

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KARİDES İŞLEME ARTIKLARINDAN ASTAKSANTİN EKSTRAKSİYON
KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU: FARKLI POLARİTEDEKİ ÇÖZGENLERİN
ASTAKSANTİN VERİM VE KALİTESİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Adem KAYA

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ARALIK 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KARİDES İŞLEME ARTIKLARINDAN ASTAKSANTİN EKSTRAKSİYON
KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU: FARKLI POLARİTEDEKİ ÇÖZGENLERİN
ASTAKSANTİN VERİM VE KALİTESİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Adem KAYA

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ARALIK 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARİDES İŞLEME ARTIKLARINDAN ASTAKSANTİN EKSTRAKSİYON
KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU: FARKLI POLARİTEDEKİ ÇÖZGENLERİN
ASTAKSANTİN VERİM VE KALİTESİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Adem KAYA
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez T.C. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FYL-2017-2517 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ARALIK 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARİDES İŞLEME ARTIKLARINDAN ASTAKSANTİN EKSTRAKSİYON
KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU: FARKLI POLARİTEDEKİ ÇÖZGENLERİN
ASTAKSANTİN VERİM VE KALİTESİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Adem KAYA
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 17/12/20118 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Osman Kadir TOPUZ (Danışman)
Prof.Dr. Pınar Yerlikaya KEBAPÇIOĞLU
Dr.Öğretim Üyesi İlknur UÇAK

ÖZET

KARİDES İŞLEME ARTIKLARINDAN ASTAKSANTİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU: FARKLI POLARİTEDEKİ ÇÖZGENLERİN ASTAKSANTİN VERİM VE KALİTESİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Adem Kaya

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği

Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Osman Kadir Topuz

Aralık 2018; 54 Sayfa

Kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*) işleme artıklarında bulunan doğal renk maddesi ve güçlü bir antioksidan olarak bilinen astaksantin en uygun şartlarda ekstrakte edilerek karides işleme artıklarının değerlendirilmesi bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Bu amaçla Antalya Balık Halinden temin edilen *Aristaeomorpha foliacea* soğuk zincirle fakülte laboratuvarına getirilip baş alma ve kabuk çıkarma işlemleri yapılarak karides işleme artığı elde edilmiştir. Karides işleme artıkları dondurarak kurutma yöntemi ile kurutulularak ardından öğütücü yardımı ile un haline getirilmiştir. Delik çapı 2 mm olan elek ile elenerek standardize edilen karides işleme artıkları ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemine göre ekstrakte edilmiştir. Astaksantin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu Cevap Yüzey Metodu, Box ve Behnken deneme desenine göre yapılmıştır. Optimizasyon en yüksek astaksantin içeriği ve en yüksek antioksidan aktivite hedef alınarak yapılmıştır.

Çalışmada astaksantin ekstraksiyonuna önemli etkileri olabileceği düşünülen ekstraksiyon sıcaklığı (30-70 °C), ekstraksiyon süresi (30-90 dakika) ve biyokütle (karides artığı): çözen oranı (1:10-1:30) gibi parametreler test edilerek karides işleme artıklarından astaksantin ekstraksiyon yöntemi optimize edilmeye çalışılmıştır. Çözen olarak hekzan kullanılarak optimizasyon yapıldıktan sonra optimum koşullar belirlenmiş ve belirlenen optimum koşullar altında hekzan, aseton, kloroform, metanol, etanol ve izopropil alkol gibi farklı polaritedeki 6 çözenin ekstrakt içeriğindeki astaksantin miktarına ve kalitesine (antioksidan aktivitesi) etkisi test edilmiştir.

Çalışma sonunda kırmızı karides işleme artıklarından astaksantin ekstraksiyonuna ekstraksiyon sıcaklığı (30-70 °C), biyokütle:çözen oranı (1:10-1:30, g/ml) ve ekstraksiyon süresi (30-90 dakika) gibi parametrelerden çözen oranının önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan şartlarda en yüksek miktarda ve kalitede astaksantin ekstraksiyonu için optimum değerler: ekstraksiyon sıcaklığı: 41 °C, ekstraksiyon süresi: 88 dakika ve biyokütle:çözen oranı: 1:30 g/ml olarak bulunmuştur. Belirlenen optimum koşullar altında astaksantin içeriği ise 336.4±5.1 ppm olarak saptanmıştır. Belirlenen optimum koşullarda farklı polaritedeki çözenlerle yapılan

ekstraksiyonlar sonucu en yüksek astaksantin miktarı ve en yüksek antioksidan aktivite değeri hekzan ile en düşük oranlar ise aseton ile elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Aristaeomorpha foliacea*, astaksantin, cevap yüzey metodu, optimizasyon, ultrasonik destekli ekstraksiyon.

JÜRİ: Doç.Dr. Osman Kadir TOPUZ

Prof.Dr. Pınar Yerlikaya KEBAPÇIOĞLU

Dr.Öğretim Üyesi İlknur UÇAK



ABSTRACT

OPTIMIZATION OF ASTAXANTHIN EXTRACTION CONDITIONS FROM SHRIMP BYPRODUCTS: DETERMINATION OF ASTAXANTHIN EFFICACY AND QUALITY OF DIFFERENT POLARIZED SOLVENTS

Adem KAYA

MSc Thesis in Seafood Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Osman Kadir TOPUZ

December; 54 pages

The aim of this investigate is to evaluate the shrimp processing residues by extracting the natural coloring matter found in the red shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) processing waste and astaxanthin known as a strong antioxidant under optimal conditions. For this purpose, *Aristaeomorpha foliacea* shrimp is brought to the faculty laboratory by cold chain firstly by taking the head and crusting process and obtaining shrimp byproduct to be the raw material of study. The shrimp processing byproduct was dried in freeze-dried and then ground with a hand-held blender. Then byproducts were standardized with 2 mm a pore diameter of strainer and ultrasonic asisted extraction method was done. Optimization of astaxanthin extraction conditions was made according to the Box and Behnken trial design of Response Surface Methodology. Optimization was done with the aim of maximal astaxanthin content and maximal antioxidant activity.

In the study, it was tried to optimize astaxanthin extraction method from shrimp processing residue by testing the parameters such as extraction temperature (30-70 °C), extraction time (30-90 minutes) and biomass (shrimp increase): solvent ratio (1:10-1:30). It has been determined that the biomass:solvent ratio has a significant effect. After optimizing using hexane as solvent, the effect of astaxanthin content and quality (antioxidative activity) in extracts of 6 solvents of different polarity such as hexane, acetone, chloroform, methanol, ethanol and isopropyl alcohol under optimal conditions determined was tested.

At the end of the study, it was determined that extraction parameters such as extraction temperature, solvent ratio and extraction time for astaxanthin extraction from red shrimp processing residues were not statistically significant. Optimum values for astaxanthin extraction at the highest amount and quality: extraction temperature: 41 °C, extraction time: 88 minutes and optimum solvent: biomass ratio: 1:30 g/ml. The highest astaxanthin content under the determined optimum conditions was determined as 336.4 ±5.1 ppm

Extracts made with different polarity solvents at the determined optimum conditions resulted in the highest astaxanthin content and the highest antioxidant

activity rate was obtained with hexane, the lowest result was obtained by extraction with acetone.

KEY WORDS: *Aristaeomorpha foliacea*, astaxanthin, optimization, response surface methodology, ultrasonic asisted extraction.

COMMITTEE: Assoc.Prof.Dr. Osman Kadir TOPUZ

Prof.Dr. Pınar Yerlikaya KEBAPÇIOĞLU

Assist Prof.Dr. İlknur UÇAK



ÖNSÖZ

Akdeniz’de ve özellikle ülkemiz kıyılarında avcılığı yapılan önemli bir karides türü olan kırmızı karides *Aristaeomorpha foliacea* işleme artıkları içeriğinde, doğal renk maddesi ve antioksidan olarak gıda sanayinde yaygın kullanım alanına sahip ayrıca ilaç sektörü ve su ürünleri yetiştiricilik sektöründe de kullanılmakta olan astaksantin bol miktarda bulunmaktadır. Kırmızı karides işleme artıklarının işleme tesislerinde depolanması ve uzaklaştırılması ekonomik kayıpların yanısıra çevresel problemlere de yol açmaktadır. Bu projede kırmızı karides artıklarında bulunan değerli bioaktif maddelerden birisi olan astaksantin en uygun koşullarda ekstraksiyonu ile hem çevresel problemlerin azaltılması hem de ekonomik bir kazanım elde edilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın birinci aşamasında kırmızı karides işleme artıklarında bulunan astaksantin ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş, ikinci aşamasında ise elde edilen optimum koşullar altında farklı polaritelere sahip organik çözügenlerin astaksantin verimine etkileri belirlenmiştir. Tez çalışmasının yapılacak benzeri akademik çalışmalara ışık tutmasını ve topluma faydalı olmasını temenni ederim.

Bu tez çalışmasının karar aşamasından savunma aşamasına kadar desteğini ve anlayışını benden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç.Dr. Osman Kadir TOPUZ’a, Sayın Tez İzleme Komitesi üyelerine, Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyelerine, Doç.Dr. Yaşar ÖZVAROL’a, Su Ürünleri Mühendisi Berru ETLİ’ye, Su Ürünleri Fakültesi Lisans öğrencileri Gizem Nazlı URAL, Ahmet Mesut YILMAZ, Nazlıgül CANLI, Zeynep ZABUN’a, Gıda Yüksek Mühendisi Dr.Hanife Aydan YATMAZ’a, abim ve iş arkadaşım Ertan SAĞLAM’a teşekkürü bir borç bilirim.

Benim bu günlere gelmemde maddi manevi en büyük destekçilerimden sevgili eşim Arş.Gör. Ayla KAYA’ya ve kendilerine ayırmam gereken zamandan nazlanmadan feragat ederek sevgileriyle beni destekleyen kızım Azra Aleyna KAYA ve oğlum Arda Ahmet KAYA’ya sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. <i>Aristaeomorpha foliacea</i> (Kırmızı Dev Karides).....	3
2.2. Astaksantin	4
2.2.1. Astaksantin'in etki mekanizması	6
2.2.2. Astaksantin'in canlılara etkileri.....	7
2.2.3. Astaksantin'in kullanım alanları	8
2.2.4. Astaksantin pazarı	8
2.3. Karides İşleme Artıklarının Kurutulması	10
2.4. Ekstraksiyon Teknolojisi ve Astaksantin'in Ekstraksiyonu	10
2.4.1. Ultrasonik destekli çözgen ekstraksiyonu	11
2.4.2. Ekstraksiyonda kullanılan çözgen maddeler	13
2.5. Cevap Yüzey Metodu ve Optimizasyon	14
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal	16
3.2. Metot	18
3.3. Analizler.....	22
3.3.1. Karides artık miktarı analizi	22

3.3.2. Kimyasal kompozisyon analizi	22
3.3.2.1. Toplam kurumadde analizi.....	22
3.3.2.2. İnorganik madde analizi	22
3.3.2.3. Toplam yağ analizi.....	23
3.3.3. Ekstrakt veriminin hesaplanması	23
3.3.4. Yağ asitleri kompozisyonu analizi	24
3.3.5. Antioksidan aktivite analizi	24
3.3.6. Astaksantin analizi	25
3.3.7 Renk ölçümü	26
3.3.8. İstatiksel analizler.....	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) İşleme Artık Miktarı.....	27
4.2. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) Artıklarının Kimyasal Kompozisyonu	27
4.3. Ekstrakt Veriminin Hesaplanması.....	28
4.4. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) Artıklarının Yağ Asitleri İçeriği.....	28
4.5. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) İşleme Artıklarının Ekstraksiyonlarına Ait Bulgular	29
4.6. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu.....	37
4.7. Farklı Çözgenlerin Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyonuna Etkisi.....	37
5. SONUÇLAR.....	44
6. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	: yüzde
cm	: santimetre
mg/g	: miligram/gram
kq	: etkisizleştirme yeteneği oran sabiti
mg	: miligram
\$/kg	: dolar/kilogram
kHz	: kilohertz
f	: frekans
g/ml	: gram/mililitre
aw	: su aktivitesi değeri
dk	: dakika
mm	: milimetre
KAM	: karides artık miktarı
DHA	: dokosahekzaenoik asit
EPA	: eikosapentaenoik asit
ml	: mililitre
µm	: mikrometre
rpm	: dakikadaki devir sayısı (Revolutions per Minute)
TEAC	: trolox eşdeğeri antioksidan kapasite
ppm	: mg/L
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
°C	: santigrat derece
µM	: mikromolar

μm : mikrometre
nm : nanometre
L : parlaklık
a : kırmızı-yeşil
b : sarı-mavi

Kısaltmalar

UAE Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (Ultrasonic Assisted Extraction)
SAS İstatiksel Analiz Sistemi (Statistical Analysis System)
GC Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
HPLC Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Karides İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu: Farklı Polaritedeki Çözgenlerin Astaksantin Verim Ve Kalitesine Etkilerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

17/12/ 2018

Adem KAYA



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 2009–2013 Yılları arasında Türkiye kıyılarında avlanan toplam karides miktarları (Ton) (TÜİK 2009–2013)	4
Şekil 2.2. Astaksantin kimyasal yapısı	5
Şekil 3.1. Antalya Balık Hali	16
Şekil 3.2. Karides işleme artıkları	16
Şekil 3.3. Dondurarak kurutucuda karides işleme artıklarının kurutulması	17
Şekil 3.4. a) Kurutulmuş karides; b) Öğütme; c) Eleme; d) Homojenizasyon	18
Şekil 3.5. a) Ekstraksiyon öncesi çözgen+karides işleme artığı karışımı; b) Ultrasonik destekli ekstraksiyon	20
Şekil 3.6. a) Kaba filtre kağıdı ile filtrasyon; b) Evaporasyon öncesi çözgen+astaksantin içerikli yağ	20
Şekil 3.7. Astaksantin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait iş akış şeması	21
Şekil 3.8. Yağ ekstraksiyonları	23
Şekil 3.9. a) Ekstraktların filtrasyonu (0.45 µm membran filtre); b) Viallerin Oto örnekleyiciye yerleştirilmesi	25
Şekil 4.1. Astaksantin miktarının (ppm), sabit biyokütle: çözgen oranına (g./ml) göre üç boyutlu değişim grafiği	33
Şekil 4.2. Astaksantin miktarının (ppm), sabit sıcaklık faktörüne (°C) göre üç boyutlu değişim grafiği	33
Şekil 4.3. Astaksantin miktarının (ppm), sabit zamana (dk) göre üç boyutlu değişim grafiği	34
Şekil 4.4. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit biyokütle:çözgen oranına (gr/ml) göre üç boyutlu değişim grafiği	35
Şekil 4.5. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit zamana (dk) göre üç boyutlu değişim grafiği	35
Şekil 4.6. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit sıcaklık (°C) faktörüne göre üç boyutlu değişim grafiği	36
Şekil 4.7. Etanol ekstresinin HPLC kromotogramı	38
Şekil 4.8. Metanol ekstresinin HPLC kromotogramı	38

Şekil 4.9. İsopropil alkol ekstresinin HPLC kromotogramı	39
Şekil 4.10. Aseton ekstresinin HPLC kromotogramı	39
Şekil 4.11. Kloroform ekstresinin HPLC kromotogramı.....	40
Şekil 4.12. Hekzan ekstresinin HPLC kromotogramı.....	40
Şekil 4.13. Farklı polaritedeki çözenlerin astaksantin miktarı üzerine etkileri	42
Şekil 4.14. Farklı polaritedeki çözenlerin antioksidan aktivite değeri üzerine etkileri.....	42
Şekil 4.15. Farklı polaritedeki çözenlerin Renk a değeri üzerine etkileri.....	43



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı mikroorganizmaların sentezledikleri astaksantin miktarı (mgAstaksantin/g kuru hücre)	6
Çizelge 2.2. Bazı karotenoidlerin singlet oksijen etkisizleştirme yeteneği	7
Çizelge 2.3. Çeşitli firmalar ve farklı şekillerdeki ürünleri	9
Çizelge 2.4. Ekstraksiyonda kullanılan çözenlere ait bazı kimyasal özellikler	13
Çizelge 3.1. Kırmızı karides işleme artıklarından ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait Cevap Yüzey Metodu Box-Behnken deneme deseni	19
Çizelge 4.1. <i>Aristaeomorpha foliacea</i> karidesinin işleme artık miktarı	27
Çizelge 4.2. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) artıklarının kimyasal kompozisyonu	28
Çizelge 4.3. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) artıklarının farklı çözenlerle yapılan ekstraksiyonlarının % Ekstrakt Verimleri.....	28
Çizelge 4.4. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) işleme artığı ve karides etinin yağ asitleri değerleri.....	29
Çizelge 4.5. Karides (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>) işleme artıklarından elde edilen ekstraktların astaksantin içeriği ve antioksidan aktivite değerleri	30
Çizelge 4.6. Astaksantin miktarı Varyans (ANOVA) analiz sonuçları	31
Çizelge 4.7. Ekstraktların antioksidan aktivite değerleri Varyans (ANOVA) analiz sonuçları	32
Çizelge 4.8. Optimum koşullar, maksimum astaksantin miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değeri	37
Çizelge 4.9. <i>Aristaeomorpha foliacea</i> karidesi artıkları ekstraktlarının kullanılan çözen türüne göre astaksantin miktarları, antioksidan aktivite değerleri ve renk değerleri	41

1. GİRİŞ

Demersal bir tür olan kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*), nispeten dar bir alan olan 250 ile 1300 metre derinliklerde yayılım gösterdiği halde Akdeniz ve Ege Denizinin orta yamaçlarında yayılımı 400 ile 600 metre derinlikleri arasındadır (Cartes 1995). Mersin Körfezinde 400 metre derinlikte derin su trolü ile bol olarak avlanan kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*), Antalya Körfezi'nde de baskın bir türdür (Bayhan vd. 2015).

