

Gökkuşuğu alabalık filetolarının marinasyon süresinin ve sıcaklığının merkezi bileşke tasarımı ile optimizasyonu

Özlem Pelin CAN¹, Mehtap ERŞAN²

¹ Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas
² Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Sivas

Geliş Tarihi / Received: 17.07.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 27.12.2012

Özet: Bu çalışma, farklı süre ve sıcaklık derecelerinde marine edilen gökkuşuğu alabalığı filetolarında, yüzey cevap metodu ile duyuusal kriterler esas alınarak optimum noktayı belirlemek amacıyla yapılmıştır. Dizayn ile belirlenen optimum marinasyonda bekleme süresi ve sıcaklığı sırasıyla 11.96 gün ve 5.26°C olarak belirlenmiştir. Optimum konsantrasyon ve sürenin belirlendiği bu çalışmada filetoların muhafaza süresinin 98 gün olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Alabalık, cevap yüzey yöntemi, marinasyon süresi, marinasyon sıcaklığı.

Optimization with central composite design of rainbow trout filets time of marination and temperature

Summary: This study was conducted with the purpose of determining with response surface method the optimum points of rainbow trout filets marinated different time and temperature in terms of sensory criteria. The marination time and temperature determined by the design were found as 11.96 day and 5.26°C, respectively. In this study during which optimum concentration and period was determined, the preservation period of filets was found as 90 days.

Key words: Marination time, marination temperature, rainbow trout, response surface methodology.

Giriş

Balıkları kolay bozulabilen gıdalar arasında yer almaktadır. Balık etinin uzun süre bozulmadan muhafaza edebilmek için birçok farklı metod geliştirilmiştir. Marinasyon işlemi bunlardan bir tanesidir. Marinasyon işlemi, balık etinin asetik asit ve tuz çözeltisinde ısı işlem uygulanmaksızın olgunlaştırılması (11) olarak bilinmektedir. Asetik asit ve tuz ile marinasyon sadece balık etinin depolama periyodunu uzatmakla kalmayıp aynı zamanda lezzetini de arttırmaktadır. Marinasyon işlemindeki genel amaç, fileto halindeki balığı yumuşatmak aynı zamanda karakteristik tat ve kas yapısını geliştirmektir. Bu amaçla marinasyon solüsyonu (%5-10 asetik asit ve %10-15 tuz) içerisine konulan balık etlerinin proteinleri koagüle olmakta ve kalan küçük kemik parçaları da yumuşamaktadır (14). Hazırlanan marinasyon solüsyonu içerisindeki asetik asit ve tuz miktarı sabit olmayıp balık türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. Tuz ve asetik asit balık etine aynı yönde ve birlikte etki etmekle birlikte karşılıklı

olarak birbirini engelleyen ve zıt kutuplu maddelerdir. Tuz materyale sertlik vermesine karşın, asetik asit yumuşaklık vermektedir (27). Olgunlaştırma işleminde, balık doku suyundaki tuz ve sirke ile çözeltinin tuz ve sirke oranı eşitleninceye kadar, balık dokusundaki tuz ve sirke geçişi devam eder. Bu geçiş sıcaklığa bağlıdır ve süratle gerçekleşerek, iki gün içinde tamamlanır (4, 6). Marinasyon işlemi esnasında tuz ve asetik asit balık etine yayılarak proteinleri denatüre eder ve pH değerini düşürerek lizozomal katepsinlerin aktivitesiyle tipik tat oluşumu sağlanmaktadır (6). Ayrıca marinasyonda bekleme süresi de yine değişiklik arz etmektedir. Marinasyon solüsyonunda bekleme süresi balık doku suyundaki tuz ve asetik asit konsantrasyonu ile çözeltideki tuz ve asetik asit konsantrasyonu eşitleninceye kadar devam etmektedir (4). Marine edilmiş ürünlerde pH 4.5'i geçmemelidir. pH 4.5'in altında bütün gıda zehirlenmesi ve bozulma yapan bakterilerin çoğunun gelişimi önlenmektedir (14). Marinasyon işlemi yapılırken, marinasyonda

