

Rasyona Astaksantin İlavesinin Tatlı Su İstakozu (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823)'nun Kas ve Hepatopankreasındaki Astaksantin Düzeyinin Karşılaştırılması

Özden BARIM ÖZ^{1*}, Mustafa KARATEPE²

¹Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, ELAZIĞ.

²Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, ELAZIĞ

e-posta: obarim@firat.edu.tr

Geliş Tarihi:24.11.2012 Kabul Tarihi: 10.05.2013

Özet: Bu çalışmada, yeme astaksantin ilavesinin kerevitlerin (*Astacus leptodactylus*) kas ve hepatopankreasındaki birikim düzeyleri karşılaştırıldı. Kerevitlerin bu dokulardaki astaksantin düzeyleri HPLC ile ölçüldü. Bu amaçla, % 35.78 oranında ham protein içeren bir kontrol yemi (K) hazırlandı. Kontrol yemine astaksantin ilave edilerek (150 mg kg⁻¹) ikinci bir yem (D1) grubu oluşturuldu. Çalışma sonucunda, kas ve hepatopankreasdaki astaksantin düzeyinin kontrol grubuna oranla D1 grubunda istatistiksel açıdan önemli derecede daha yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla; p<0,01, p<0,001). Ayrıca bu çalışmada her iki yemle beslenen kerevitlerin kasındaki astaksantin düzeyinin hepatopankreasdan daha yüksek olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Astacus leptodactylus*, Hepatopankreas, Kas, Astaksantin, HPLC

Comparison of Astaxanthin in the Muscle and Hepatopancreas of Freshwater Crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) with Supplementation of Astaxanthin to Diet

Abstract: In this study, comparison of astaxanthin in the muscle and hepatopancreas of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) with supplementation of astaxanthin to diet were investigated. Astaxanthin levels in this tissues of crayfish was analysed by HPLC. For these aim, a control diet, contain 35.78 % crude protein was prepared. Diet 1 (D1) contained 150 mg kg⁻¹ supplemental astaxanthin in control diet. Results showed that the concentrations of astaxanthin in the muscle and hepatopancreas was significant higher at the D1 group compared to control diet (p<0,01, p<0,001, respectively). However, it was determined that astaxanthin level in the muscle were higher than those of hepatopancreas in the crayfish group in either diet.

Key Words: *Astacus leptodactylus*, Hepatopancreas, Muscle, Astaxanthin, HPLC

Giriş

Tatlı su istakozunun birçok ülkede sevilerek tüketilmesi nedeniyle, ekonomik değerinin her geçen gün yükselmesi, diğer taraftan bilinçsiz avlanma, sulardaki kirlenme ve son yıllarda etkili olan hastalık nedeniyle doğal stokların hızla azalması, bu ürünün verimini artırmak için tatlı su istakozu kültürünün yapılması gerekliliğini arttırmaktadır (Harlıoğlu, 2004). Ancak bu kültürün yapılabilmesi için kerevitlerin ihtiyacı olan yem maddelerinin ve oranlarının bilinmesi gerekir. Astaksantin de kültür şartlarında yapılan kerevitlerin üretim ve yetiştiriciliğinde yemlere ilave edilebilecek önemli maddelerden biridir.

Astaksantin bilinen en önemli özelliklerinden biri antioksidan veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bu özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranlarında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemektedir (Akkuş, 1995; Nakano ve ark., 1999). Ayrıca bu madde dekapod krustaselerin ana pigment maddesidir (Meyers, 1994) ve dokulara kırmızı-turuncu bir renk sağlar (Yanar ve ark., 2004). Astaksantin

insanlar için de oldukça önemlidir. Örneğin, kansere karşı etkili olan önemli maddelerden biridir. İmmun sistemini desteklemekte, göz ve merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olmaktadır (Lorenz, 2008).