Karides işleme teknolojisinin gelişmesiyle birlikte karides artıklarının değerlendirilmesi de oldukça önemli bir konu haline gelmiştir. İşleme fabrikalarında etleri ayrılan bütün karideslerin artıkları, toplam ürünün yaklaşık % 40-56'sını oluşturmaktadır. Baş, kabuk ve kuyruk kısımlarından oluşan ve önemli besinsel içeriğe sahip karides artıkları kolayca bozulabilmektedir. Karides artıkları uygun şartlarda değerlendirilmedikleri takdirde önemli ölçüde çevre kirliliğinin yanı sıra ekonomik kayıplara da neden olabilmektedir (Naznin 2005; Charoenvuttitham vd. 2006).

Dünya nüfustaki artışa paralel olarak toprağa dayalı gıda kaynaklarında daralma meydana gelmiş, bu da gıda üretiminde alternatif yöntemleri zorunlu kılmıştır. Bu nedenle, mevcut doğal kaynakların maksimum düzeyde kullanılıp elde edilecek ürünün en iyi şekilde değerlendirilerek insan tüketimine sunulması büyük önem taşımaktadır (Arıca 2017; Kaya 2009). Bu yüzden; hayvansal artık olarak kabul edilen ve içeriğinde protein, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), yağda çözünür vitaminler, kitin, ayrıca kalsiyum, fosfor gibi mineraller ve astaksantin gibi değerli maddeleri içermekte olan karides işleme artıkları en iyi şekilde değerlendirilmelidir (Cira vd. 2002; Sachindra vd. 2007).

Karides, yengeç, kerevit işleme artıklarından karotenoprotein ve astaksantin pigmenti eldesine yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Yeşilayer vd. 2008; Atar ve Alçiçek 2009). Astaksantin doğal bir renk maddesi olması ve güçlü bir antioksidan etkiye sahip olması nedeniyle fonksiyonel gıda ve ilaç sektöründe yaygın şekilde tercih edilmektedir. Ayrıca su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe de yavru balık yetiştiriciliğinde ve özellikle et renklerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır.

Karides işleme artıklarından astaksantin eldesinde en önemli işlem ekstraksiyon işlemidir. Ekstraksiyon işleminin verimine ve elde edilecek ürünün kalitesine, ekstraksiyonda uygulanacak yöntem, kullanılacak çözügen tipi, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve biyokütle:çözügen oranı gibi parametreler etki etmektedir.

Astaksantin ve karides yağı, yüksek doymamış yapıları nedeniyle oksidasyona duyarlıdır. Oksijen konsantrasyonu, depolama sıcaklığı ve ışık gibi çevresel faktörler astaksantin ve yağın oksidasyonunu etkiler (Borsarelli ve Mercadante 2009). İşleme, depolama ve dağıtım sırasında gerçekleşen oksidasyon, besleyici değeri azaltır, astaksantin ve yağın kalitesini etkiler (Nawar 1996). Karides yağının yüksek PUFA içeriği nedeniyle, lipit oksidasyonu kolaylıkla gerçekleşebilir, bu da alkil ve peroksil radikalleri gibi reaktif türlerin oluşumuna yol açabilir. Bu türler karotenoit gibi kolayca oksitlenebilen bileşiklerin bozunmasını artırabilir (Lavecchia ve Zuorro 2008). Ayrıca Rao vd. (2007) yüksek işleme sıcaklıklarında yapılan işlemlerde astaksantin konsantrasyonlarında ciddi düşüşler bildirmiştir.

Bu tez çalışmasında ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve karides artığı: çözgen oranı gibi önemli parametreler test edilerek kırmızı karideslerden astaksantin ekstraksiyon şartlarının belirlenmesi ve belirlenen optimum şartlarda farklı polaritede çözgenlerin test edilerek kırmızı karideslerden astaksantin ekstraksiyonu için en uygun ekstraksiyon yönteminin ve ekstraksiyonda kullanılacak çözgenin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. *Aristaeomorpha foliacea* (Kırmızı Dev Karides)

Sistematik Sınıflandırılması;

Şube : Arthropoda

Sınıf : Crustacea

Altsınıf : Malacostraca

Takım : Decapoda

Alttakım : Natantia

Bölüm : Penaeidea

Familya : Aristaeidae

Tür : *Aristaeomorpha foliacea* (Risso 1827) şeklindedir.

Kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*), derin su (bentik) karidesi olup, genellikle çamurlu tabanlarda dağılım gösterir (Fischer vd. 1987). Kıtasal eğim boyunca denizaltı siperleri ve kanyonlarda kümelenmekte olan bu tür geniş bir coğrafi dağılıma sahiptir (Ragonese vd. 1997). Akdeniz, Atlantik, Hint Okyanusu, Batı Pasifik ve Güney Afrika'da görüldüğü rapor edilmiştir (Perez Farfante ve Kensley 1997; Bianchini 1999).

Ülkemizde Akdeniz, Ege ve Marmara Denizinde yoğun bir şekilde avlanan kırmızı karidesin bulunduğu derinlikler 120 metreden 1300 metrelere kadar varabilmektedir (Koukouras vd. 1992; Galil ve Goren 1994; d'Udekem d'Acoz 1999; Kocatas vd. 2001).

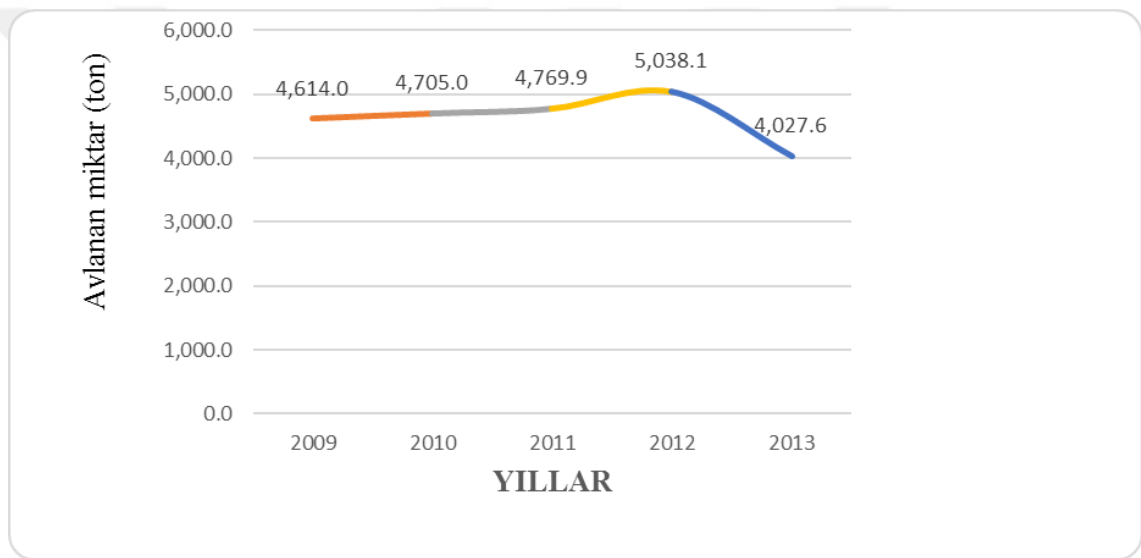
Kırmızı karidesin baş kalkanı (karapakı) kısa tüylerle kaplıdır. Baş kalkanının her iki yanının alt taraflarında uzunlamasına eğri ve uzun çıkıntılar bulunmaktadır. Kuvvetli bir hepatik dikenidir. Renkleri şarap kırmızısından açık menekşe rengine kadar değişmektedir. İleriye uzanmış karina bölgesi, baş kalkanının her iki alt yanında ve diğer karina boyunca, hafif eğik bir şekilde ve üst tarafına doğru uzanır. Dişi ve genç bireylerde rostrum uzun ve aşağıya doğru eğiktir. Maksimum boyları 22 cm'ye varan uzunluklarda olabilen türün yaygın bulunan boyları ise 15-18 cm civarındadır (Artüz 2005; Mytilineou vd. 2006).

Son yıllarda derin su türlerinin avlanmasına olan ilginin artması ile kırmızı karidesin de ekonomik önemi artmıştır. Avcılığı genellikle *Parapenaeus longirostris* ve diğer türlerle birlikte olduğundan, bu türün avlanma miktarı ile ilgili kayıt 2007 yılına kadar bulunmamaktadır. 2007'de 150 ton olan kırmızı karides avlanma miktarı 2013 yılına gelindiğinde 1363.6 ton'a yükselmiştir (Anonim 1) (Şekil 2.1). Akdeniz ve Ege kıyılarımızdan dip trolü ile avlanan kırmızı karidesin bir kısmı taze olarak tüketime

sunulurken önemli bir kısmı ise işleme fabrikalarında işlenerek dış pazara gönderilmektedir.

Kırmızı karidesin en önemli özelliği adından da anlaşılacağı üzere koyu kırmızı bir vücut rengine sahip olmasıdır (Bono vd. 2012a). Bu da içerdikleri ve atıklarını da değerli kılan doğal bir antioksidan olan astaksantinden kaynaklanmaktadır.

Ülkemizde önemli miktarlarda avcılığı yapılan karides türlerinin işleme teknolojisinin gelişmesiyle birlikte artıklarının değerlendirilmesi de oldukça önemli bir konu haline gelmiştir (Şekil 2.1). Su ürünleri işleme tesislerinde baş alma ve kabuk çıkarma işlemlerine tabi tutulan karideslerin artıkları, toplam ürünün yaklaşık % 40-56'sını oluşturmaktadır (İbrahim vd. 1999; Gildberg ve Stenberg 2001; Naznin 2005; Sachindra vd. 2006). Yapılan bir çalışmaya göre ortaya çıkan artık miktarının yaklaşık % 35'i baş, % 14'ü ise kabuk kısımlarından oluşmaktadır (Binsan vd. 2008).



Şekil 2.1. 2009–2013 Yılları Arasında Türkiye Kıyılarında Avlanan Toplam Karides Miktarları (Ton) (Anonim 1)

Karides işleme artıklarının ana bileşenleri (kuru ağırlık bazında) protein, kitin, mineral maddeler ve karotenoitlerden oluşmaktadır (Sachindra vd. 2006, 2007; Coward-Kelly vd. 2006; Diaz-Rojas vd. 2006). Karides işleme artıklarından kimyasal bileşenlerin geri kazanımı ile ilgili çalışmalar bu artıklardan sadece ekonomik değer elde etmek için değil aynı zamanda bu artıkların çevreye olan etkilerini en aza indirmek için de yapılmaktadır. Kolayca bozulabilen karides artıkları ortadan kaldırılmadıkları takdirde önemli bir çevre kirliliği etmeni olabilmektedirler (Naznin 2005; Charoenvuttitham vd. 2006).

2.2. Astaksantin

Karotenoitler, lipofilik, bünyelerinde azot içermeyen ve esas olarak fitoplankton, alg ve bitkiler tarafından üretilen 700'ün üzerinde pigmentten oluşan bir gruptur.

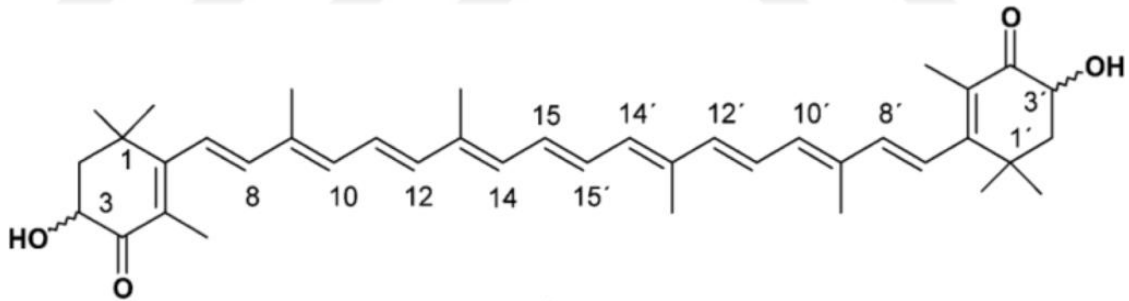
Karotenoidler en dikkat çekicisi sarı olmak üzere meyve, bitki yaprakları ve sucul canlılarda görülen turuncu ve kırmızı renkli pigmentlerdir. Fotosentez yapan organizmaların hepsinde rastlanmaktadır. Astaksantin, zeastaksantin, violaksantin, β -karoten, lutein ve likopen karotenoidlerin başlıcalarıdır (Cohen 2000).

Astaksantin (3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4,4'-dione), dünya üzerinde birçok ülkede salmonid ve kabuklu su ürünleri beslemesinde kullanılan önemli bir karotenoidtir (Bjerkeng vd. 2007; Tume vd. 2009; Wang vd. 2008; Stewart vd. 2008).

Astaksantin kimyasal tanımı;

Kimyasal Adı	: 3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4,4'-dione
Moleküler Formülü	: C ₄₀ H ₅₂ O ₄
Moleküler Ağırlığı	: 596.82
CAS Numarası	: 472-61-7
EINECS Numarası	: 207-451-4 (Lorenz 1999) şeklindedir.

Kimyasal olarak β -karotene ve A vitaminine benzeyen astaksantin yapısı Şekil 2.2'de görüldüğü üzeredir.



Şekil 2.2. Astaksantin Kimyasal Yapısı (Fassett vd. 2011)

Astaksantin; mikroalg, maya-mantar (fungus) ve kabuklu yan ürünler gibi doğal kaynaklardan elde edilebilir veya kimyasal olarak sentezlenebilir. Kimyasal olarak sentezlenen astaksantin yapısal izomerizm ve biyoaktivitede doğal formdan farklıdır.

Özellikle alg ve mantarlar tarafından stres koşulları altında üretilip biriktirilen astaksantin başlıca üretim kaynakları bir yeşil alg türü olan *Haematococcus pluvialis*, *Haematococcus lacustris* ve bir maya türü olan *Xanthophyllomyces dendrorhous*'dir (Zhang vd. 2009; Storebakken vd. 2004).

Bazı mikroorganizmaların sentezledikleri astaksantin miktarı (mgAstaksantin/g kuru hücre) aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.1) (Orosa vd. 2001).

Çizelge 2.1. Bazı mikroorganizmaların sentezledikleri astaksantin miktarı (mgAstaksantin/g kuru hücre)

Mikroorganizma türü	mgAstaksantin/g kuru hücre
<i>Scenedesmus vacuolatus</i>	: 3 mg /g
<i>Chlorella zofingiensis</i>	: 6.8 mg /g
<i>Scotiellopsis oocystiformis</i>	: 10.9 mg /g
<i>Protosiphon botryoides</i>	: 14.3 mg /g
<i>Neochloris wimmeri</i>	: 19 mg /g
<i>Haematococcus pluvialis</i>	: 22.2 mg /g

Hayvanlar ise astaksantini sentezleyemediklerinden tükettikleri besinler aracılığıyla almaktadırlar. Yüksek astaksantin içerikleriyle kabuklular beslenme yoluyla astaksantin birikimine örnek olarak verilebilir. Benzer şekilde somon ve alabalık türlerinden de astaksantin eldesi sağlanmıştır (Turujman vd. 1997).