bekleme süresi ve işlemin gerçekleştirileceği sıcaklık derecesinin yapılan çalışmalarda farklı olduğu görülmüştür (10, 21). Yapılan çalışmalarda marinasyon işleminin tamamlanmasında duyuusal kriterlerin ön planda olduğu dikkat çekmiştir. Farklı deney koşulları için elde edilen optimum değerleri bulmak önemli bir problemdir. Bu problemi en aza indirmek için geliştirilmiş olan metot, Cevap Yüzey Yöntemi (CYY) olarak bilinmektedir. CYY tasarlanmış deneylerle elde edilmiş verilere uydurulan polinomlar yardımıyla tasarım yapmayı sağlar. CYY yeni ürünün formülasyonunda var olan tasarımın iyileştirilmesinde süreç tasarımında, sürecin geliştirilmesinde ve iyileştirilmesinde yaygın olarak kullanılır (23). CYY' de, karmaşık sistemlerin modellenmesi için genelde ikinci dereceden polinomlar kullanılsa da daha yüksek dereceden polinomların da kullanılması mümkündür. CYY' de iki bağımsız değişkeni cevap değişkenlerine bağlayan modeli elde etmek için yaygın olarak merkezi birleşik tasarım (Merkezi Bileşke Tasarımı, MBT) kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak, MBT ile marinasyon süre ve sıcaklık derecesini optimize ederek optimum bir nokta belirlemek ve bu noktadaki marine ürünün uygunluğunu araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal: Çalışmada materyal olarak yaklaşık 300-350 g ağırlığındaki yeni avlanmış gökkuşuğu alabalığı kullanıldı. Sivas Balık Pazarı'ndan temin edilen balıklar, laboratuara getirilip iç organ, baş ve kuyruklarından ayrılıp, kalınlık ve boyutlarının da bir örnek olmasına dikkat edilerek yaklaşık 50 g ağırlığında fileto elde edildi. Çalışma 10 gün arayla üç defa tekrar edildi. Çalışmada asetik asit (%99 saflıkta, Merck) ve NaCl (Merck) kullanıldı.

Metot: Alabalık filetolarının marinasyonu için %8 asetik asit, %4 tuz içeren ve fileto: solüsyon oranı 1:2 olacak şekilde marinasyon solüsyonu hazırlandı. Filetolar kan ve mukoza artıklarından arındırılmak için yıkandı ve daha sonra süzdürüldü. Çalışma üç aşamada gerçekleştirildi. İlk aşamada filetolar marinasyonda bekleme süresi (7, 9 ve 12 gün) ve depolama sıcaklığına (2, 4 ve 6°C) göre 9 farklı gruba (A: 2°C' de 7 gün, B: 4°C' de 7 gün, C: 6°C' de 7 gün, D: 2°C' de 9 gün, E: 4°C' de 9 gün, F: 6°C' de 9 gün, G: 2°C' de 12 gün, H: 4°C' de 12 gün ve I: 6°C' de 12 gün) ayrıldı. Deneysel örnek-

ler hazırlanırken bütün örneklerin aynı anda analize alınmasını sağlamak amacıyla (marinasyon işleminin üç grup için aynı anda tamamlanması açısından) ilk olarak 12 gün marinasyonda bekleyecek gruba ait örnekler oluşturuldu. Deneysel örnekler, marinasyon süresi sonunda duyuusal (gevreklik, koku, renk, lezzet ve genel beğeni düzeyi) açıdan incelendi. İkinci aşamada, CYY ile marinasyonda bekleme süresinin ve depolama sıcaklığının aynı anda verdiği optimum şartlar belirlenmesi için modelleme yapıldı. Modelin ön gördüğü 5 farklı noktalarda (4°C' de 5.96 gün, 6.83°C' de 9.5 gün, 4°C' de 9.5 gün, 1.17°C' de 9.5 gün ve 4°C' de 13.04 gün) deneysel grup oluşturuldu ve bu filetoların duyuusal (gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyi) analizleri yapıldı. Deneysel gruplar oluşturulurken pratikte kullanımı kolaylaştırmak amacıyla 4°C' de 5.96 gün olan grup 4°C' de 6 gün, 1.17°C' de 9.5 gün olan grup 2°C' de 9.5 gün, 4°C' de 13.04 gün olan grup 4°C' de 13 gün, 6.83°C' de 9.5 gün olan grup ise 7°C' de 9.5 gün olarak değiştirildi. Çalışmanın üçüncü aşamasında ise, modele göre optimum olan (marinasyonda bekleme süresi ve depolama sıcaklığı) noktaya göre deneysel grup oluşturuldu. Bu gruba ait filetolar bu süre sonunda aerobik olarak paketlenildi ve +4°C' de depolanarak muhafazanın 0., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuusal açıdan incelendi.

Mikrobiyolojik analizler: Mikrobiyolojik analizler için, 25 g numune steril şartlar altında tartıldı ve üzerine 225 ml steril %0.1'lik peptonlu sudan ilave edilerek homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10)'luk dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin her seyreltisinden birer ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri gerçekleştirildi ve inkübasyon süreleri sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (13). Örneklerdeki toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayımı için Plate Count Agar (PCA, Merck, 37±1°C' de 2 gün) besi yeri kullanıldı. Toplam psikrofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA, Merck, 7±1°C' de 7 gün) besi yeri kullanıldı. *Enterobakterilerin* (EB) sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA, 30±1°C, 2 gün) kullanıldı (besi yeri çift kat dökülmüştür). Örneklerdeki maya ve küf sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol Agar (25±1°C, 5 gün) besi yeri kullanıldı (13).