Bu çalışmada farklı iki yemle beslenen kerevitlerin kas ve hepatopankreaslarındaki astaksantin miktarı HPLC ile ölçülerek, bu dokulardaki birikim oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Laboratuvarı'nda yürütüldü. Çalışmada kullanılan kerevitler Keban Baraj Gölü Ağın yöresinden temin edildi. Kerevitler cam akvaryumlara (25x25x110 cm) yerleştirildi. Barınak olarak plastik borular (15 cm uzunluğunda, 7 cm çapında) kullanıldı. Akvaryumlara eşit havalandırmalar sağlandı. Bir hafta süre ile ortam şartlarına adaptasyonu sağlandı. Kerevitlerin karapaks uzunluğu ve ağırlığı belirlendi. *A. leptodactylus*'un besin ihtiyacını karşılayacak bir kontrol yemi hazırlandı. Bu yem günlük olarak kerevitlerin vücut ağırlıklarının %2 si oranında



kerevitlere verildi (Reigh ve ark., 1990) (Tablo 1). Hazırlanan yemlerin ham besin madde analizleri AOAC (1984)'ye göre yapıldı. Bu kontrol yemine

150 mg kg⁻¹ astaksantin ilave edilerek ikinci bir yem oluşturuldu. Yemdeki astaksantin miktarı soya küspesi miktarının azaltılmasıyla düzenlendi.

Tablo 1. Yemin içeriği ve kimyasal yapısı (%).

<u>Yem öğeleri</u>	<u>Kuru ağırlık (%)</u>
Balık unu	35,78
Soya küspesi	38,64
Buğday unu	19,30
Bitkisel yağ	4,00
Dicalcium phosphate	1,00
Sodium phosphate	0,40
Avilamycine ¹	0,10
Antioxidant ²	0,10
Vitamin karması ³	0,50
Mineral karması ⁴	0,18
<u>Kimyasal yapısı</u>	
Ham protein	37,41
Ham yağ	7,60
Selüloz	4,00
Ham kül	14,95
Azotsun öz madde	29,56
Nem	6,48
Toplam enerji (kcal g ⁻¹)	3,246
Protein/ Enerji (mg kcal ⁻¹)	115,23

(1) Kavilamycine

(2) Antioxidant (mg kg⁻¹): butylated hydroxytoluene 12,5.

(3) Vitamin karışımı (IU veya mg kg⁻¹): vitamin A 2.000.000 IU, vitamin D₃ 200.000 IU, vitamin K 3.000 mg, vitamin B₁ 1.000 mg, vitamin B₂ 3.000 mg, Niacin 30.000 mg, Kalsyum D-Pantothenate 10.000 mg, vitamin B₆ 2.000 mg, vitamin B₁₂ 4 mg, Folic Acid 600 mg, D-Biotin 200 mg, Choline Chloride 100.000 mg ve vitamin C 60.000 mg.

(4) Mineral karışımı (IU veya mg kg⁻¹): Mn 80.000, Fe 35.000, Zn 50.000, Cu 5.000, I 2.000, Co 400, Se 150.

Araştırmada herbir akvaryuma 10 adet kerevit yerleştirildi. Altı adet akvaryum kullanıldı. Üç tekrar olarak yapılan çalışma sonunda herbir gruptan alınan 24 adet kerevitin kas ve hepatopankreas dokuları çıkarıldı ve analize kadar -80 °C'de saklandı.

Araştırma sonunda (45 gün) farklı oranlarda astaksantin içeren yemle beslenen kerevitlerin kas ve hepatopankreasındaki astaksantin düzeyleri HPLC ile ölçüldü. Analizde farklı ekstraksiyon ve

mobil fazlar denendi. Hareketli faz olarak asetonitril: diklorometan: metanol: formik asit (140:20:9:1) kullanıldı. Akış hızı 1 ml/dak. ve PDA detektörde 475 nm dalga boyunda çalışıldı (Berticat ve ark., 2000).