Çok üstün bir antioksidan etkisine sahip olan astaksantin antioksidan etkisi β -karotenoid'ten 38 kat, E vitamininden ise yaklaşık 500 kat daha yüksektir (Shimidzu vd. 1996). Doğal astaksantin esas olarak sentezlenmiş astaksantin ile karşılaştırıldığında daha yüksek biyoaktivite sergileyen (3S, 3'S) formundadır (Guerin vd. 2003; Higuera - Ciapara vd. 2006; Yuan ve Chen 1997). Bu nedenle, doğal astaksantin gıda ve yem katkı maddeleri için renklendirici ve takviye olarak uygulanmasına ilgi artmaktadır.

2.2.1. Astaksantin etki mekanizması

Astaksantin diğer karotenoidler gibi yapısında bulunan konjuge çift bağ sayesinde antioksidan etki göstererek tekli oksijen ve diğer serbest radikalleri elektrondan zengin polien zincirlerini oluşturmak suretiyle uzaklaştırarak hücreyi korur (Packer 1995; Ziegler 1991).

Astaksantin 3 mekanizma ile hücreleri korumaktadır:

- 1- Tekli oksijeni uzaklaştırma ve enerjiyi ısı olarak dağıtarak,
- 2- Zincir reaksiyonlarını önlemek veya sona erdirmek için serbest radikallerin uzaklaştırılmasını sağlayarak,
- 3- Membran lipid peroksidasyonunu inhibe ederek membran yapısını korumaktadır.

Çizelge 2.2. Bazı karotenoitlerin tekil oksijen etkisizleştirme yeteneği (Gerster 1993)

Karotenoit	Etkisizleştirme Yeteneği Oran Sabiti (kq)
Likopen	31
Astaksantin	24
Kantaksantin	21
Alfakaroten	19
Betakaroten	14
Zeastaksantin	10
Lutein	8
Kriptoksantin	6

Astaksantin keto-hidroksil gruplarını içerdiğinden bu özel moleküler yapısından dolayı hücre zarına çok iyi uyum sağlamakta ve hücrenin hem iç ve hem de dış membranında kalıcı olmakta, bu özelliği ile de sadece iç veya dış membranda lokalize olabilen beta-karotene ve vitamin C'ye göre hücreyi membran peroksidasyonundan daha iyi korumaktadır (Miki 1991; Ekpe vd. 2018).

2.2.2. Astaksantinın canlılara etkileri

Astaksantinın yüksek aktivite sergileyen antioksidan özelliğinin insan sağlığı ve canlılar üzerine farklı olumlu etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- i) Bağışıklık sistemini güçlendirir (Chen vd. 2003; Kobayashi vd. 1997; Park vd. 2010).
- ii) Antikanserojendir (Fabregas 2000; Rao vd. 2013).
- iii) Canlılar için zararlı olan ultraviyole ışınlarından deriyi korur (Hagen vd. 2001; O'Connor ve O'Brien 1998; Rao vd. 2013).
- iv) Yaşlanmadan kaynaklı cilt bozulmalarını tedavi edicidir (Yamashita 2005, Arakane 2002).
- v) Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının oluşumunu önlemeye yardımcıdır (Grimmig vd. 2017, Anonymous 1).
- vi) Kolesterol düzeyini dengelemede aktiftir (Chen vd. 2015).
- vii) Göz retinasını oksidatif etkilerden korur (Yeh vd. 2016).
- viii) Karaciğerin korunmasına yardımcıdır (Turkez vd. 2013).
- ix) Mide bağırsak sistemini korur (Kamath vd. 2008; Bennedsen vd. 1999).
- x) Şeker hastalığını önlemeye yardım eder (Gross ve Lockwood 2005; Chan vd. 2012; Dong vd. 2013).
- xi) Enfeksiyon oluşumunu engeller, iltihap önleyicidir (Bhuvaneswari vd. 2013; Chew vd. 2013).

2.2.3. Astaksantin kullanım alanları

Astaksantin, akuakültür ve gıda sanayilerinde renklendirici olarak ve besin değeri artırıcı olmasından dolayı, kozmetik ve ilaç sanayilerinde de yüksek antioksidan aktivitesi nedeni ile oluşan biyo-yararlılığından dolayı uygulama alanı bulmaktadır. (Chen vd. 2003; Lorenz ve Cysewski 2000b; Fabregas 2001).

Astaksantin kullanımının en yoğun olduğu alan sucul yetiştiricilik alanıdır. Astaksantin alabalık, karides, süs balığı ve somon balığı yetiştiriciliğinde renklendirici olarak kullanımının yanında, balıkların sağlıklı ve daha hızlı gelişimi için de kullanılmaktadır (Torrissen ve Christiansen 1995).

Astaksantin insan diyet katkısı olarak kullanımının Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olmasından ötürü gıda ve ilaç sanayisinde, besin takviyesi ve antioksidan olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır (Kistler vd. 2002; Anderson 2001; Guerin vd. 2003).

Ayrıca kümes hayvanları yumurtalarının sarısının renklendirilmesi için yem katkısı olarak kullanılmaktadır (Elwinger vd. 1997; Inborr 1998).

2.2.4. Astaksantin pazarı

Hâlihazırda doğal kaynaklardan astaksantin üretimi, biyoteknolojideki en başarılı faaliyetlerden biri haline gelmiştir. İlk doğal kaynaklı astaksantin üretimi Hawai'de bulunan Cyanotech ve Aquasearch firmaları tarafından başlatılmıştır. Her iki firma da astaksantin eldesi için astaksantin içeriği zengin bir yeşil alg türü olan *Haematococcus pluvialis*'i kullanmışlardır (Panis ve Carreon 2016; Olaizola vd. 2003).

2016 yılında yapılan bir çalışmada astaksantin market satış fiyatının kilogram başına 2500 ile 7000 dolar (\$/kg) arasında değiştiği bildirilmiştir (Panis ve Carreon 2016).

Su ürünleri yetiştiricilik sektöründe pazarın % 95'lik kısmına kimyasal sentetik formdaki astaksantin sahipken, % 5'lik kısmına alglerden ekstrakte edilen doğal kaynaklı astaksantin sahiptir (Delpech 2001).

Günümüzde astaksantin için gıda, yem, nutrasötik (hastalık riski azaltıcı) ve farmasötik (ilaç geliştirme) uygulamalarında büyük bir talep vardır. Güncel duruma bakıldığında zaman astaksantin pazarında çeşitli markalar altında farklı ticari şekillere rastlanmakta ve bu ürünlerin bazılarının, diğer karotenoidler, multivitaminler, bitkisel özler ve omega-3 ve omega-6 yağ asitleri ile yapıldığı görülmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Çeşitli firmalar ve farklı şekillerdeki ürünleri (Ambati vd. 2014)

Marka Adı	Ürün Formu	Astaksantin İçeriği	Ürün Amacı
Physician Formulas	Yumuşak jel kapsül	2 -4 mg	Antioksidan
KriaXanthin	Yumuşak jel kapsül	1.5 mg	Antioksidan
Astaxanthin Ultra	Yumuşak jel kapsül	4 mg	Kardiyovasküler/sindirim sistemi
Astaxanthin Gold	Yumuşak jel kapsül	4 mg	Göz/eklem/ten/immün sistem
Best Astaxanthin	Yumuşak jel kapsül	6 mg	Hücre zarı/kan dolaşımı
Dr.Mercola	Kapsül	4 mg	Yaşlanma/kas sistemi
Solgar	Yumuşak jel kapsül	5 mg	Cilt sağlığı
Astaxanthin	Krem	Verilmemiş	Yüz nemlendirici
astavita ex	Kapsül	8 mg	Yaşlılık bakımı
astavita SPORT	Kapsül	9 mg	Sporcu gıdası
AstaREAL	Yağ ve toz halde	Verilmemiş	Enerji içeceği/hayvan yemi
AstaTROL	Yağ	Verilmemiş	Kozmetik ürünü
Pure Encapsulations	Kapsül	Verilmemiş	Antioksidan
Zanthin Xp-3	Yumuşak jel kapsül	2- 4 mg	İnsan vücudunu destekleyici
Micro Algae Super Food	Yumuşak jel kapsül	4 mg	Kalp/göz/eklem fonksiyonları
AstaFX	Kapsül	Verilmemiş	Cilt/Kardiyovasküler fonksiyonlar

2.3. Karides İşleme Artıklarının Kurutulmasında Kullanılan Yöntemler

Karides işleme artıkları yüksek oranda nem içerdiği için işleme artıklarında bulunan fazla suyun uzaklaştırılarak, artıkların kurutulması büyük önem taşımaktadır. Karides artıkları gibi farklı biyolojik materyallerin kurutulmasında ‘Geleneksel kurutma yöntemi’, ‘Akışkan yataklı kurutma yöntemi’ ve ‘Dondurarak kurutma yöntemi’ gibi yöntemler kullanılmaktadır.

Bu çalışmada kurutma yöntemi olarak dondurarak kurutma yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan materyalin kurutulmasında kullanılan dondurarak kurutma tüm lezzet ve besin içeriğini sabit bırakarak sadece suyu uzaklaştıran bir yöntemdir. Dondurarak kurutma ısıya duyarlı ürünler için genellikle en iyi kurutma yöntemi olarak kabul edilir (Irzyniec vd. 1995). Dondurarak kurutma suyun üçlü noktasının altındaki sıcaklıklarda çalışılarak dondurulmuş malzemelerin süblimasyonu yoluyla dehidrasyona dayanmaktadır. Suyun üçlü noktası ise suyun üç halinin de aynı anda bir arada bulunduğu noktadır. Suyu belirli basınçta katı, sıvı ve buhar hallerinde bir arada tutmak mümkündür. Suyun 0.006 atm basınçta ve 0.01 °C sıcaklıkta üç halinin de bulunduğu nokta suyun üçlü noktasıdır (Preston-Thomas 1990).

Dondurarak kurutma ile su aktivitesinin düşürülmesi ve bu işlemin düşük sıcaklıklarda gerçekleşmesi nedeniyle bozulma ve mikrobiyolojik reaksiyonların çoğu önlenir. Ayrıca hacmin de en aza indirilmesiyle mükemmel kalitede nihai ürün alınır (Ratti 2001). Laboratuvar kullanımlarında bunun gibi birçok avantaj sağlayan dondurarak kurutma büyük çaplı kurutmalarda yüksek maliyetler gerektirdiğinden tercih edilmemektedir (Mendes-Pinto vd. 2001).

Su aktivitesi değerinin 0.35 aw ve bu değerin altına düşürülmeye çalışılmasının sebebi gıdaların içeriğinde varolan ve 0.35 aw su aktivitesi değeri üzerinde aktif hale geçen pek çok enzimin aktivasyonun önüne geçilmesidir. Eğer engel olunmazsa aktif hale geçen bu enzimler gıdada kalite kayıplarına sebep olmaktadır (Saldamlı 2007).

2.4. Ekstraksiyon Teknolojisi ve Astaksantin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, örnek biyokütlesinde yeralan bir veya daha fazla bileşenin uygun bir çözücü yardımı ile izole edilmesi ya da saflaştırılması işlemidir. Organik kimyada katı-sıvı, sıvı-sıvı ve asit bazlı ekstraksiyonları kullanılır. Katı-sıvı ekstraksiyonu ile birden çok bileşeni olan bir katı hammaddenin bileşenlerinden birinin veya bir kısmının bir çözücü yardımı ile çözdürülerek ayrıştırılması sağlanır. Burada dikkat edilmesi gereken hususlar şunlardır: Çözücü; çıkarılacak olan maddeyi kolayca çözebilmelidir (i); ekstrakte edilecek madde ile reaksiyona girmemelidir (ii); suyla karışmamalı veya suyla karıştırılmamalıdır (iii); düşük bir kaynama noktasına sahip olmalıdır, böylece üründen kolayca ayrılabilir (iv) (Anonim 2).

Karides işleme artıklarında bulunan değerli besinsel maddelerin elde edilmesinde fiziksel ve kimyasal pek çok ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Astaksantin ekstraksiyonunda seçilecek yöntemin uygulanmasında kolaylık, hızlilik, verimlilik olmalı ve yöntem elde edilecek astaksantine zarar vermemelidir. Bu çalışmada önemli ekstraksiyon yöntemlerinden birisi olan ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

2.4.1. Ultrasonik destekli çözgen ekstraksiyonu

Tez çalışmasında, diğer ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha fazla avantaj sağladığı yapılan çalışmalarla desteklenen, ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır. Yapılan bir çalışmada ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniğinin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla yaklaşık 3 kat daha fazla yağ verimi sağladığı bildirilmiştir (Suganya ve Renganathan 2012).

Bu yöntemde organik çözgenlere tabi tutulan karides işleme artıkları daha sonra ultrasonik ses dalgalarına maruz bırakılarak hücre bozunumu meydana getirilmekte ve bileşenlerin salınması sağlanmaktadır (Pico 2013). Ultrasonik ekstraksiyon, ses dalgaları destekli sıvı çözgen ekstraksiyonu olarak da adlandırılır. Bu yöntemde örneğe 20 kHz üstündeki frekanslarla akustik titreşimler uygulanır. Bu titreşimler sıvı içinden geçerken kavitasyon (boşluk oluşumu) meydana getirir. Ultrasonik enerjinin neden olduğu kavitasyon olarak bilinen bu etki çok sayıda ufacık kabarcıklar üretir ve katıların mekanik olarak sarsılmasına neden olarak partiküllerin kopmasını ve kabarcıkların yüksek kayma kuvveti yardımı ile hücre duvarının parçalanmasını sağlamaktadır. Ses dalgaları genellikle analitin iyi geri kazanımıyla sonuçlanan katı ve çözgen arasında etkin bir temas sağlar (Capelo ve Mota 2005).

Ultrason yardımı ile ekstraksiyon, işlem zamanından tasarruf sağlarken verimde bir değişikliğin olmadığı aksine arttığı bir yöntem olarak bilinmektedir. Verimin artmasının, ultrasonik dalgaların oluşturduğu titreşimin hücrelerin bir birine çarpışmalarını sağlaması ile meydana geldiği bilinmektedir (Dos Santos vd. 2015). Genel olarak ultrasonik destekli ekstraksiyon, çalışma sürelerini önemli ölçüde azaltırken, verimi yanında ekstrakt kalitesini de artıran bir ekstraksiyon olarak bilinir (Awad vd. 2012). Yapılan birkaç çalışmada ultrasonik ekstraksiyon ile bitkilerden biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu, tohumlardan yağ ve soyadan protein ekstraksiyonu gibi farklı endüstriyel uygulamalar gözlemlenmiştir. Böylece gıda endüstrisi için ticari önemi olan farklı matrislerde birçok bioaktif bileşen ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilmiştir (Mason vd. 2008; Soria Ve Villamiel 2010). Bunun gibi farklı bileşen eldelerinde kullanılabilmesi, geleneksel ekstraksiyon tekniklerine göre zamandan tasarruf sağlaması ve hedef üründe kimyasal bir etkiye sahip olmaması gibi avantajları nedeniyle ultrasonik destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, süper kritik akışkan ekstraksiyonu, hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu gibi yeni ekstraksiyon yöntemleri popülerlik kazanmaktadır (Menéndez vd. 2014; Topuz vd. 2015; Wang ve Weller 2006).

Ultrasonik ekstraksiyonun yapılan çalışmalardaki avantajları şu şekilde sıralanabilir: ultrasonik dalgalar toksik olmayan, güvenli ve çevre dostudur (i); diğer termal olmayan yöntemlerle kombinasyonu halinde ultrasonikasyon etkili mikrobiyal inaktivasyon araçları olarak kabul edilir (ii); ultrasonikasyon, düşük işletme maliyeti, kullanım kolaylığı ve verimli güç çıkışı içerir (iii), ultrasonikasyon, sofistike makineler ve çok çeşitli teknolojilere ihtiyaç duymaz (iv); ultrasonik kullanımı diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha fazla verim ve ekstraksiyon oranı sağlar (v); ultrasonikasyon, en uygun kıvamlilik (viskozite, homojenizasyon) ve lezzette minimum kayba sebep olurken enerji harcamalarında önemli tasarruflar sağlar (vi); ultrasonikasyon, işleme, çıkarma, emülsifikasyon, koruma, homojenizasyon gibi gıda endüstrisi uygulamalarında büyük alanlar kazanmıştır (vii) (Vercet vd. 2002;

Balachandran vd. 2006; Chouliara vd. 2010; Gallego-Juárez vd. 2010; Chemat vd. 2011; Kentish ve Ashokkumar 2011).