Kimyasal analizler: Örneklerdeki pH değerleri, pH metre (Crison, Basic 20) ile tespit edildi (2). Örneklerdeki toplam uçucu bazik azot (TVB-N) miktarları Varlık ve ark.'nın (27) bildirdiği yöntemle göre, tiyobarbitürik asit sayısı tespiti ise Tarladgis ve ark.'nın (26) belirlediği yöntemle göre tespit edildi.

Duyusal analizler: Deneyimli 7 panelist tarafından 1-5 arası puan (1 çok kötü, 2 kötü, 3 normal, 4 iyi ve 5 çok iyi) verilerek örnekler renk, koku, tekstür ve genel beğeni düzeyi (GBD) açısından değerlendirildi (16).

İstatistiksel analizler: Bu çalışmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanıldı. İstatistiksel analizlerde 0.05'lik önem düzeyi ($P < 0.05$) dikkate alındı. Bütün analizler SPSS®12 bilgisayar istatistik programından yararlanıldı (20). İki girdi değişkeni için cevap fonksiyonlarının optimum olduğu noktaları bulmak için MBT kullanılmıştır. MBT için bağımsız değişkenler kübik yüzeyde gösterilerek, kodlu faktörler cinsinden bağımsız değişkenlerin en düşük ve en yüksek değerleri -1 ve 1, merkez noktası ise 0 olarak ifade edilmiştir. Küpün merkez boyunca ekseninden eşit uzaklıktaki farklı noktalar ise -1.414 ya da 1.414 olarak kodlanmıştır (23). Böylece modelin öngördüğü deneyler yapılarak cevap fonksiyonlarına bağımsız değişkenlerin etkisi incelenmiş ve bağımsız değişkenleri bağımlı değişkenlere gerçek ya da kodlu değişkenler cinsinden bağlayan eşitlikler elde edilmiştir (Eşitlik 1).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Eşitlikte Y cevap fonksiyonunun ölçülen değerini, β_0 sabit terimi, β_1 ve β_2 lineer sabitleri, β_{11} ve β_{12} kuadratik sabitleri, X_1 ve X_2 ise bağımsız değişkenlerin değerlerini göstermektedir.

Bulgular

Birinci aşamadaki deneysel örneklere ait bulgular: Çalışmanın birinci aşamasında marinyasyon solüsyonunda bekleme süresi ve depolama sıcaklığı göz önünde bulundurularak 9 farklı deneysel grup oluşturulmuş ve bu gruplara ait duyusal analiz bulguları tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Deneysel örneklere ait duyusal analiz bulguları.

Gruplar	Kriterler				
	Gevreklik	Koku	Renk	Lezzet	GBD
A	3	3.6	2.4	2.6	2.8
B	3.2	3.4	2.8	2.4	2.8
C	3.6	3.4	2.8	2.8	3
D	3.4	3.8	3	3	3.2
E	3.2	4	3.2	3.2	3.2
F	3.8	3.8	3	3	3.6
G	4.2	4	4	4.4	4.4
H	4.6	4.2	4.8	4.6	4.6
I	4.8	4	4.8	4.6	4.8

Experimental dizayn ve analiz bulguları:

Çalışmanın ikinci aşamasında CYY kullanılarak modele göre belirlenen gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyine ait duyusal analiz bulguları Tablo 2' de verilmiştir. Bağımsız değişkenler olan sıcaklık (2-6°C) ve zaman (7-12) gün aralığında değiştirilmiştir. Modelde Y_1 gevreklik değerini, Y_2 lezzet, Y_3 genel beğeni düzeyini, gerçek / kodlu bağımsız değişkenler olan X_1/x_1 marinyasyon süresi (gün) ve X_2/x_2 marinyasyon sıcaklık değerini (°C) ifade etmektedir.

Tablo 2. İki bağımsız değişken için uygulanan MBT bulguları

Deney numarası	Bağımsız Değişkenler		Değişkenler		
	X_1/x_1	X_2/x_2	Y_1	Y_2	Y_3
1	5.96/-1.414	4.00/0	3.0	2.0	2.6
2	9.50/0	6.83/1.414	3.4	3.2	3.6
3	9.50/0	4.00/0	3.0	3.2	3.2
4	12.00/1	6.00/1	4.8	4.6	4.8
5	9.50/0	1.17/-1.414	3.2	3.0	3.0
6	13.04/1.414	4.00/0	4.4	4.4	4.6
7	9.50/0	4.00/0	3.0	3.2	3.2
8	9.50/0	4.00/0	3.0	3.2	3.2
9	7.00/-1	6.00/1	3.6	2.8	3.0
10	12.00/1	2.00/-1	4.2	4.4	4.4
11	7.00/-1	2.00/-1	3.0	2.6	2.8
12	9.50/0	4.00/0	3.2	3.2	3.2
13	9.50/0	4.00/0	3.2	3.2	3.2

Y_1 gevreklik değeri, Y_2 lezzet, Y_3 genel beğeni düzeyi, gerçek / kodlu bağımsız değişkenler X_1/x_1 marinyasyon süresi (gün), X_2/x_2 marinyasyon sıcaklık değeri (°C).