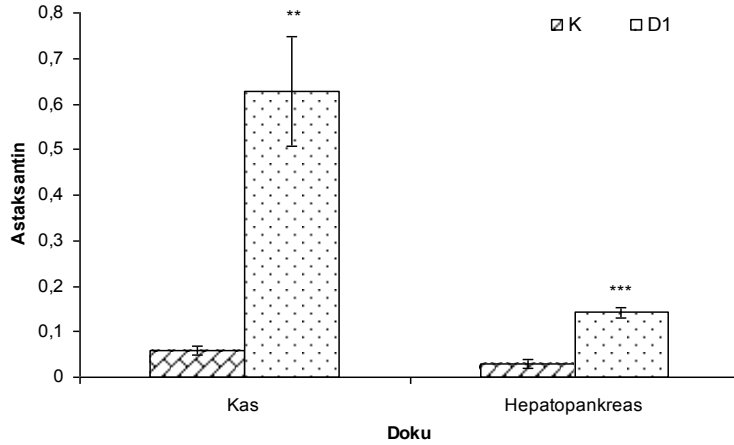
İncelenen parametrelere ait değerlerin ortalamalarının, standart sapmalarının ve gruplar arası farklılığın önem derecesinin tespitinde kullanılan Independent-Samples T Testi'nin

yapılması için “SPSS®10.0” paket programı kullanıldı.

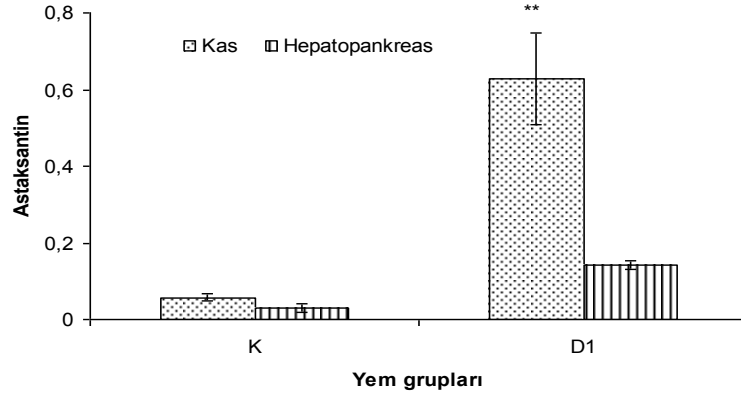
Sonuçlar

Yapılan çalışmada kerevitlerin kas ($K=0,0574\pm0,01$ $\mu\text{g/g}$, $D1=0,6285\pm0,12$ $\mu\text{g/g}$) ve hepatopankreasdaki ($K=0,03\pm0,01$ $\mu\text{g/g}$, $D1=0,1415\pm0,01$ $\mu\text{g/g}$) astaksantin düzeyinin kontrol grubuna oranla D1 grubunda istatistiksel

açıdan önemli derecede daha yüksek olduğu belirlendi. (sırasıyla; $p<0,01$, $p<0,001$) (Şekil 1). Ayrıca bu çalışmada D1 ile beslenen kerevitlerin kasındaki astaksantin düzeyinin hepatopankreasdan daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Kontrol yeminde de böyle bir farklılık görülmesine rağmen farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi (Şekil 2).



Şekil 1. *A. leptodactylus*'un kas ve hepatopankreasındaki astaksantin düzeyi.



Şekil 2. *A. leptodactylus*'un kas ve hepatopankreasındaki astaksantin düzeyleri arasındaki ilişki.

Tartışma

Yapılan araştırmada, yeme astaksantin ilave edilmesinin doku astaksantin birikimi üzerinde etkili olduğu belirlendi. Ayrıca bu çalışmada kasdaki astaksantin düzeyinin hepatopankreasdan daha yüksek olduğu tespit edildi. Genel olarak yapılan çalışmalarda yeme ilave edilen astaksantin ile beslenen su canlılarının ya kaslarındaki astaksantin miktarı belirlenmiş yada farklı

pigmentasyon maddelerinin birikimleriyle ilişkilendirilmiştir. Örneğin, Barclay ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada dört farklı astaksantin düzeyi içeren yemle yapılan besleme sonunda sindirim bezlerindeki karotenoid miktarı kasdaki karotenoid miktarından daha düşük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da bir pigment maddesi olan astaksantin hepatopankreasdaki miktarı kas dokusundan daha düşük bulunmuştur.

