örneğin sirke, şarap ve biranın konsantre hale getirilmesi, kahvenin dondurarak kurutmadan önce aroma maddelerince zenginleştirilmesinde bu yöntem kullanılmaktadır. Deniz suyundan saf su elde edilmesi yöntemi olarakta düşünülmektedir.



Dondurup Ambalajlama : Büyük kütlelerin dondurulması ve dondurulduktan sonra çözülüp küçük parçalar halinde kullanılması pratikte problem olmaktadır. Bezelye, karides, çilek gibi gıdalar akışkanlaştırılmış yatakta çok kısa zamanda (3 - 5 dakika) dondurulup paketlenmektedir. Bu şekilde istenen miktar bir defada açılıp çözünerek tüketilmektedir.

Vacumda soğutma : Geniş yüzeyli bitkiler, marul, ıspanak gibi 4 - 4.6 mm Hg basınçta soğutulmaktadır. Buharlaşan su soğutma etkisi yapmaktadır. Su miktarındaki % 1 lik buharlaşma sıcaklıkta, 5°C lik düşüş elde edilmektedir. Ekonomik ve çabuk bir yöntem olması dolayısıyla tercih edilebilir.

KAYNAKLAR

- 1 — Fennema O.R., Powrie D.W., and Marth H.E. 1973, Low Temperature Preservation of Foods and living matter. Page 179. Marcel Dekker Inc., New York.
- 2 — Heckley R.J. 1978. Preservation of Microorganisms. Advances in Applied Microbiology, Vol. 24 Page 1 - 48 Academic press. Inc. New York.
- 3 — Marcus Karel, Fennema O.R., Lund D.B. 1975. Physical principles of Food Preservation Page 154, Marcel Dekker, Inc., New York.
- 4 — Milford S. Brown 1979. Advances in Food Research Vol: 25 Pages: 181 - 230 Academic Press, New York.

DİZDARER

Analitik Kimyevi Maddeler
Bakteriyolojik Hazır Kültür Vasatları

Mikrobiyolojik Standard Reaktifler

Antibiyotik Diskler

Herçesit Laboratuvar Cihazı ve Malzemesi

Kalitatif - Kantitatif Filtre Kağıtları

Modern Çarşı, No. 207, Ulus/ANKARA, Tel : 11 57 70 - 11 76 3
P. K. 644, Telex : 42870, Telg. : DİZDARER