Yapılan dizayn sonuçlarında gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyinin, sıcaklık ve zamana bağlı olarak değişimi quadratik modele uygun bulunmuştur. Bu uyum R^2 değerlerinin yüksek olması ve 1'e yaklaşması ile anlaşılmaktadır. Bu değer deneysel ve model değerlerinin arasındaki genel uyumu gösterir. R^2 değerleri gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyi için 0.9902, 0.9864 ve 0.9554 olarak bulunmuştur. Prediction R^2 (R^2_{Pred}) ise tahmini model ve deney arasındaki noktasal uyumu göstermektedir. R^2_{Pred} değerleri gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyi için 0.9445, 0.9760, 0.7256 olarak bulunmuştur. Değişken sayısı ve cevap değişkenleri arasındaki uyumu gösteren R^2_{adj} değerleri gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyi için sırasıyla 0.9833, 0.9766 ve 0.9230 olarak bulunmuştur. Modelin başarısı aynı zamanda sinyal gürültü oranının 4' ten büyük olması ile ifade edilir. Gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeyi için sinyal gürültü oranları 32.877, 32.587 ve 16.307 olarak bulunmuştur. Modelle elde edilen eşitlikler arasındaki uyumsuzluk ise önemsiz bulunmuştur. Modelin doğruluğunu göstermek için hesaplanan F değeri (142.02, 101.34, 29.97) ve çok küçük çıktığında anlamlı olan probobolity ($P < 0.005$) değerleri model uyumu açısından iyidir.

Gevreklik değerleri, lezzet ve genel beğeni düzeylerinin, marinasyon süresi ve marinasyon sıcak-

lık miktarı ile değişimi quadratik modele uyan eşitliklerle ifade edilmiş ve gerçek değerleri cinsinden verilmiştir (Eşitlik 2, 3, 4).

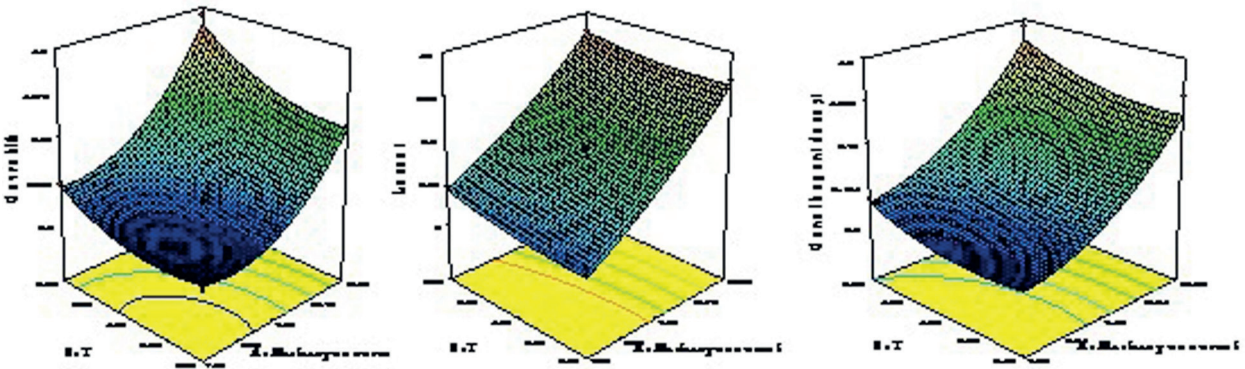
$$Y_1 = 7.51 - 1.03X_1 - 0.44X_2 + 0.02X_1X_2 - 0.062X_1^2 + 0.048X_2^2 \text{ (Eşitlik 2)}$$

$$Y_2 = 1.34 - 0.01X_1 - 0.04X_2 - 5.10^{-3}0.02X_1X_2 + 0.0192X_1^2 + 0.018X_2^2 \text{ (Eşitlik 3)}$$

$$Y_3 = 5.38 - 0.68X_1 - 0.33X_2 + 1.10^{-2}X_1X_2 + 0.05X_1^2 + 0.004X_2^2 \text{ (Eşitlik 4)}$$

Elde edilen eşitliklerde görüldüğü gibi, aynalı sazan filetolarının gevreklik değerleri, lezzet ve genel beğeni düzeyleri, marinasyon süresi ve marinasyon sıcaklık değeri ile birinci ve ikinci dereceden etkilenmektedir. Ayrıca zaman ve sıcaklık birlikte etkilemektedir.