Gıda endüstrisinde ultrasonik dalga uygulaması, düşük yoğunluklu yüksek frekanslı ($f > 100$ kHz) ve yüksek yoğunluklu düşük frekanslı ($20 \text{ kHz} \leq f \leq 100 \text{ kHz}$) olmak üzere iki farklı kategoride yapılagelmektedir. Düşük yoğunluklu ultrasonik dalga, ultrasonik dalganın yayıldığı malzemenin fiziksel veya kimyasal özelliklerini değiştirmez. Yüksek yoğunluklu şok dalgası, materyal içindeki ultrasonik etkilerin çoğunu kavitasyon kabarcıkları oluşturması yüzünden aşırı basınç ve sıcaklık değişimleri meydana getirerek fiziksel, kimyasal ve mekanik etkiler yaratmaktadır (Plaza vd. 2012).

Ekstraksiyon işleminin verimine ve ekstraktların kalitesine etki eden faktörler üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (Ma vd. 2008, Maran vd. 2017). Bu faktörler başlıca; ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, çözgen tipi ve biyokütle:çözgen oranı şeklinde sınıflandırılmıştır. Bunun dışında ekstraksiyon verimini etkileyen diğer parametreler; sonikasyon zamanı, örnek partikül boyutu, örnek miktarı ve kullanılan cihazdır.

Sıcaklık ısıya duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonunda önemli bir faktördür. Sıcaklığın artırılması ile birlikte nesnel bileşenlerdeki ayrışma çözücü difüzyon hızı ve kütle transfer yoğunlaşması ile sonuçlanır. Bu durum ekstraksiyon verimini artırmaktadır. Bu arada kirliliklerin çözünmesi de artabilir ve bazı termal kararsız bileşenler ayrışabilir (Dong vd. 2010). *Rhodobacter* sp. içeriğindeki karotenoitlerin ultrases destekli ekstraksiyonunda 10 ile 30 °C'ler arasında sıcaklık artışının ekstraksiyon verimini artırdığını, 30-50 °C arasındaki sıcaklıklarda verimin azaldığını ve 50 °C ve üzerinde sıcaklıklarda da ekstraksiyon veriminin 10 °C'dekinin altında olduğunu saptamışlardır (Kaur vd. 2008).

Ekstraksiyon işleminin süresi 2 dakika ile 8 saate varan sürelerde değişirken sürenin uzunluğunu ekstraksiyon yöntemi, kullanılan materyalin partikül büyüklüğü ve materyalin nem içeriği gibi faktörler belirlemektedir. Genel olarak, ekstraksiyon süresi ekstraksiyon verimini etkileyebilir. Ekstraksiyonun ilk başlarında önce hücrelerin içinde ve dışında bulunan nesnel bileşenler için bir denge noktasına kadar ekstraksiyon verimi zamanla artarken denge noktasına ulaşıldıktan sonra sonra artmaz (Dong vd. 2010). Yine farklı bir çalışmada ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstraksiyon verimi belli bir noktaya kadar artıp sonra sabit kaldığı bildirilmiştir (Suganya ve Renganathan 2012).

Belirli miktardaki bir katının ekstraksiyonunda çözücü miktarını artırmak yani katı/sıvı oranını azaltmak, ekstraksiyon verimini artırmakta ve çözünebilen tüm maddelerin çözeltiye geçmesini sağlamaktadır. Ancak ekstraksiyon sonucu elde edilen çok seyreltik çözeltinin evaporasyonla konsantre edilmesi sırasında çok fazla enerji harcanması bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bir dizi biyokütle:çözgen oranı (1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30 g/mL) , optimum bir değer elde etmek için kullanılır. Genel olarak, daha büyük miktarlarda kullanılan çözgen değerleri verimliliği pozitif olarak etkilese de ekonomik olmaması ve gereksiz yan ürünlerin oluşabilmesi ihtimalinin artması sebebiyle istenmez. Mikroalglerle yapılan bir çalışmada biyokütle:çözgen oranının 1:10'a kadar etkisiz kaldığı 1:10'dan büyük oranlarda ise verimi azalttığı tespit edilmiştir (Wang vd. 2016).

2.4.2. Ekstraksiyonda kullanılan çözen maddeler

Karotenoidler yağda çözünebilen bir pigment grubudur. Bu yüzden bu bileşenlerin ekstraksiyonunda genel olarak eter (Rios vd. 2013), etanol (Wang ve Wang 2012), izopropil alkol (Yao vd. 2012), kloroform, aseton ve metil alkol (Pragya vd. 2013) gibi farklı özellikte organik çözücüler kullanılmaktadır. Genel olarak ekstraksiyon çözücüsü seçilirken, kaynama noktası, polarite, özgül yoğunluk (numune matrisine nüfuzu etkiler) ve ayrıca toksisite (işyeri tehlikesi oluşturur) gibi fizikokimyasal özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Uygun bir ekstraksiyon çözücüsünün seçimi, ekstraksiyon yönteminin geliştirilmesindeki ilk zorluktur. Ekstraksiyon güçlü bazlar ve asitler haricinde çeşitli çözenler ile gerçekleştirilebilir. Metanol, su, tolüen, diklorometan, etil asetat ve asetonitril gibi birçok çözücü, gıda ve yem örneklerinin hazırlanması için ekstraksiyonda kullanılmıştır (Sun vd. 2012).

Çözen özelliklerinin şu şekilde olması gerektiği bildirilmiştir: ekstrakte edilen katıdan ve ekstrakte edilen çözücünden (çözünen+çözücü) kolayca ayrılabilmesi (i), temini kolay olmalı (ii), kaynama noktası düşük olmalı (iii) ve ekonomik olmalı (iv) (Anonim 2).

Ayrıca seçilen çözen, materyalin özelliğine uygun çözme gücünde olmalıdır. Çözücünün çözme gücü ve çözücünün materyale difüze olabilme gücü ile çözücünün sahip olduğu polarite, çözücünün tabiatı hakkında bilgi verir. Seçilen çözenin çeşitli kimyasal özellikleri ve polaritesi antioksidan kapasitesini doğrudan etkiler ve bu da ekstraktları çözünür ya da çözünemez hale getirir (Metrouh-Amira vd. 2015). Çizelge 2.4.'de bu projede kullanılan çözenlerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir (Reichardt ve Welton 2010). Biyokütlenin yapısına bağlı olarak mevcut biyoaktif yapı değişiklik gösterdiği için tek tek her tür için uygun çözücü seçilmesi mümkün olmamaktadır (Dira vd. 2016).

Çizelge 2.4. Ekstraksiyonda kullanılan çözenlere ait bazı kimyasal özellikleri (José ve Broekaert 2015; Reichardt ve Welton 2011)

Çözen Adı	Yoğunluk (g/ml)	Kaynama Noktası (°C)	Parlama Noktası (°C)	Viskozite (cp, 20°C)	Dielektrik sabiti (20°C)	Polarite indeksi
Aseton	0.791	56.2	-17	0.32	20.7	5.1
Dietil Eter	0.71	34.6	71	---	---	2.8
Ethanol	0.79	78.37	16	1.10	24.55	4.6
Hekzan	0.659	68	-22	0.31	1.89	0.1
İsopropil Alkol	0.775	82.6	11	---	---	3.92
Kloroform	1.492	61.2	---	0.58	4.81	2.7
Methanol	0.791	64.7	11	0.55	32.69	5.1

2.5. Cevap Yüzey Metodu ve Optimizasyon

Bu çalışmada Cevap yüzey metodu (Response surface methodology; RSM) Box Behnken's deneme deseni kullanılarak karides işleme artıklarında bulunan astaksantin en verimli şekilde ekstrakte edilmesi sağlanmıştır. İlk olarak 1951'de Box ve Wilson tarafından geliştirilen cevap yüzey metodu yine ilk olarak kimya endüstrisine uygulanmıştır. RSM, teorik optimizasyonun deneysel çalışma alanıyla matematik olarak uyduğu bir optimizasyon yaklaşımıdır. Bu deneysel yöntemle matematik modelleme bile oluşturulabilmektedir (Wang vd. 2008). Cevap yüzey metodu (RSM), süreçleri optimize etmek, geliştirmek ve iyileştirmek için faydalı istatistiksel ve matematiksel teknikler koleksiyonudur. RSM'nin endüstriye yönelik dünyadaki en kapsamlı uygulamaları; özellikle bazı girdi değişkenlerinin potansiyel olarak performans ölçülerini veya ürünün veya sürecin kalite özelliklerini etkilediği durumlardır. Çoğu RSM uygulaması doğada ardardadır. Öncelikle çalışmada cevap yüzeyinde hangi faktörlerin veya değişkenlerin önemli olabileceği ile ilgili fikirler üretilir. Bu genellikle önemsiz olanlarını elimine ederek bu faktörleri araştırmak için tasarlanmış bir denemeye yol açar. Bu deneme türü genellikle tarama deneyi olarak adlandırılır. Genellikle bir cevap yüzey çalışmasının başlangıcında cevabın açıklanmasında önemli olabilecek uzun bir değişken listesi vardır. Faktör taramasında amaç aday değişkenlerin listesini göreceli olarak azaltarak sonraki deneylerin daha az çalışma veya test ile daha verimli hale getirmektir (Myers vd. 1995).

Cevap yüzey yöntemleri genellikle şu adımları içerir; Deneycinin mevcut koşullardan cevabın optimum koşullara yaklaştığı çalışma koşullarına ulaşabilmesi için eleme denemeleri yapmak (i), eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin maksimum ve minimum cevaplarının en iyi çalışma koşullarına olan yakınlığının tespiti (ii) ve elde edilen uygun modele göre optimizasyon sağlanmasıdır (iii). Bir takım cevapların aynı zamanda optimize edilmesi gerekebilir. Tüm cevaplar için en uygun değerleri veren dengeli bir ayar bulunmalıdır (Anonymous 2, Koç ve Ertekin 2010). Optimum değerlere yaklaşıldığında cevap yüzeyindeki eğrilik daha belirgin hale geleceğinden eğriliğin tahminlenebilmesinde ikince dereceden polinomial modeller kullanılır. Gıda sektörüyle ilgili yapılan çalışmalarda CCD (Central composite circumscribed Dizayn (Merkezi Tümleşik Sınırlı Tasarım)), CCRD (Central Composite Rotatable Tasarım) ve BBD (Box-Behnken Dizayn) modelleri kullanılmaktadır. Denemelerin dizaynı, model geliştirilmesi (regresyon analizi), varyans analizi (ANOVA) ve optimizasyon RSM'in başlıca kısımlarını oluşturmaktadır (Koç ve Ertekin 2010; Eren 2004).

Proses optimizasyonu sistemin performansını veya ürünün kalite ölçütlerini belirleyen yeterli sayıda cevapla eş zamanlı olarak çalışılan bir süreçtir. Bu cevapların bazıları artırılırken bazılarının da minimum seviyede tutulması gerekebilir. Bazı cevapların yine bu süreçte hedeflenen değerler veya kabul edilebilir değerlerde olması istenebilir. Dolayısıyla bir cevabın geliştirilmesi diğer bir cevap üzerinde olumsuz bir

etkiye yol açabilir. Bu yüzden, proses optimizasyonunda bütün cevapların birlikte ele alınması gerekmektedir. Optimizasyon sürecinde; lineer olmayan programlama yaklaşımı, yanıtların izohips eğrileri çizilerek üst üste yerleştirilmesi (superimposing) ve desirability (istenilen hedefe ulaşma, arzu edilebilirlik) fonksiyonu vb. çözümlemeler kullanılmaktadır. Arzu Edilebilirlik Fonksiyonu, araştırmacının optimizasyondaki cevaplar üzerinden önceliklerini ve hedeflerini Arzu Edilebilirlik Fonksiyonları oluşturarak optimizasyon işlemine dahil etmesini sağlamaktadır. Arzu Edilebilirlik Fonksiyonu, tüm yanıtların bir araya getirildiği, 0 ile 1 arasında değişen tek bir cevap indeksidir ve bu değerin 1'e yaklaşması araştırmacının belirlediği kriterlerin sağlandığını belirtmektedir (Koç ve Ertekin 2010).

Bileşiminde bulunan yüksek orandaki yağ ve yağ biyoaktif bileşenleri bakımından önemli bir gıda maddesi olan fındık yağı ekstraksiyonu adlı Tunç vd. (2014) çalışmasında, farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde heterosiklik hoş kokulu aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında optimum tuz, askorbik asit ve yağ kullanım seviyelerinin belirlenmesi adlı Dündar (2011) çalışmasında, ülkemizde kavak, kayın ve ıstiridye mantarı olarak bilinen *Pleurotus ostreatus*'tan mantar tozu üretiminde kurutma işleminin optimizasyonu adlı Doğan vd. (2015) çalışmasında ve altın çilek çeşnili zeytinyağı üretiminde işlem koşullarının kalite parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesi ve optimizasyonu adlı Dalgıç vd. (2016) çalışması gibi ülkemizde yapılan çalışmalar ile buğday ekmeğinde yulaf tanecığı büyüklüğünün ve un ikamesinin optimize edilmesi adlı Marcin vd. (2016) çalışmasında, puf böreklerinin yağının azaltılmasının optimizasyonu adlı Silow vd. (2017) çalışmasında ve sosislerin besinsel ve dokusal özellikleri üzerine brisket yağı, soya yağı izolatu ve kornişonun etkilerinin incelenmesi adlı Wambui vd. (2017) çalışması gibi yurtdışında yapılan çalışmalarda cevap yüzey yöntemi kullanılarak sonuç elde edilmeye çalışılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Projede kullanılan kırmızı karides (*Aristaeomorpha foliacea*) Antalya Balık Halinden temin edilmiştir (Şekil 3.1). Karidesler yaprak buz ile yeterli ölçüde kaplanarak yaklaşık yarım saat uzaklıktaki Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarına soğuk zincir uygulanarak getirilmiştir.



Şekil 3.1. Antalya Balık Hali.

Laboratuvara getirilerek saf su ile temizlenen karideslere baş alma ve kabuk çıkarma işlemi uygulanmıştır. Baş ve kabuklardan oluşan artık kısımlar tekrar saf su ile yıkanmıştır (Şekil 3.2).



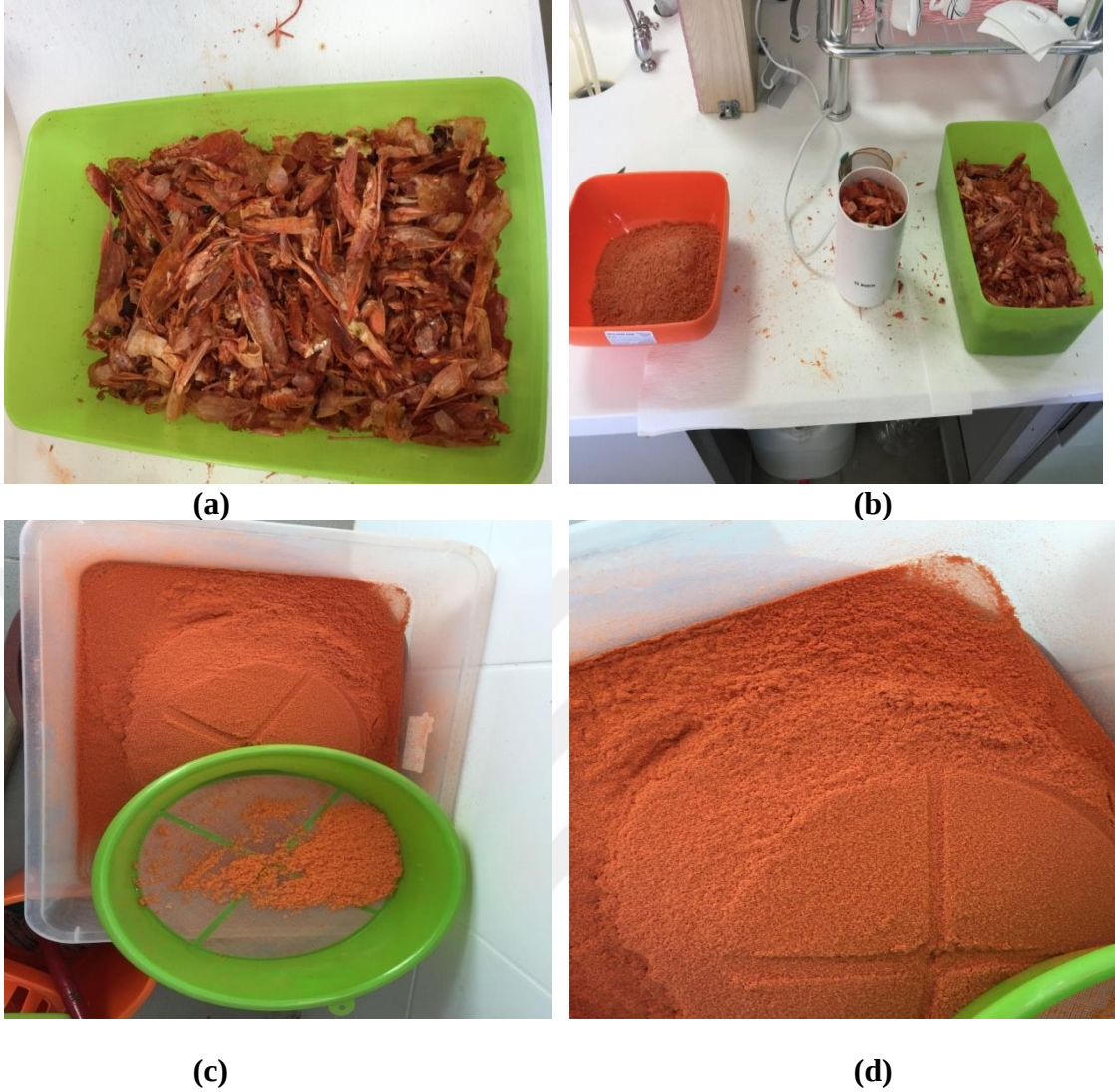
Şekil 3.2. Karides İşleme Artıkları

Yıkamanın ardından yıkama suyunun süzülmesi sağlanarak analize kadar -80 °C'deki derin dondurucuya alınmıştır. Daha sonra -80 °C'de dondurulan karides işleme artıkları, 500 ml'lik balonlara aktararak dondurarak kurutucu (Telstar, Lyoquest -55, İspanya) yardımı ile su aktivitesi değeri a_w : 0.35'in altına ininceye kadar kurutulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Dondurarak kurutucuda karides işleme artıklarının kurutulması