Akuatik organizmaların market fiyatları öncelikle renklerinin parlak ve canlı görüntüsüne dayandırılır. Eğer ürünün renkleri tüketiciyi cezbedecek tonlarda olursa büyük bir talebi görür ve daha yüksek bir fiyata satılır. Krustaselerin ana pigment materyali astaksantindir ve ana pigment karotenoidlerinden biridir. Ete kırmızı-turuncu renk sağlar (Meyers, 1994; Yanar ve ark., 2004). Çalışmamız sonucunda da astaksantin ilave edilen yemle beslenen kerevitlerin kasında ki astaksantin miktarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve kas renklerinin daha pembemsi olduğu belirlendi.

Çalışmada abdomen etindeki astaksantin düzeyi kontrol grubunda $0,0574 \pm 0,01$ $\mu\text{g/g}$, astaksantin ilave edilen grupta $0,6285 \pm 0,12$ $\mu\text{g/g}$ olarak belirlendi. Berticat ve diğ., (2000) tarafından *Astacus leptodactylus*'ların embriyonik gelişimleri esnasında astaksantin miktarının $0,012-0,79$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Parıpatanont (1999) yemlere farklı oranlarda (0, 25, 50, 75, 100 mg kg^{-1}) astaksantin ilave ettikleri *Carassius auratus* türü balıklarda derideki astaksantin düzeyinin (3,40, 5,40, 6,47, 6,13, 6,67 mg kg^{-1}) yeme ilave edilen oranlara paralel olarak arttığını bildirmiştir. Nakano ve ark. (1999) astaksantin bakımından zengin yemlerle besledikleri *Oncorhynchus mykiss*'lerin kasında bu değeri $0,097-1,102$ mg kg^{-1} olarak belirlemiştir. Chien ve diğ. (2003) *Penaeus monodon*'un kontrol yemine ilave ettikleri (80 mg kg^{-1}) astaksantin ile besledikleri karideslerin kasındaki astaksantin miktarının $45,6$ $\mu\text{g/g}$, kontrol grubunda ise bu değer $10,5$ $\mu\text{g/g}$ olduğunu bildirmiştir. Barclay ve diğ. (2006) yemlere ilave edilen astaksantine (30, 60, 90, 120 mg kg^{-1}) paralel olarak kasdaki astaksantin miktarının (4,7, 16,7, 27,8, 32,8 mg kg^{-1}) arttığını tespit etmiştir. Veriler arasındaki farklılık türlerin farklı olmasına ve yemlere farklı astaksantin bileşiminin katılmasına bağlanabilir.

Kaynaklar

- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- AOAC, 1984. Official methods of analysis (14th Ed), Association of Official Analytical Chemists. Inc. Arlington 1141 p.
- Barclay, M.C., Irvin, S.J., Williams, K.C., Smith, D.M., 2006. Comparison of Diets for the Tropical Spiny Lobster *Panulirus ornatus*: Astaxanthin-Supplemented Feeds and Mussel Flesh. *Aquaculture Nutrition*, 12:117-125.
- Berticat, O., Negre-Sadargues and Castillo, R. 2000. The metabolism of astaxantin during the embryonic development of the crayfish *Astacus*

leptodactylus Eschscholtz (Crustacea, Astacidae). *Comp. Bioc. and Physiol. Part B*, 127:309:318.

- Chien, Y-H., Pan, C-H., Hunter, B. 2003. The Resistance to Physical Stresses by *Penaeus monodon* Juveniles Fed Diets Supplemented with Astaxanthin. *Aquaculture*, 216:177-191.
- Harlıoğlu M. M., 2004. The present situation of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, 230:181-187.
- Lorenz, T., 2008. Food for thought: a review of the carotenoid, astaxanthin, as a pigment source and vitamin for cultured *Penaeus* prawn. Available at: <http://www.brineshrimpdirect.com/Food-for-Thought-c85.html>
- Meyers, S.P. 1994. Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids. *Pure and Appl. Chem.*, 66(5):1069:1076.
- Nakano, T., Kanmuri, T., Sato, M., 1999. Effect of astaxanthinrich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1426(1):119-125.
- Parıpatanont, T. 1999. Effects of Astaxanthin on the Pigmentation of Goldfish *Carassius auratus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(4):454-460.
- Reigh, R. C., Braden S. L. and Craig R. J., 1990. Apparent digestibility coefficients for common feedstuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*, 84:321-334.
- Yanar, Y., Çelik, M. and Yanar, M. 2004. Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*, 88:267-269.