Elde edilen eşitlikler ve modelin deney sonuçları ile uyumuna bağlı olarak ANOVA testi ile CYY kullanılarak bağımsız değişkenler için en iyi marinasyon koşulları biberiye yağı miktarı 11.96 gün ve filetoların marinasyonda bekleme süresi ise 5.26 oC olarak bulunmuştur. Bu noktadaki gevreklik değerleri, lezzet ve genel beğeni düzeyleri ise sırasıyla 4.4, 4.2 ve 4.4 olarak bulunmuştur. CYY ile elde edilen gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeylerinin marinasyon süresi ve sıcaklığı ile değişimi üç boyutlu olarak gösterilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Cevap yüzey yöntemi ile gevreklik, lezzet ve genel beğeni düzeylerinin üç boyutlu gösterimi.

Grafiklerden gevreklik ve genel beğeni düzeyinin sıcaklık ve marinasyon süresine bağlı olarak yavaş bir artış gösterdiği, lezzet düzeyinin ise dik çıkan eğrilerden hızlı bir artış gösterdiği anlaşılmaktadır.

Üçüncü aşamadaki deneysel örneklere ait bulgular: Çalışmanın üçüncü aşamasında, dizayn ile belirlenen optimum noktadaki değerlere ait deneysel bir grup oluşturulmuştur. Dizayna göre belirlenen optimum noktalar marinasyonda bekleme

süresi 11.96 gün ve depolama sıcaklığı 5.26°C olup, yine pratik kullanımı kolaylaştırmak amacıyla süre 12 gün, sıcaklık ise 5.5°C olarak değerlendirilmiş ve deneysel örnekler bu şartlarda marine edilmiştir. Bu gruba ait mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 3' te, kimyasal analiz bulguları Tablo 4' de duyuşal analiz bulguları Tablo 5' de verilmiştir. Deneysel örneklerde muhafaza periyodu boyunca *Enterobakteri* sayısı ve maya- küf sayısı tespit edilebilir limitin ($< 1.0 \log_{10}$ kob/g) altında bulunmuştur.

Tablo 3. Deneysel Örneklerle Ait Mikrobiyolojik Analiz Bulguları.

Mikroorganizma (log ₁₀ kob/g)	Muhafaza süresi (gün)							
	0	15	30	45	60	75	90	
TMAB	3.2 ^c	3.8 ^c	4.6 ^b	5.2 ^b	5.9 ^b	6.7 ^a	7.1 ^a	
PB	2.8 ^b	3.1 ^b	3.9 ^a	3.6 ^{ab}	4.4 ^a	5.3 ^a	4.9 ^a	

a, b: Aynı satırda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($P < 0.05$). n: 3.

Tablo 4. Deneysel Örneklerle Ait Kimyasal Analiz Bulguları.

Analiz	Muhafaza süresi (gün)							
	0	15	30	45	60	75	90	
TVB-N mg/100g	12.8 ^b	13.6 ^b	14.8 ^b	24.2 ^a	26.8 ^a	24.8 ^a	26.8 ^a	
TBA mg MDA/kg	1.14 ^b	1.11 ^b	1.26 ^b	1.83 ^{ab}	2.1 ^a	2.73 ^a	2.8 ^a	
pH	4.08 ^a	4.11 ^a	4.15 ^a	4.19 ^a	4.10 ^a	4.16 ^a	4.2 ^a	

a, b: Aynı satırda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($P < 0.05$). n: 3.

Tablo 5. Deneysel Örneklerle Ait Duyuşal Analiz Bulguları.

Kriterler	Muhafaza süresi (gün)							
	0	15	30	45	60	75	90	
Gevreklik	4.4 ^a	4.6 ^a	4.2 ^a	4.2 ^a	4 ^a	4.2 ^a	4 ^a	
Koku	4 ^a	4 ^a	4.2 ^a	3.8 ^{ab}	3 ^b	3.2 ^b	3 ^b	
Renk	4 ^a	3.8 ^a	4 ^a	4.2 ^a	3.2 ^b	3 ^b	2.8 ^b	
Lezzet	4.2 ^a	4 ^a	3.6 ^a	3.8 ^a	3 ^b	3.2 ^b	3 ^b	
GBD	4.4 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a	3.6 ^{ab}	3.4 ^b	3.2 ^b	

a, b: Aynı satırda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($P < 0.05$). n:3.