Su aktivitesi ölçüm cihazı (Aqualab 4) kullanılarak su aktivitesi değeri uygunluğu ölçülen kurutulmuş karides işleme artıkları, laboratuvar tipi öğütücü (Bosch MKM6000) yardımı ile öğütülmüştür. Öğütülmüş karides işleme artıkları delik çapı 2 mm olan elek yardımı ile standardize edildikten sonra tüm denemeler için homojenliği sağlamak üzere harmanlanmış ve ekstraksiyon işlemine kadar -80 °C derecede ultra derin dondurucu (Dairei Europe, ULTF -80) içerisinde muhafaza edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. a) Kurutulmuş karides; b) Öğütme; c) Eleme (Standardizasyon); d) Homojenizasyon

3.2. Metot

Kırmızı karides artıklarından astaksantin ekstraksiyonları Cevap Yüzey Metodu Box-Benken (Box ve Behnken 1960) deneme desenine göre yapılmıştır. Bu çalışmada üç bağımsız değişkenli Box-Behnken deneme deseni kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler biyokütle:çözgen oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Ön denemeler ve literatür çalışması sonucu astaksantin ekstraksiyonu için biyokütle (karides artığı):çözgen oranı (1:10, 1:20 ve 1:30 g/ml), ekstraksiyon sıcaklığı (30, 50 ve 70 °C) ve ekstraksiyon süresi (30, 60 ve 90 dakika) kritik ekstraksiyon parametreleri olarak 3 bağımsız değişken bulunmuştur. Birbirinden bağımsız üç değişkenin çalışılmasıyla (12+3) onbeş deneyden oluşan deneme deseni elde edilmiştir. Uygulanan çalışmaya ait deneme desenindeki koşullar Çizelge 3.1’de verilmiştir. Deneme desenindeki koşullara göre optimum şartları belirlemek için çözgen olarak hekzan kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kırmızı karides işleme artıklarından ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait Cevap Yüzey Metodu Box-Behnken deneme deseni

Deneme (A)	Max-Min nok.			X_1 (°C)	X_2 (dk)	X_3 (g/ml)
A_1	0	-1	+1	50	30	30
A_2	-1	-1	0	30	30	20
A_3	0	0	0	50	60	20
A_4	0	0	0	50	60	20
A_5	+1	0	-1	70	60	10
A_6	0	0	-1	50	90	10
A_7	-1	0	0	30	90	20
A_8	-1	0	+1	30	60	30
A_9	+1	0	0	70	90	20
A_{10}	0	-1	-1	50	30	10
A_{11}	+1	-1	0	70	30	20
A_{12}	-1	0	-1	30	60	10
A_{13}	+1	0	+1	70	60	30
A_{14}	0	0	0	50	60	20
A_{15}	0	+1	+1	50	90	30

X_1 :ekstraksiyon sıcaklığı °C, X_2 :ekstraksiyon süresi (dakika), X_3 :karides artığı/çözgen oranı (gram/ml)

Karides işleme artıklarından 500 ml’lik balonlar içerisine Cevap Yüzey Metodu Box-Behnken deneme deseninde belirtilen miktarlara göre (15 adet farklı ve iki paralelli olmak üzere) konulmuş ve üzerlerine deneme deseninde belirtilen oranlarda hekzan eklenip ultrasonik banyo yardımı ile ekstraksiyon yapılmıştır (Şekil 3.5).



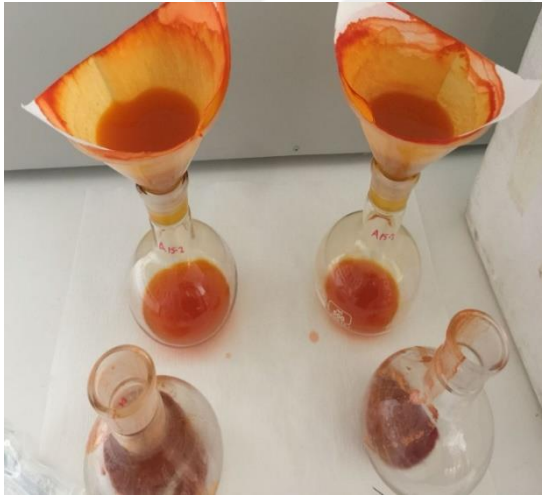
(a)



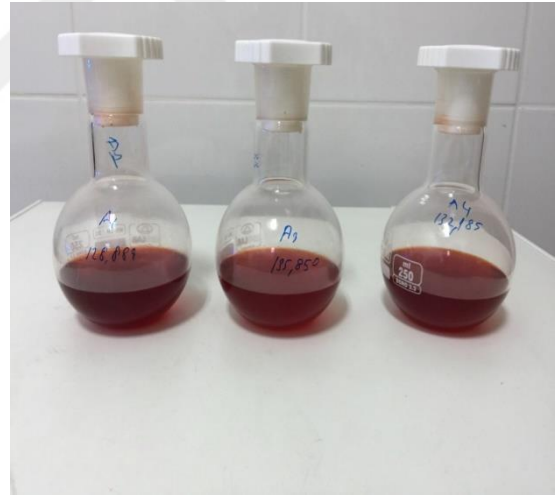
(b)

Şekil 3.5. a) Ekstraksiyon öncesi çözgen+karides işleme artığı karışımı; **b)** Ultrasonik destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon sonrası çözelti kaba filtre kâğıdından geçirilerek süzölmüştür (Şekil 3.6).



(a)



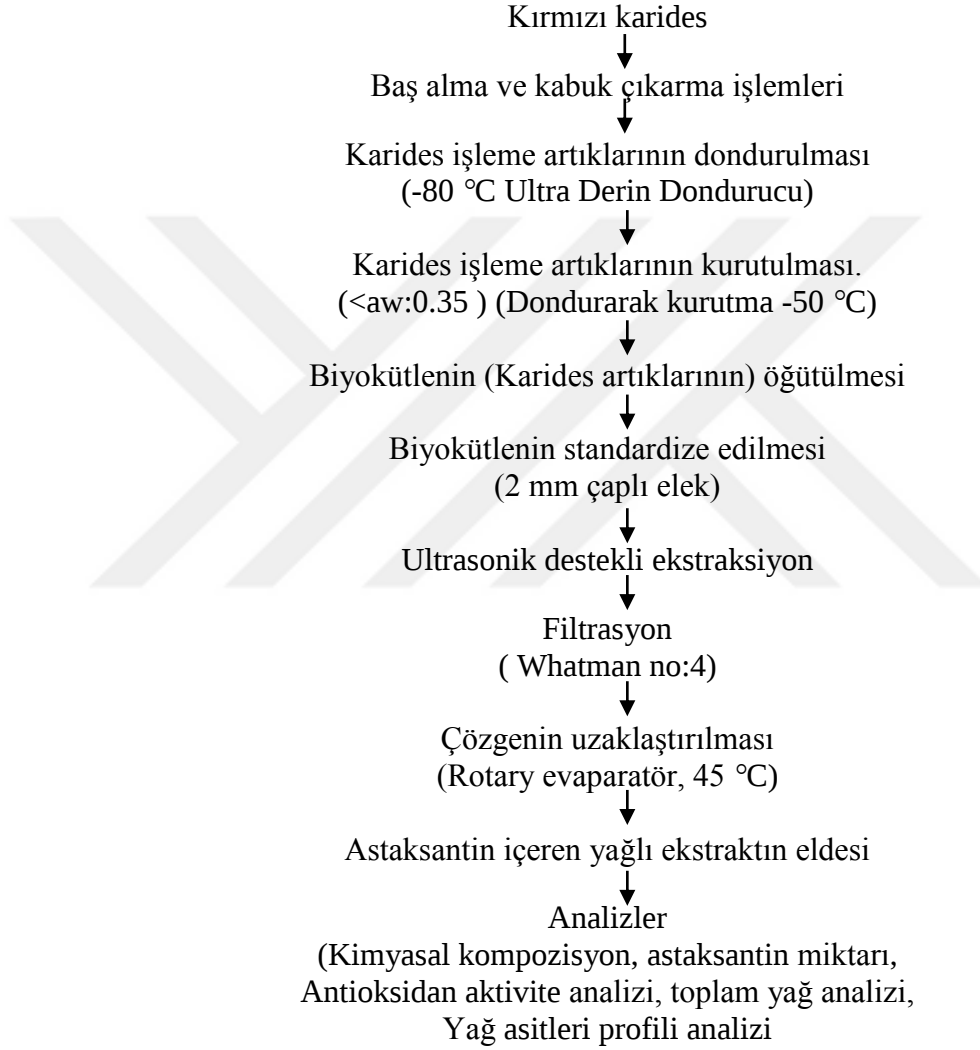
(b)

Şekil 3.6. a) Kaba filtre kağıdı ile filtrasyon; **b)** Ekstraksiyon sonrası çözgen +astaksantin içerikli ekstrakt

Elde edilen ekstraktların çözgenleri (hekzan) rotary evaporatör yardımı ile 45 °C'de uçurulmuştur. Deneme deseninde belirtilen koşullarda hekzan ile yapılan ekstraksiyonlar sonucu elde edilen ekstraktların astaksantin miktarı ve antioksidan aktiviteleri saptandıktan sonra elde edilen sonuçlar bilgisayar programına (Design expert 9.1) aktarılmıştır. Design expert programı yardımı ile optimum koşullar (optimum sıcaklık, süre ve biyokütle:çözgen oranı) belirlenmiştir.

Bundan sonraki aşamada dondurarak kurutulmuş karides işleme artıkları tespit edilen optimum koşullara göre aseton, etanol, hekzan, isopropil alkol, kloroform ve metanol olmak üzere 6 farklı çözen vasıtası ile ekstrakte edilmiş ve bu çözenlerin optimum koşullar altında ekstraksiyon verimine ve astaksantin kalitesine etkileri hesaplanmıştır.

Çalışmaya ait iş akış diyagramı Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Astaksantin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait iş akış şeması

3.3. Analizler

3.3.1 Karides artık miktarı analizi (KAM)

Farklı boy ve ağırlıktaki temin edilen kırmızı karideslerin ilk olarak toplam ağırlığı (kg) tespit edilmiştir. Baş alma ve kabuk çıkarma işlemine tabi tutulduktan sonra elde edilen karides işleme artıkları (A) ve et kısmı (B) ayrı ayrı tartılmıştır. Elde edilen artık miktarını (kg), toplam elde edilen karides eti miktarına (kg) oranlayarak yüzdesini hesaplamak suretiyle yüzde artık miktarı aşağıdaki formüle göre tespit edilmiştir.

$$KAM = \left(\frac{A}{B}\right) \times 100 \quad (3.1)$$

3.3.2. Kimyasal kompozisyon analizi

Karides işleme artıklarıyla kimyasal kompozisyon analizleri toplam kurumadde ve kül miktarı Helrich (1990)'in belirttiği yöntemle göre yapılmıştır.

3.3.2.1. Toplam kurumadde analizi

Temiz cam petri kapları 105 °C'de ısıtılmış etüvde 30 dakika kadar bekletildikten sonra soğutulmak üzere desikatöre alınıp ardından kapların darası ölçülmüştür (X). Kurutulup öğütülerek kapalı bir kaptan -80 °C'de saklanan karides işleme artıklarından yaklaşık 2 g alınarak petri kaplarına tartılmıştır (X1). Örneklerin tartıldığı bu petriler sıcaklığı 100 °C'ye ayarlanmış etüvde yaklaşık 8 saat tutulduktan sonra ağırlıkları desikatör ile sabit tartıma getirildikten sonra tartımları yapılmıştır (X2). Sonuçta örneklerin kurumadde miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$Toplam\ Kuru\ Madde = \left[\frac{X2 - X}{X1 - X}\right] \times 100 \quad (3.2)$$

$$\%Nem = 100 - Kuru\ Madde$$

3.3.2.2. İnorganik madde analizi

Boş krozeler 550-590 °C'de kül fırınında 30 dakika kadar bekletilip ardından desikatöre alınarak sabit tartıma getirilmiştir (X1). Her bir krozenin içerisine yaklaşık 2 g kadar kurutulup öğütülmüş örnekten konularak tekrar tartımı yapılmıştır (X2). 550 °C'de ayarlı kül fırınında beyaz kül oluşuncaya kadar, yaklaşık 8 saat bekletilerek ardından desikatöre alınmıştır (X3). Krozelerdeki örneklerin kül içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\%Kül = [(X3 - X1)/(X2 - X1)] \times 100 \quad (3.3)$$

3.3.2.3. Toplam yağ analizi

Kurutulmuş karides işleme artıklarından ekstrakte edilen toplam yağın miktarı Bligh ve Dyer (1959)'in belirttiği yöntemle göre hesaplanmıştır. Öncelikle 600 ml cam beherlere yaklaşık 40 g örnek tartılarak içine 100 ml metanol ve 50 ml kloroform eklenip ultratoraks (İka T25 digital Ultra Turrax) ile parçalama işlemi yapılmıştır. Ardından üzerine 50 ml kloroform ve 50 ml saf su eklenerek ultratoraks işlemine devam edilmiştir.



Şekil 3.8. a) Ayırma hunisi ile süzme; b) Faz ayrımının gerçekleşmesi

Ultratoraks yardımı ile homojenize hale getirilen çözgen ve biyokütle karışımı ekstrakt filtre edilmek üzere ayırma hunisine alınmıştır (Şekil 3.8.a). Faz ayrımının gerçekleşmesine müteakip alt faz, darası alınan 500 ml'lik balonlara alınarak (Şekil 3.8.b) çözgenleri 50 °C'de uçurulmak üzere Rotary evaporatör işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra azotla uçurma yapılan ekstraktın bulunduğu balonlar 60 C'de yarım saat etüv de bekletilip desikatöre alınmıştır. Sonuç tartımı yapılan ekstraktın yağ miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Yağ(\%)} = \frac{[(\text{balon darası} + \text{yağ}) - \text{balon darası}]}{[\text{örnek miktarı} \times 100]} \quad (3.4)$$

3.3.3. Ekstrakt veriminin hesaplanması

0.35 aw su aktivitesi değeri baz alınarak, önceden darası alınmış balonlara alınan karides işleme artıklarının tartımı yapılmış ardından farklı çözgenlerle (etanol, metanol, isopropil alkol, aseton, kloroform, hekzan) ultrasonik ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyonlar sonucunda elde edilen yağlı ekstraktların verimleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% Ekstrakt Verimi = \left[\frac{X_2 - X_1}{X} \right] * 100 \quad (3.5)$$

X₁ : Sabit tartıma getirilmiş balon ağırlığı (g)

X₂ : Balonda tartımı yapılan örnek ağırlığı (g)

X : Elde edilen astaksantin içeren yağlı ekstrakt ağırlığı (g)

3.3.4. Yağ asitleri kompozisyon analizi

Bligh ve Dyer (1959)'in yöntemine göre elde edilen lipidin yağ asitleri metil esterifikasyonunda; elde edilen yağdan alınan 2-3 damla üzerine, metanolle tamamlanarak elde edilen 2M KOH çözeltisinden 4 ml ve 2 ml heptan çözgeninden eklenmesine dayalı yöntem kullanılmıştır (Özogul ve Özogul 2007; Ichihara vd. 1996). Daha sonra 2 dk boyunca vortekslenen metillendirilmiş ekstrakt 4000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj (Hettich® Universal 320/320R centrifuge) edilerek elde edilen üst faz viallere alınarak kromatogram için kullanılmıştır.

Yağ asitleri profili, gaz kromatografisi cihazı (GC, Perkin Labor, Clarus 500) ile belirlenmiştir. Kolon olarak BPx70 silika kolon (50 m x 0.22 mm, film kalınlığı 0.25µm; SGE Inc., Victoria, Avustralya) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazının akış hızı 1 ml/dk akış hızında olup dedektör olarak alev iyonizasyon dedektörü kullanılmıştır. Örnekler GC'ye enjektör yardımı ile 2.5 µL olarak enjekte edilmiştir. GC'nin analize dair fırın sıcaklık değerleri 140 °C'de 5 dk ile başlayacak, 4 °C/dk artışla 200 °C'ye ulaşacak ve beklemeden 1 °C/dk artışla 220 °C'de son bulacak şekildedir. Analiz süresince dedektör sıcaklığı 280 °C, enjeksiyon portunun sıcaklığı ise 220 °C olacak şekilde çalışılmıştır.

Yağ asitleri metil esterlerinin standartlarına ait çıkış zamanlarının elde edilen çıkış zamanları ile kıyaslaması sonucu örneklerdeki yağ asitleri tanımlanmıştır. Sonuçlar % gaz kromatografisi alanı olarak verilmiştir.

3.3.5. Antioksidan aktivite analizi

Troloks eşiti antioksidan kapasite yöntemi ilk defa Miller vd. (1993) tarafından uygulanmış olup sonrasında Re vd. (1993) tarafından da geliştirmeye tabi tutulmuştur. Bu çalışmada karides artıklarından ekstrakte edilen astaksantin antioksidan aktivitesi Re vd. (1993)'de belirtilen yöntemle göre spektrofotometre (Thermo Scientific Evolution 160 UV-VIS) ile 734 nm'de yapılırken farklı olarak yöntemde trolox yerine BHT kullanılmıştır. Yöntem; 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyonunun referans antioksidanlar ile ekstrakte edilen antioksidanlar tarafından absorbanasının engellenmesinin veya toplam radikal süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması temeline dayanmaktadır. Sonuçlar BHT-trolox eşitliğinin sağlanarak gram örnek başına Troloks eşdeğer antioksidan kapasite cinsinden okunmaktadır (TEAC/mg). ABTS radikal katyonu (ABTS.+), 5mg ABTS tabletleri 2,45 mM Potasyum persülfat çözeltisi ile reaksiyona sokulup 12 ile 16 saat arasında oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek oluşturulmuştur.

Sonuçta elde edilen verilerle çizilen, karides işleme artıkları ekstraktlarına ait eğimin BHT konsantrasyonlarına ait eğime oranlaması sonucu incelenen antioksidan maddenin 1 μ M trolox karşılığı olarak gösterdiği antioksidan aktivitesi trolox-BHT eşitliği de sağlanarak belirlenmiştir.

(Örneğe ait eğim / troloxa ait eğim) x seyreltme faktörü = TEAC değeri μ M troloxTEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

3.3.6. Astaksantin analizi

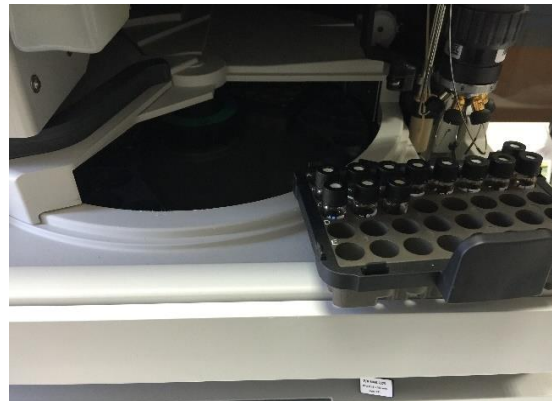
Aristaeomorpha foliacea karidesi işleme artıklarındaki astaksantin miktarı HPLC (High Performance Liquid Chromatography) yöntemi ile belirlenmiştir (Gimeno vd. 2007).

Astaksantin miktarının HPLC’de okunmasında öncelikle kalibrasyon grafiğinin oluşturulması için standart stok astaksantin çözeltisi metanol ile 5 farklı derişimde (5, 10, 25, 50 ve 100 ppm olmak üzere) hazırlanmıştır. Üçer kez tekrarlanan denemeler sonucunda standartların kromatografıta tutunma zamanları tam olarak tespit edildikten sonra kalibrasyon grafiğı çizilmiş ve buna göre de ultrasonik ekstraksiyona tabi tutularak elde edilen karides işleme artıkları ekstraktlarının astaksantin miktarlarının okunmasına geçilmiştir. Instrument metot olarak enjeksiyon süresi (injection time) 6 dakika kullanılmış, enjeksiyon miktarı ise 20 μ L olarak belirlenmiştir. Mobil faz olarak ultra saf su; methanol; dichloromethane; acetonitrile (4.5;28;22;45.5 v;v;v) kullanılırken akış hızı olarak ta 1.75 ml/dk belirlenmiştir (Lorenz ve Cysewski 2000; Yuan ve Chen 1998).

Aristaeomorpha foliacea karidesi işleme artıkları ultrasonik ekstraksiyona tabi tutularak, elde edilen ekstraktlardan 15 ml tüpler içerisine 0.5 g tartılıp üzerine 1:10 (g/ml) oranını sağlayacak şekilde 5 ml mobil faz eklenmiştir. Ardından kısa bir süre ultrasonik banyoda da tutularak çözündürölmesi sağlanan ekstrakt 0,45 μ m membran filtreden (şekil 3.9.a) (Sartorius NY) süzölerek HPLC viallerine alınmış ve bu vialler HPLC cihazında otomatik örnekleyci kısmına yerleştirilmişlerdir (şekil 3.9.b).



(a)



(b)

Şekil 3.9. a) Ekstraktların filtrasyonu (0.45 μ m membran filtre); **b)** Viallerin oto örnekleyciye yerleştirilmesi

Belirlenen metoda göre 2 tekrarlı ve 3 farklı zamanda okumalar yapılmıştır. Örneklerdeki astaksantin miktarı $\mu\text{g/L}$ (ppm) cinsinden belirlenmiştir.

3.3.7. Renk ölçümü

Aristaeomorpha foliacea karidesi işleme artıklarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların renk ölçümleri Konika Minolta, CR-400 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümleri (L , a , b) iki tekerrürlü olarak yapılmıştır. Buradaki L değeri parlaklığı (beyazlık veya açıklık koyuluk); a değeri kırmızı ve yeşil; b değeri sarı ve mavi renkleri temsil etmektedir.

3.3.8. İstatiksel analizler

Design Expert 10.0.1.0 (Stat-Ease Inc. Minneapolis, ABD) kullanılarak optimizasyon sağlanırken, SAS 9.4 (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) programı kullanılarak varyans analizi gerçekleştirilmiş ve önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) İşleme Artık Miktarı

Çalışmada kullanılan *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin işleme artık miktarı çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin işleme artık miktarı (%)

Toplam Atık	Oran (%)
<i>Kabuk + Baş</i>	51.54± 1.53
<i>Et</i>	48.46± 0.46

± Standart sapmayı göstermektedir, n=3

Araştırma sonucunda, *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin toplam artık miktarı % 51.54 olarak bulunmuştur. Et miktarı ise % 48.46 olarak tespit edilmiştir. *Aristaeomorpha foliacea* karidesinin artık verimi ile ilgili yapılan bir başka çalışmada toplam artık miktarı % 63.73 ve toplam et miktarı da % 36.27 olarak bildirilmiştir (Küçükgülmez A., 2011).

Hindistan’da yapılan bir çalışmada toplam işlenen karideslerin artık miktarlarının % 48 ile % 56 arasında değiştiği bildirilmiştir (Sachindra vd. 2006). Gildberg ve Stenberg (2001) tarafından, Norveçte işlenen karideslere dair artık miktarı % 40 civarında olduğu bildirilmiş; Naznin (2005) tarafından ise avlanan karideslerin % 40-45’inin artık olarak ayrıldığı bildirilmiştir. İbrahim vd. (1999) tarafından karidesin % 45’inin kabuk ve baştan oluştuğu; Binsan ve ark. (2008a) tarafından da karideslerin % 49’unun artık olduğu bildirilmiş olup mevcut çalışma sonuçlarına göre daha yüksek değerde ve-veya az miktarda artık miktarına ulaşılmasının genel sebebinin seçilen karides türünden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) Artıklarının Kimyasal Kompozisyonu

Çalışmada kullanılan *Aristaeomorpha foliacea* karidesine ait yağ, kuru madde, mineral madde (kül) ve nem miktarı Çizelge 4.2’de belirtilmiştir. Su aktivitesi değeri, 0.32 aw değerine kadar kurutulan karides işleme artığının nem içeriği % 76.68 seviyesinden ortalama % 6.01±0.8 seviyelerine kadar azalma göstermiştir. *Aristaeomorpha foliacea* karidesi artıklarına dair bir kompozisyon çalışmasına rastlanmasa da etine dair yapılan bir çalışmada nem içeriği= 76.2±0.3 g/100 g; protein içeriği= 19.9±0.3 g/100 g; yağ içeriği= 0.7±0.1 g/100 g; kül içeriği= 2.1±0.1 g/100 g; karbonhidrat içeriği= 1.1±0.1 g/100 g olarak bulunmuştur (Bono vd. 2012).

Çizelge 4.2. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) artıklarının kimyasal kompozisyonu

Örnek*	Analizler			
	Nem	Kurumadde	Yağ	Kül
<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	(g/100 g)	(g/100 g)	(g/100 g)	(g/100 g)
	76.68±1.95	23.32±1.95	1.77±0.05	5.56±0.19

*Hesaplamalar kurumadde üzerinden yapılmıştır.

4.3. Ekstrakt Veriminin Hesaplanması

Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) artıklarının farklı polaritedeki çözügenlerle ultrasonik ekstraksiyona tutularak elde edilen yağ verimleri açısından etanol (8.77±0.74) ilk sırayı almıştır.

Çizelge 4.3. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) artıklarının farklı çözügenlerle yapılan ekstraksiyonlarının % Ekstrakt Verimleri

<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	Hekzan	Kloroform	İsopropil Alkol	Ethanol	Methanol	Aseton
*% Ekstrakt Verimi	8.67±0.95	8.32±0.87	8.47±1.10	8.77±0.74	8.54±0.88	8.30±1.25

*Astaksantin içeren yağlı ekstrakt.

4.4. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) Artıklarının Yağ Asitleri İçeriği

Karides artıklarından elde edilen yağlı ekstraktın yağ asitleri profili, gaz kromatografisi cihazı (GC, Perkin Labor, Clarus 500) ile belirlenmiş olup omega-3 yağ asitleri miktarı hem karides eti hemde işleme artıklarında ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Karides işleme artıklarının yüksek EPA-DHA miktarına sahip olmalarının sebebi olarak baş alma ve kabuk çıkarma işlemi sırasında baş içinde bulunan ve kabukla birlikte gelen et materyalinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.4. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) işleme artığı ve karides etinin yağ asitleri değerleri.

Yağ Asitleri (%)	Karides Eti (H*)	Karides Artığı (H*)
C14:0 (Laurik asit)	0.14±0.01	0.72±0.08
C15:0 (Pentadecanoik asit)	0.11±0.00	0.29±0.04
C16:0 (Palmitik asit)	18.47±0.88	18.51±1.01
C17:0 (Heptadecanoik asit)	0.35±0.03	0.71±0.07
C18:0 (Stearik asit)	2.94±0.23	6.32±0.45
C20:0 (Arashidik asit)	0.11±0.01	0.44±0.02
C21:0 (Henicosanoik asit)	0.96±0.07	0.83±0.11
C22:0 (Behenik asit)	0.00±0.00	0.03±0.00
C24:0 (Lignoserik asit)	0.17±0.01	0.13±0.01
ΣSFA**	23.24±0.16	27.97±0.23
C14:1 (Myristoleik asit)	0.01±0.00	0.07±0.00
C15:1 (cis-10-pentadecenoik asit)	0.03±0.00	0.04±0.00
C16:1 (Palmiteloik asit)	2.81±0.22	3.92±0.31
C17:1 (cis-10-heptadecenoik asit)	0.18±0.01	0.57±0.07
C18:1n-9 (Elaidik asit)	0.05±0.00	0.45±0.03
C18:1n-9 (Oleik asit)	8.07±0.65	21.58±1.02
C20:1n-9 (cis-11-eicosenoik asit)	1.62±0.08	5.17±0.44
C22:1 n-9 (Erucik asit)	0.29±0.02	0.31±0.02
C24:1 n-9 (Nervonik asit)	0.24±0.01	1.98±0.08
ΣMUFA**	13.28±0.11	34.07±0.21
C18:2n-6 (Linoleaidik asit)	4.85±0.51	9.21±0.35
C18:2n-6 (Linoleik asit)	1.02±0.10	1.07±0.04
C18:3n-6 (γ-Linolenik asit)	0.43±0.03	0.45±0.01
C18:3n-3 (ALA)***	0.23±0.03	0.11±0.00
C20:2 (cis-11,14-eicosadienoik asit)	0.06±0.00	0.04±0.00
C20:3 n-3 (cis-11,14,17-eicosatrienoik asit)	6.55±0.24	1.83±0.09
	0.00±0.00	0.19±0.01
C20:4n-6 (Arashidonik asit)	18.18±0.88	8.07±0.73
C20:5 n-3 (EPA)***	32.17±1.21	17.01±1.75
C22:6 n-3 (DHA)***	63.48±0.30	37.97±0.32
ΣPUFA**	50.35±0.20	25.08±0.23
ΣDHA-EPA		

*H: Hekzan ile ekstrakte edilerek elde edilen yağlı ekstrakt kullanılmıştır. **SFA: Doymuş yağ asitleri, MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri, PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri. ***ALA: Alfinolenik asit, EPA: Eikosapentaenoik asit, DHA: Docosaheksaenoik asit.

4.5. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) İşleme Artıklarının Ekstraksiyonlarına Ait Bulgular

Aristaeomorpha foliacea karidesi artıklarının ekstraksiyonlarına ait astaksantin miktarı ve antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.5’de belirtilmiştir. Deneme deseninde belirtilen şartlarda yapılan ekstraksiyonlar sonucunda en yüksek astaksantin miktarına (339.33 µg/L veya ppm) ve en yüksek antioksidan aktivite değerine (2.51 TEAC) 1:30 biyokütle:çözgen oranına göre, 60 dakikada ve 30 °C’de yapılan ekstraksiyon sonucu

ulaşılmıştır. Bilgisayar programı ile yapılan analiz sonucu optimum koşullar biyokütle:çözgen oranı 1:30 g:ml, ekstraksiyon sıcaklığı 41 °C ve ekstraksiyon süresi 88 dakika olarak bulunmuş ve bu koşullara göre tahmini optimum astaksantin miktarı 339.45 ppm ve tahmini antioksidan aktivite değeri de 2.54 TEAC olarak hesaplanmıştır. *Aristaeomorpha foliacea* karidesinden astaksantin ekstraksiyonunun optimizasyonunda maksimum astaksantin miktarı ve antioksidan aktivite değerine biyokütle:çözgen oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin etkileri bakımından biyokütle:çözgen oranı; p değerinin 0.05'ten küçük olması ($P<0.05$) nedeniyle istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çözgen oranının artırılması astaksantin miktarını ve antioksidan aktivite değerini de artırmaktadır.