Tartışma ve Sonuç

Marinasyon işleminin sonlandırılmasında balıkentinin pH değeri ve duyuşal özellikleri dikkate alındığı bilinmektedir (14). Alabalık marinatında olgunlaşma süresinin belirlenmesi için yapılan bir araştırmada ortalama olgunlaşma süresinin pH değeri dikkate alınarak, 26 saat olduğu rapor edilmiştir (11). Dokuzlu (6) yapmış olduğu bir çalışmada farklı asit ve tuz konsantrasyonunda marine edilen balıkentinin olgunlaşma süresini organoleptik özelliklere göre belirlediğini bildirmiştir. Mevcut çalışmada ise deneysel örneklerle ait duyuşal kriterler esas alınarak deneysel gruplar arasında CYY kullanılarak optimum bir noktanın belirlenmesi amaçlanmıştır. İşlenmiş balıklar için duyuşal analizler genellikle tazeliği belirlemede yeterli olup, duyuşal analiz metodunda görünüm, koku, tat ve yumuşaklık-sertlik dereceleri insan duyuşaları yardımıyla değerlendirilmekte ve söz konusu duyuşal özellikler kalite kontrolde önem taşımaktadır (18). Bütün bunlar göz önünde bulundurularak optimum noktanın belirlenmesinde duyuşal kriterler kullanılmıştır.

Mevcut çalışmada marinasyon işlemi için üç farklı sıcaklık derecesi (2, 4 ve 6°C) ve depolama süresi (7, 9 ve 12 gün) seçilmiştir. Gökoğlu ve ark. (10), sardalya balıklarını +4°C' de 24 saat, Kılınç ve Çaklı (15), yine sardalya balıklarını +4°C' de 22 gün marine ettiklerini bildirmişlerdir. Hamsi balıklarının marine edildiği başka bir çalışmada marinasyon işlemi +4°C' de 24 saat süre ile yapıldığı rapor edilmiştir (21). Mevcut çalışmanın ilk aşamasında 6°C' de 12 gün marine edilen örneklerde duyuşal özellik bakımından daha yüksek puanlar aldığı görülmüş bu durumun ise marinasyon solüsyonu ile balıketi arasındaki tuz ve asit geçişinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (4, 6). Deneysel örneklerin marinasyonu için belirlenen sıcaklık derecesi en yüksek olarak 6°C olarak seçilmiştir. Sıcaklığın artması marinasyon süresini kısaltmaktadır fakat bakterilerin amin üretimini büyük ölçüde etkilemektedir (5).

Deneysel çalışmalarda en iyi deney koşullarının tespit edilmesi için CYY ve MBT yöntemlerini kullanmak mümkündür. Shan (24); aynalı sazan balığı filetoalarının H₂O₂ ile dekontaminasyonunda CYY ve MBT yöntemi ile H₂O₂ konsantrasyonunu optimize etmiştir. Dündar (7); köfte örneklerinin

muhafaza süresini uzatmak amacıyla yapmış oldukları çalışmada koruyucu madde miktarını ve pişirme süresini CYY ve MBT yöntemi kullanarak optimize ettiklerini bildirmiştir. Gibis (12); soğan, sarımsak ve limon suyu konsantrasyonlarını CYY ile dizayn ederek, elde ettiği optimum noktalarda köfteleri marine etmiş ve deneysel örneklerdeki heterosiklik aromatik amin miktarlarını araştırmıştır. Anihouvi ve ark. (1); fermente balık yapımında, fermantasyon süresi, tuz oranı ve olgunlaşma süresini içeren fermantasyon koşullarını CYY ile modellediklerini bildirmişlerdir. Lee ve ark. (17); muz suyunun ekstraksiyonla elde edilmesine yönelik yaptığı çalışmada farklı sıcaklık (35-95°C) ve sürelerde (30-120 dk) en iyi ekstraksiyon koşullarının bulunması için MBT kullanmıştır. 95°C ve 120 dakikada optimum verimi elde etmiştir. Dundar ve ark. (7) ise beş faktörlü MBT yaparak NaCl (%0-2), yağ (%10-30), askorbik asit (0-600 ppm), pişirme sıcaklığı (150-230°C) ve pişirme süresi (5-15 dk) gibi parametrelerin fizikokimyasal özellikler üzerine etkisini incelemiştir.

Optimum koşullara ait noktalarda oluşturulan deneysel örnekler TMAB, PB, EB ve maya-küf açısından incelenmiştir. Araştırmamızda muhafaza süresinde EB, maya ve küfe rastlanmamıştır. Fuselli ve ark. (9); yaptığı çalışmada soğuk marine edilmiş hamside depolama sonunda *Enterobakteri*, maya ve küfe rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Cadun ve ark. (3)'nın marine ettikleri çimçim karideslerinin ve Kılınç ve Çaklı (15)'nin sardalyeden elde ettikleri marinatlardan raf ömrünün belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmalarda 6 ay boyunca maya ve küf üremesinin görülmediğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Olgunoğlu (19), tarafından marine edilmiş ve 7 ay süre ile depolanmış hamside maya- küf görülmediği bildirilmiştir. Söz konusu bu sonuçlar çalışmamızda elde edilen bulguları desteklemektedir. Özoğul ve ark. (22)'nin deneysel olarak oluşturdukları marinatlardan bakteriyolojik değerlendirilmesi için yaptıkları araştırmada, TAMB sayısının 3 ayın sonunda 4 log kob/g, depolamanın sonunda ise 3 log kob/g değerinin altında kaldığını bildirmişlerdir. Cadun ve ark. (3)'nın 40 gün süre ile depoladıkları çimçim karides marinatında TAMB sayısını antimikrobiyal ajan eklenmemiş marinatlarda 4.03 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Fuselli ve ark. (9) soğuk marine edilmiş hamside yaptıkları çalışmada marinasyonun tamamlandığı safhada TMAB ve PB rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Kılınç ve Çaklı

(15)'nin sardalyeden elde ettikleri marinatlardan raf ömrünü belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, 6 aylık depolamanın sonunda pastörizasyon işlemi uygulanmamış grupta TAMB sayısını 6.36 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar PB sayısını ise sayılamayacak düzeyin altında olarak bildirmişlerdir ki, bu sonuç çalışmamızdaki değerlerle örtüşmemektedir. Dokuzlu (6), yaptığı çalışmada %2 asetik asit ve %12 tuz solüsyonunda muhafaza süresi sonunda TVB-N değeri 26.8 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Tarım Bakanlığı tarafından hazırlanan Su Ürünleri Yönetmeliğine göre; 20 mg Azot/100g'a kadar uygun, 20-28 mg Azot/100g'a arası kabul edilebilir, 28 mg Azot/100g'dan yukarı kabul edilemez şeklinde bildirilmiştir (25). Varlık ve ark.(28) tarafından yapılan bir çalışmada; +4 ± 1°C' de depolanan marine hamsi köftesinde 150. günde TVB-N değerinin 10.35 mg/100g olarak rapor edilmiştir. Dokuzlu (9)'nun hamsi marinatlardan üzerine yaptığı çalışmada; TVB-N değerini depolamanın ilk 6 ayı 9.8 mg/100g olarak sabit kaldığını 7. ayda 1.2 mg/100g, 8. ayda 14 mg/100g olarak rapor etmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen TBA değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı artışın önemli olduğu saptanmıştır (P < 0.05). Erdem ve ark.(8) tarafından yapılan çalışmada; marine edilen istavrit balığını +4°C' depolamışlar ve başlangıçtaki TBA değerlerinin çalışmamızdaki değerlere benzerlik göstermesine karşın 90. gün sonunda 4.09 mg MA/kg olarak bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda elde edilen pH değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı değişimlerin önemli olmadığı saptanmıştır (P > 0.05). Dokuzlu (9), +4 ± 1°C' de depoladığı hamsi marinatlarda pH değerini depolamanın başlangıcında 3.87 tespit etmiş depolama sırasında gösterdiği değişimlerin ardından depolama sonunda 3.98 olarak bildirmiştir.

Sonuç olarak, CYY ile belirlenen optimum noktadaki marine edilmiş filetolarda muhafaza süresi 90 gün olarak belirlenmiştir. Marinasyon tekniği kullanılarak balıkentinin muhafaza süresini uzatmak çok eski zamanlardan beri kullanılan bir yöntemdir. Marinasyon işleminin sonlandırılması duyuşsal olarak değerlendirilmekte ve araştırmacılara göre değişiklik arz etmektedir. Buradan yola çıkarak, deneysel grupları aza indirmek için kullanılan CYY yöntemi kullanılarak, daha hızlı sonuca ulaşmak böylece zaman ve iş gücünden tasarruf etmek amaçlanmıştır.