Çizelge 4.5. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) işleme artıklarından elde edilen ekstraktların astaksantin içeriği ve antioksiadan aktivite değerleri

Örnek	*X ₁ (°C)	*X ₂ (dk)	*X ₃ (g:ml)	Astaksantin miktarı (ppm)	Antioksidan aktivite değeri (TEAC)
A ₁	50	30	30	282.34	2.20
A ₂	30	30	20	122.59	1.01
A ₃	50	60	20	250.71	1.95
A ₄	50	60	20	248.28	1.91
A ₅	70	60	10	154.42	1.20
A ₆	50	90	10	195.45	1.52
A ₇	30	90	20	333.44	2.47
A ₈	30	60	30	339.33	2.51
A ₉	70	90	20	256.92	1.97
A ₁₀	50	30	10	186.39	1.43
A ₁₁	70	30	20	214.92	1.67
A ₁₂	30	60	10	174.21	1.35
A ₁₃	70	60	30	296.84	2.27
A ₁₄	50	60	20	251.36	1.96
A ₁₅	50	90	30	273.92	2.11

* X₁: ekstraksiyon sıcaklığı °C , X₂: ekstraksiyon süresi (dakika) , X₃: karides artığı/çözgen oranı (g/ml)

Ekstraksiyon verimi için Design Expert 10.0.1.0 ın kuadratik denklemleri için ANOVA testi sonuçları çizelge 4.5’ te verilmiştir.

Çizelge 4.6. Astaksantin miktarı Varyans (ANOVA) analiz Sonuçları

Kaynak	Kareler	Df	Kareler	p-Değeri
	Toplamı		Ortalaması	Prob>F
Model	45,337.57	9	5,037.51	0.1856
X₁= sıcaklık	269.93	1	269.93	0.7397
X₂=Zaman	8,032.15	1	8,032.15	0.1134
X₃=biyokütle:çözgen mkt.	29,035.68	1	29,035.68	0.0148
X₁X₂	7,127.58	1	7,127.58	0.1308
X₁X₃	128.82	1	128.82	0.8179
X₂X₃	76.39	1	76.39	0.8591
X₁²	121.53	1	121.53	0.8230
X₂²	568.84	1	568.84	0.6317
X₃²	37.33	1	37.33	0.9011
Artık Değer	10,933.88	5	2,186.78	
Uyum Eksikliği	10,928.61	3	3,642.87	0.0007
Hata	5.27	2	2.64	
Düzeltilmiş Toplam	56,271.45	14		
R²	0.8057			
R²adj	0.4559			

df, Bağımsızlık Derecesi

Düzeltilmiş Toplam, Ortalama için düzeltilmiş tüm bilgilerin toplamı.

P>0.05 durumunda parametrenin önemsiz olduğunu gösterir.

Çizelge 4.7. Ekstrakların antioksidan aktivite değerleri Varyans (ANOVA) Analiz Sonuçları

Kaynak	Kareler	Df	Kareler	p-Değeri
	Toplamı		Ortalaması	Prob>F
Model	2.40	9	0.27	0.1568
X₁= sıcaklık	6.61	1	6.61	0.8111
X₂=Zaman	0.39	1	0.39	0.118
X₃=biyokütle:çözgen mkt.	1.61	1	1.61	0.0110
X₁X₂	0.34	1	0.34	0.1323
X₁X₃	2.02	1	2.02	0.8946
X₂X₃	8.10	1	8.10	0.7916
X₁²	0.019	1	0.019	0.6891
X₂²	0.029	1	0.029	0.6199
X₃²	4.85	1	4.85	0.8377
Artık Değer	0.52	5	0.10	
Uyum Eksikliği	0.52	3	0.17	0.0040
Hata	1.40	2	7.00	
Düzeltilmiş Toplam	2.92	14		
R²	0.8215			
R²adj	0.5002			

df, Bağımsızlık Derecesi

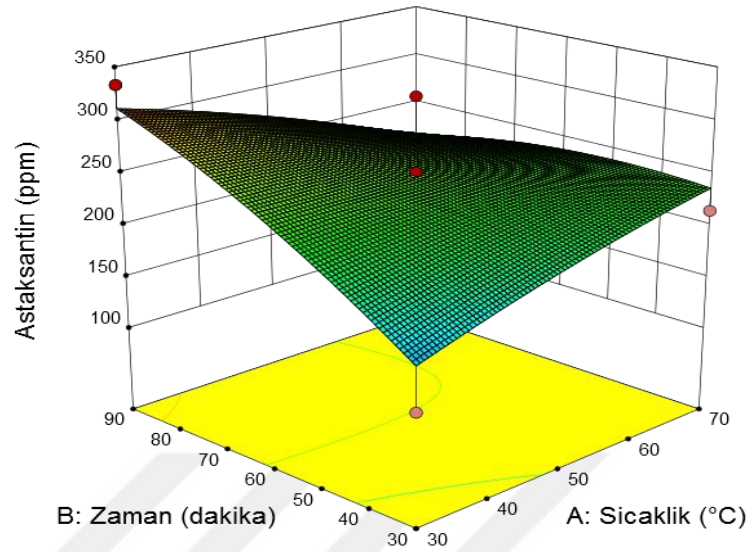
Düzeltilmiş Toplam, Ortalama için düzeltilmiş tüm bilgilerin toplamı.

P>0.05 durumunda parametrenin önemsiz olduğunu gösterir.

Varyans analizi (ANOVA) (Çizelge 4.5) modeldeki olasılık (probabilite) değerlerinden biyokütle:çözgen miktarı $p<0.0110$ değeriyle çözgen miktarının ekstraksiyon veriminde belirleyici olabileceğine işaret etmektedir. Buna göre çözgen miktarı artırıldıkça verimin de artması beklenmelidir.

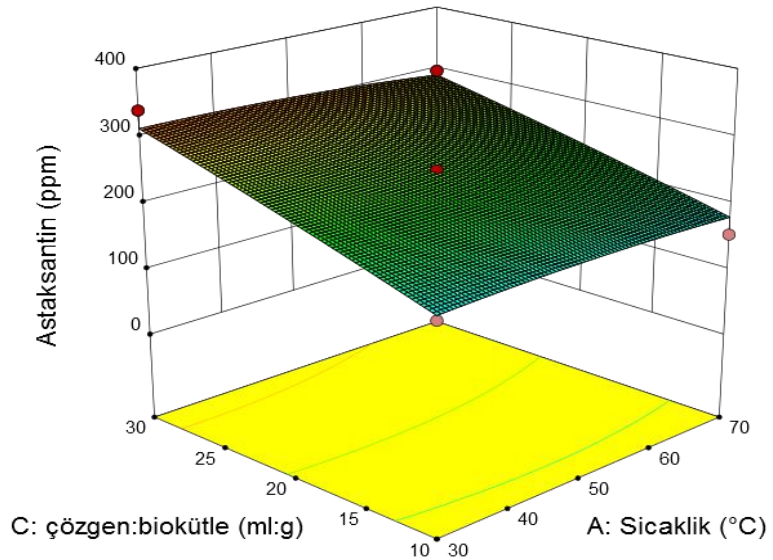
Ekstrakların astaksantin miktarı ve antioksidan aktivitesi ile ilgili 3 boyutlu grafikler aşağıda (şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve şekil 4.4, 4.5, 4.6) gösterilmiştir.

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Astaksantin (ppm)
 ● Design points above predicted value
 ● Design points below predicted value
 339,33
 122,59
 X1 = A: Sıcaklık
 X2 = B: Zaman
 Actual Factor
 C: çözügen:biokütle = 20



Şekil 4.1. Astaksantin miktarının (ppm), sabit biyokütle:çözügen oranına (g/ml) göre üç boyutlu değişim grafiği

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Astaksantin (ppm)
 ● Design points above predicted value
 ● Design points below predicted value
 339,33
 122,59
 X1 = A: Sıcaklık
 X2 = C: çözügen:biokütle
 Actual Factor
 B: Zaman = 60



Şekil 4.2. Astaksantin miktarının (ppm), sabit zamana (dk) göre üç boyutlu değişim grafiği

Design-Expert® Software

Factor Coding: Actual

Astaksantin (ppm)

● Design points above predicted value

● Design points below predicted value

339,33

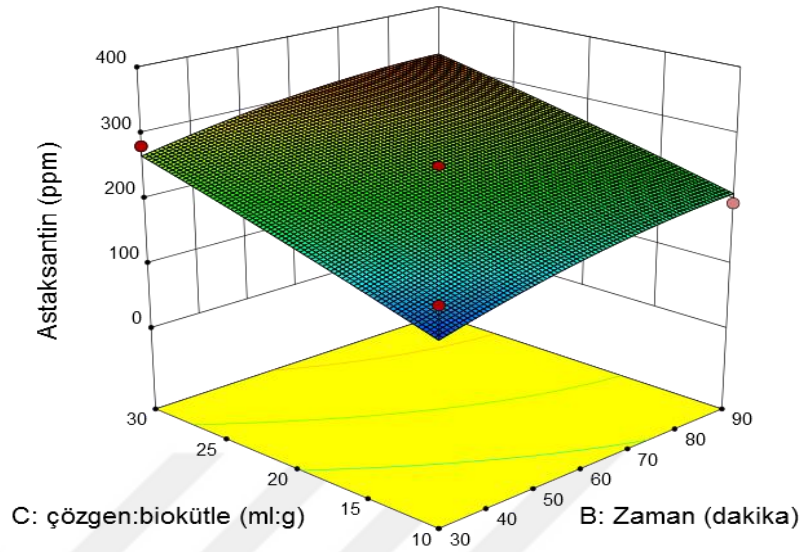
122,59

X1 = B: Zaman

X2 = C: çözgen:biokütle

Actual Factor

A: Sıcaklık = 50



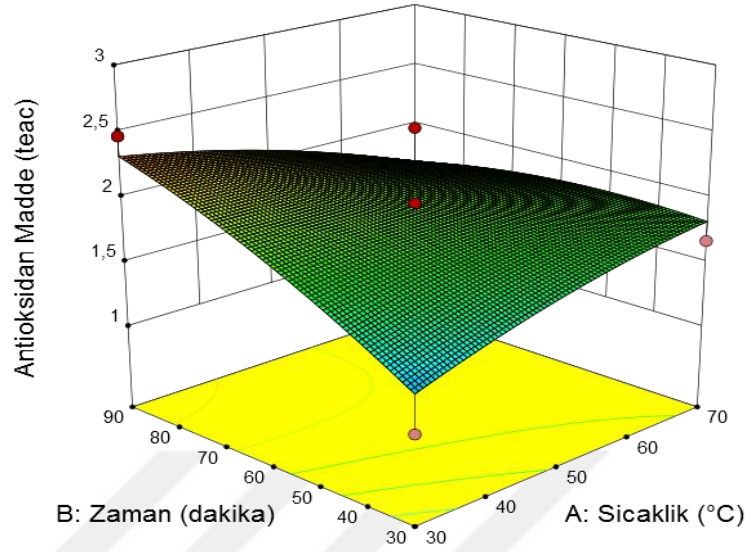
Şekil 4.3. Astaksantin miktarının (ppm), sabit sıcaklık faktörüne (°C) göre üç boyutlu değişim grafiği

Şekil 4.1.'de görüleceği gibi biyokütle:çözgen miktarını 1.20 (g:ml)'de sabitleyerek ekstraksiyon süresini artırmak astaksantin miktarında lineer bir artışa neden olmuştur. Ekstraksiyon sıcaklığını artırarak elde edilen astaksantin miktarında sürenin artırılmasıyla elde edilene benzer artış görülmüştür. Her iki değişkenin birlikte artırılması ile elde edilen astaksantin miktarında yaklaşık 50 °C ve 60 dk civarlarına kadar bir artış gözlenmiş daha sonra her iki değişkende meydana gelen artışın astaksantin miktarında bir azalış meydana getirdiği gözlemlenmiştir.

Şekil 4.2.'de görüleceği gibi ortalama ekstraksiyon süresi olan 60 dakikada biyokütle:çözgen miktarının artırılmasının elde edilen astaksantin miktarını önemli derecede artırdığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının artırılmasının astaksantin miktarında bir değişikliğe neden olmadığı görülmüş, her iki değişkenin birlikte artırılmasının çözgen oranının artırılmasında meydana gelen artışa benzer şekilde bir artışa neden olduğu görülmüştür.

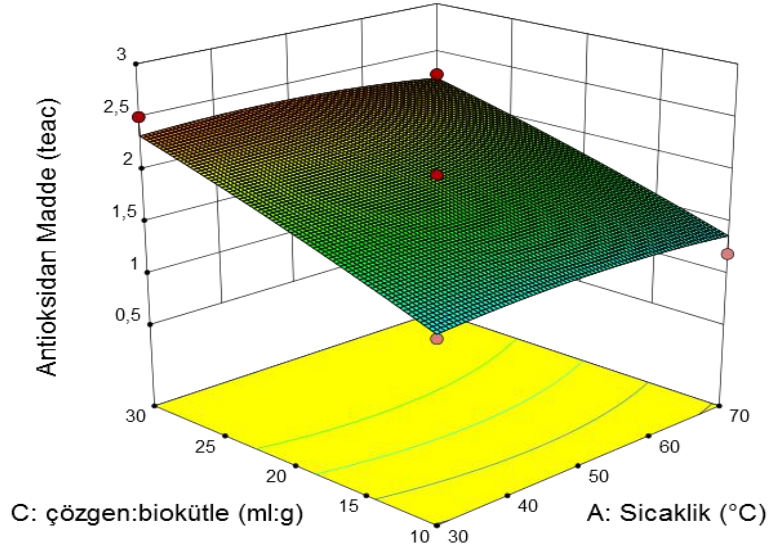
Şekil 4.3.'de görüleceği gibi ekstraksiyon sıcaklığını 50 °C'de sabit tutarak yapılan değerlendirmede ekstraksiyon süresinin artırılmasının astaksantin miktarını artırdığı, biyokütle:çözgen miktarının artırılmasının astaksantin miktarını yine artırdığını göstermiştir. Her iki değişkenin birlikte artışında artışta pozitif yönde bir ivmelenme gözlemlenmiş, süre ve çözgen oranının maksimum olduğu bölgelerde astaksantin miktarının da maksimuma ulaştığı görülmüştür.

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Antioksidan Madde (teac)
 ● Design points above predicted value
 ● Design points below predicted value
 2,51
 1,01
 X1 = A: Sıcaklık
 X2 = B: Zaman
 Actual Factor
 C: çözgen:biokütle = 20

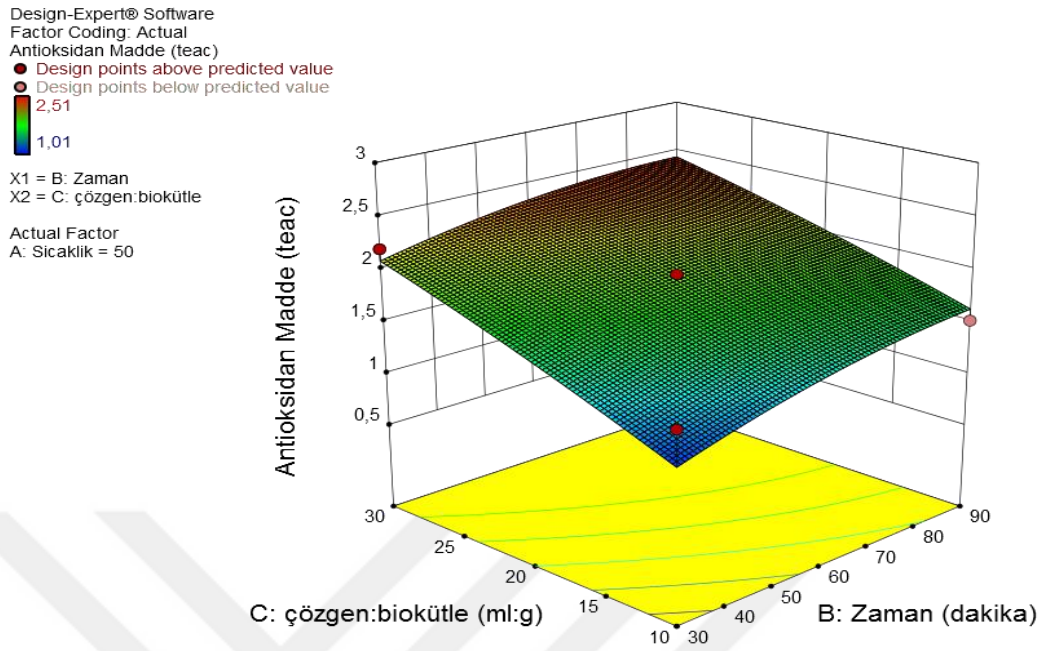


Şekil 4.4. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit biyokütle:çözgen oranına (g/ml) göre üç boyutlu değişim grafiği

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Antioksidan Madde (teac)
 ● Design points above predicted value
 ● Design points below predicted value
 2,51
 1,01
 X1 = A: Sıcaklık
 X2 = C: çözgen:biokütle
 Actual Factor
 B: Zaman = 60



Şekil 4.5. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit zamana (dk) göre üç boyutlu değişim grafiği



Şekil 4.6. Antioksidan aktivite değerinin (TEAC), sabit sıcaklık (°C) faktörüne göre üç boyutlu değişim grafiği

Şekil 4.4.'de görüleceği gibi biyokütle:çözgen miktarını 1.20 (g:ml)'de sabitleyerek ekstraksiyon süresini artırmak antioksidan aktivite değerinde lineer bir artışa neden olmuştur. Ekstraksiyon sıcaklığını artırarak elde edilen antioksidan aktivite değerinde sürenin artırılmasıyla elde edilene benzer bir artış görülmüştür. Her iki değişkenin birlikte artırılmasının antioksidan aktivite değerinde yaklaşık 50 °C ve 60 dk civarlarına kadar bir artışa yol açtığı gözlenmiş, daha sonra her iki değişkende meydana gelen artışın antioksidan aktivite değerinde bir azalış meydana getirdiği görülmüştür.