Kaynaklar

1. Anihouvi VB, Saalia F, Sakyi-Dawson E, Ayernor GS, Hounhouigan JD, (2011). *Response surface methodology for optimizing the fermentation conditions during the processing of cassava fish (Pseudotolithus sp) into Lanhouin*. IJEST. 3, 7085-7095.
2. Association Official Analytical Chemists, (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th edition. Washington.
3. Cadun A, (2002). *Çimçim karidesten (Parapeneus longirostris, Lucas, 1846) marinat yapımı ve kalitesi üzerine bir çalışma*. Yüksek Lisans Tezi, EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
4. Çelik U, (2004). *Marine edilmiş akivades (Tapes decussatus L., 1758) 'in kimyasal kompozisyonu ve duyuşal analizi*. Ege Üniv Su Ürün Dergi. 21, 219-221.
5. Çolak H, Aksu H, (2002). *Gıdalarda biyojenik aminlerin varlığı ve amin oluşumunu etkileyen faktörler*. YYÜ Vet Fak Derg. 13, 35-40.
6. Dokuzlu C, (1996). *Marinat hamsi üretimi sırasında kullanılan asit-tuz oranlarının ürünün mikrobiyolojik ve organoleptik kalitesi üzerine etkileri ve raf ömrünün belirlenmesi*. Doktora Tezi, UÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
7. Dündar A, Sarıçoban C, Yılmaz MT, (2012). *Response surface optimization of effects of some processing variables on carcinogenic/mutagenic heterocyclic aromatic amine (HAA) content in cooked patties*. Meat Science. 91, 325-333.
8. Erdem ME, Bilgin S, Çağlak E, (2005). *Tuzlama ve marinasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığının (Trachurus mediterraneus) muhafazası sırasındaki kalite değişimleri*. OMÜ Zir Fak Dergisi. 20,(3), 1-6.
9. Fuselli R, Casales MR, Fritz R, Yeannes ML, (1996). *Isolation and characterization of microorganism associated with marinated anchovy (engraulis anchoita)*. J Aquat Food Prod Tech. 7, (3), 29-38.
10. Gökoğlu N, Cengiz E, Yerlikaya P, (2004). *Determination of the shelf life of marinated sardine (Sardina pilchardus) stored at 4°C*. Food Control. 15, 1-4.
11. Gün H, Gökoglu N, Varlık C, (1994). *Alabalık (Onchorynchus Mykiss, W., 1792) marinatında olgunlaşma süresinin belirlenmesi*. İÜ Su Ürünleri Dergisi. 1-2, 137-144.
12. Gibis M, (2007). *Effect of oil marinades with garlic, onion, and lemon juice on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties*. J Agric Food Chem. 55, 10240-10247.
13. Harrigan WF, (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3rd edition. London: Academic Press.
14. Kılınc B, Çaklı Ş, (2000). *Marinat teknolojisi*. EÜ Su Ürünleri Dergisi. 21, 153-156.
15. Kılınc B, Çaklı Ş, (2005). *Determination of the shelf life of sardine (Sardina pilchardus) marinades in tomato sauce stored at 4°C*. Food Control. 16, 639-644.
16. Kurtcan Ü, Gönül M, (1987). *Gıdaların duyuşal değeriendirilmesinde puanlama metodu*. Ege Univ Müh Fak Derg. 5, 137-146.
17. Lee WC, Yusof S, Hamid BS, (2006). *Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM)*. J Food Eng. 75, 473-479.
18. Olafsdottir G, Nesvadba P, Natale CD, Careche M, Oehlschlager J, Tryggvadottir SV, Schuring R, Kroeger M, Heia K, Esaiassen M, Macagnano A, Jørgensen BM, (2004). *Multisensor for fish quality determination*. Trends Food Sci Tech. 15, 86-93.
19. Olgunoğlu İA, (2010). *Hamsi (Engraulis encrasicolus) marinasyon prosesinde tehlike analizleri ve kritik kontrol noktalarının belirlenmesi*. GTED. 5, 36-48.
20. Özdamar K, (2001). *SPSS İle bioistatistik*. Kaan Kitapevi. Eskişehir.
21. Özden Ö, (2005). *Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish*. J Sci Food Agr. 85, 2015-2020.
22. Özoğul Y, Özyurt G, Özoğul F Kuley E, Polat A, (2005). *Freshness assessment of European eel (Anguilla anguilla) by sensory, chemical and microbiological methods*. Food Chemistry. 92, 745-751.
23. Rastogi NK, Rashimi KR, (1999). *Optimisation of enzymatic liquefaction of mango pulp by response surface methodology*. Eur Food Res Technol. 209, 57-62.
24. Shan H, Gorczyca E, Kasapis S, Lopata A, (2010). *Optimization of hydrogen-peroxide washing of common carp kamaboko using response surface methodology*. LWT - Food Science and Technology. 43, 765-770.
25. Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı, (2000). *T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü*. p. 229.
26. Tarladgis BG, Watts BM, Younnathan MT, Dugan LR, (1960). *A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods*. J Am Oil Chem Soc. 37, 44-48.
27. Varlık C, Uğur M, Gökoğlu N, Gün H, (1993). *Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri*. Gıda Teknolojisi Derneği. Ayrıntı Matbaası, İstanbul.
28. Varlık C, Erkan N, Metin S, Baygar T, Özden Ö, (2000). *Marine balık köftesinin raf ömrünün belirlenmesi*. Türk J Vet Anim Sci. 24, 593-597.