Şekil 4.5.'de görüleceği gibi ortalama ekstraksiyon süresi olan 60 dakikada biyokütle:çözgen miktarının artırılmasının antioksidan aktivite değerini önemli derecede artırdığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının artırılmasının antioksidan aktivite değerinde bir değişikliğe neden olmadığı görülmüş, her iki değişkenin birlikte artırılmasının çözgen oranının artırılmasında meydana gelen artışa benzer şekilde bir artışa neden olduğu görülmüştür.

Şekil 4.6.'da görüleceği gibi ortalama ekstraksiyon sıcaklığı olan 50 °C'de sabit tutarak yapılan değerlendirmede ekstraksiyon süresinin artırılmasının antioksidan aktivite değerini artırdığı, biyokütle:çözgen miktarının artırılmasının antioksidan aktivite değerini yine artırdığını göstermiştir. Her iki değişkenin birlikte artışında artışta pozitif yönde bir ivmelenme gözlemlenmiş, süre ve çözgen oranının maksimum olduğu bölgelerde antioksidan aktivite değerinin de maksimuma ulaştığı görülmüştür.

4.6. Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Aristaeomorpha foliacea karidesi artıkları ekstraksiyonunda elde edilen astaksantin miktarları ve antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Yapılan ekstraksiyonlar sonucu elde edilen değerler ve Design Expert 10.0.1.0 istatistik programı kullanılarak astaksantin miktarı ve antioksidan aktivite değeri baz alınarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir.

Maksimum verim hedef alınarak yapılan hesaplamalar sonucu biyokütle:çözgen oranı 1:30 g:ml, ekstraksiyon sıcaklığı 41 °C ve ekstraksiyon süresi 88 dk optimum koşullar olarak saptanmıştır. Bilgisayar programı ile yapılan analizde tahmini elde edilmesi gereken optimum astaksantin miktarı 339.45 ppm ve optimum antioksidan aktivitesi değeri de 2.54 TEAC bulunmuştur. Optimum koşullar altında yapılan deneysel ekstraksiyonlar sonucu astaksantin miktarı 336.4±5.1 ppm ve astaksantin antioksidan aktivitesi 2.48±0.07 TEAC olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8). Yapılan istatistik analizinde bu değerler karşılaştırılmış ve deneysel sonuçlar ile tahmini sonuçlar arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Bilgisayar programı sonucu elde edilen tahmini değerler ve deneysel değerler arasında fark bulunmaması optimizasyonun doğruluğunu göstermektedir.

Çizelge 4.8. Optimum koşullar, maksimum astaksantin miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değeri

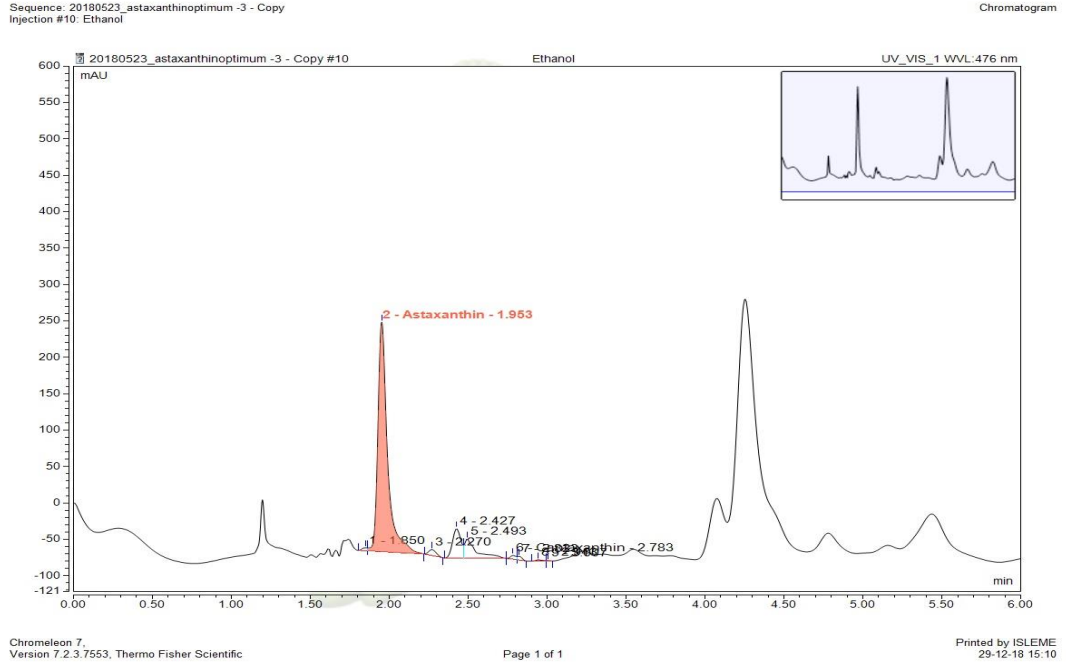
Optimum Koşullar			Astaksantin miktarı (ppm)		Antioksidan aktivite değeri (TEAC)	
Biyokütle: çözgen oranı	Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	Ekstraksiyon süresi (dk)	Deneysel	Tahmini	Deneysel	Tahmini
1:30	41	88	336.4± 5.1 ^A (n:3)	339.45 ^A	2.48±0.07 ^A (n:3)	2.54 ^A

*TEAC = Trolox eşdeğer antioksidan değeri µmol trolox/g karides ekstraktı. n:3: ekstraksiyon 3 defa yapılmıştır.

4.7. Farklı Çözgenlerin Karides (*Aristaeomorpha foliacea*) İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyonuna Etkisi

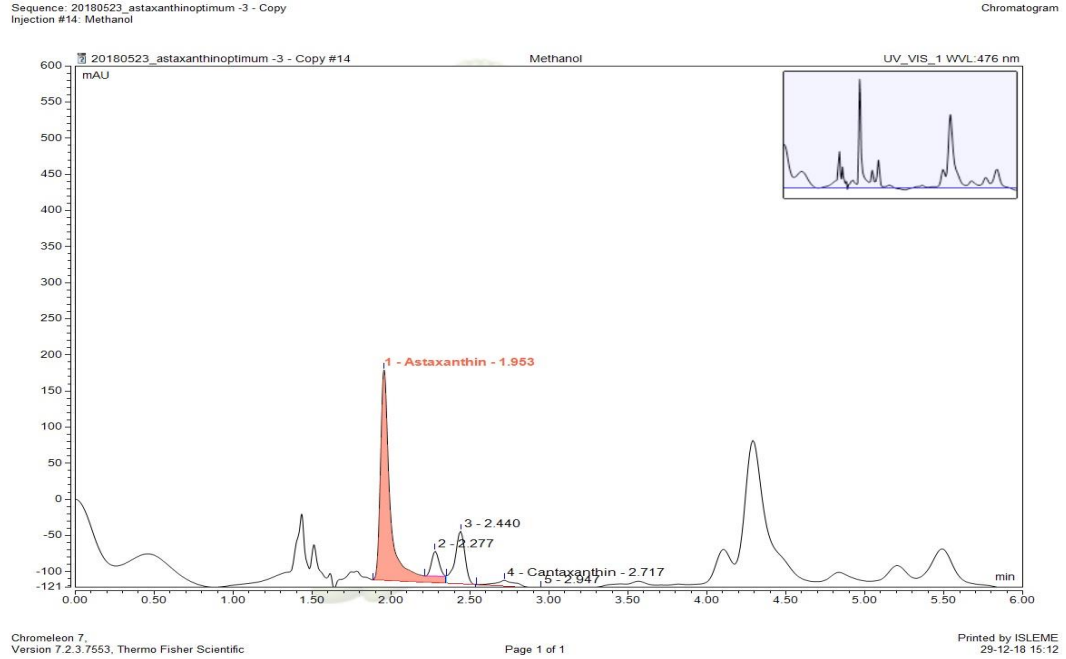
Bu aşamadan itibaren dondurarak kurutulmuş karides işleme artıkları tespit edilen optimum koşullara göre aseton, etanol, hekzan, isopropil alkol, kloroform ve methanol olmak üzere 6 farklı çözgen vasıtası ile ekstrakte edilerek astaksantin miktarı, antioksidan aktivite değeri, renk ölçümleri yapılmış ve bu çözgenlerin ekstraksiyon verimine ve astaksantin kalitesine etkileri SAS 9.4 (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Optimum koşullar altında etanol ile yapılan ekstraksiyonlar sonucu elde edilen ekstraktın 198.85 ± 6.62 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



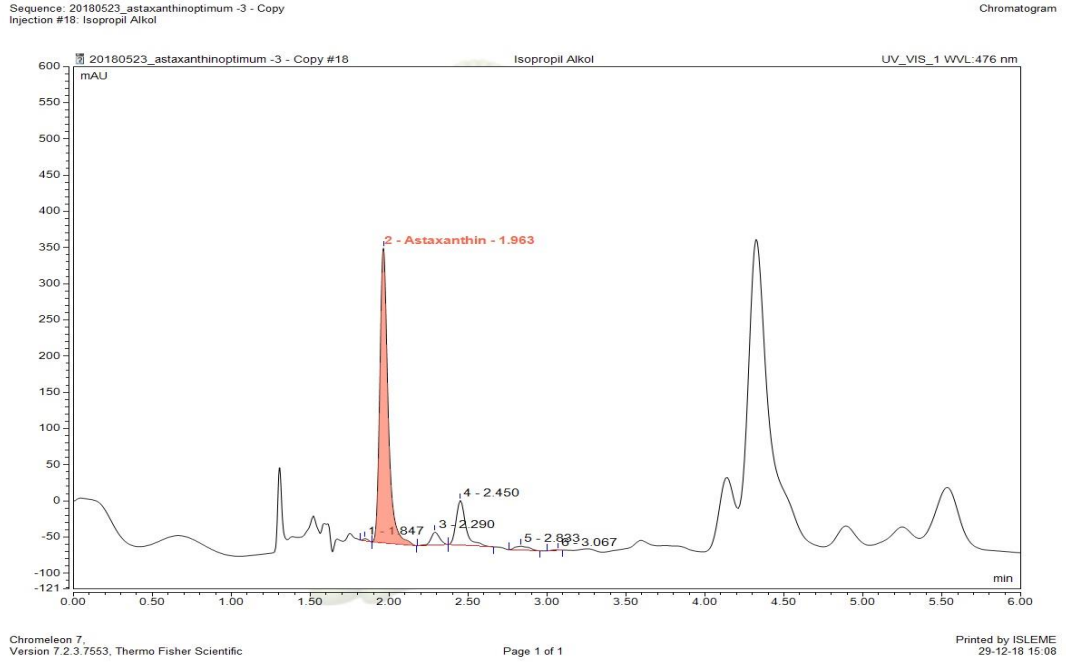
Şekil 4.7. Etanol ekstresinin HPLC kromotogramı

Metanol ekstresinin 190.91 ± 7.15 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



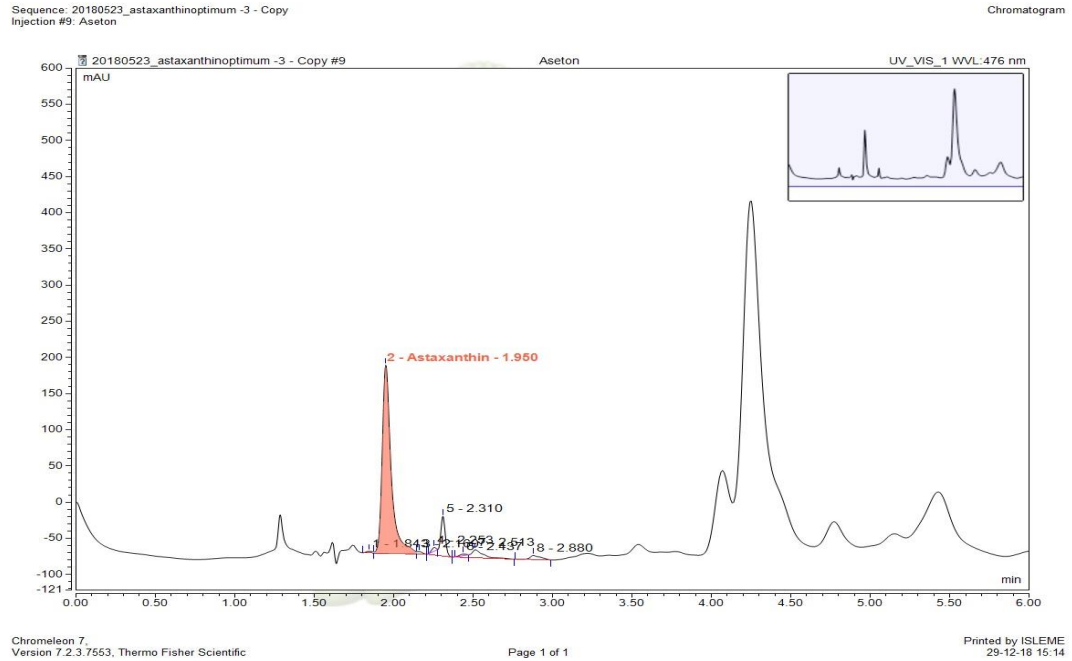
Şekil 4.8. Metanol ekstresinin HPLC kromotogramı

İsopropil ekstresinin 254.00 ± 9.57 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



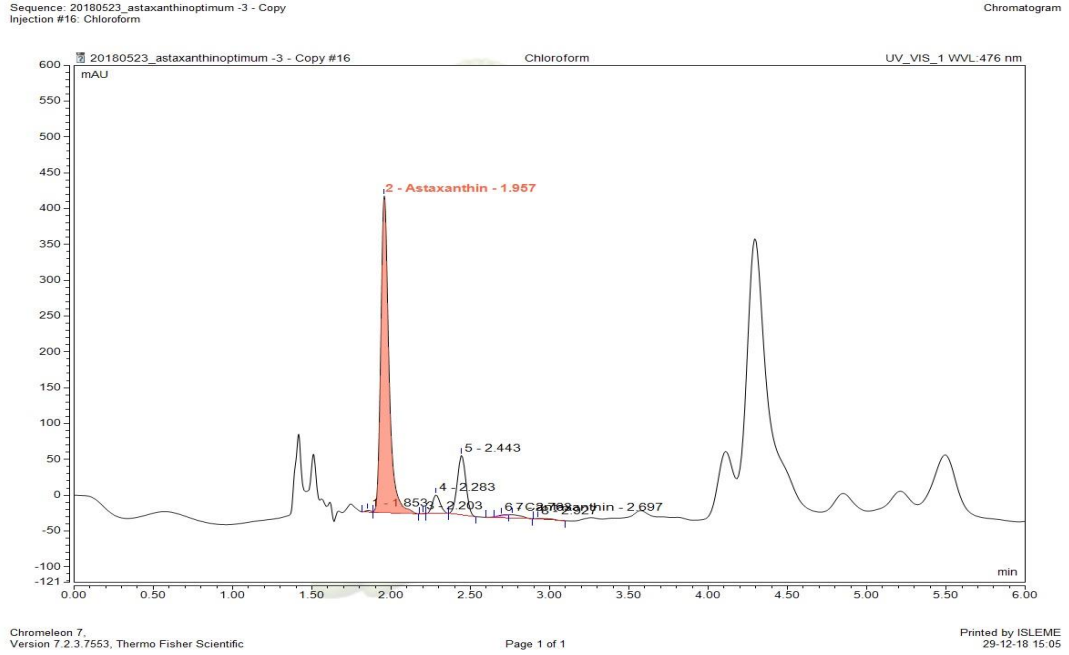
Şekil 4.9. İsopropil alkol ekstresinin HPLC kromotogramı

Aseton ekstresinin 185.98 ± 9.55 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



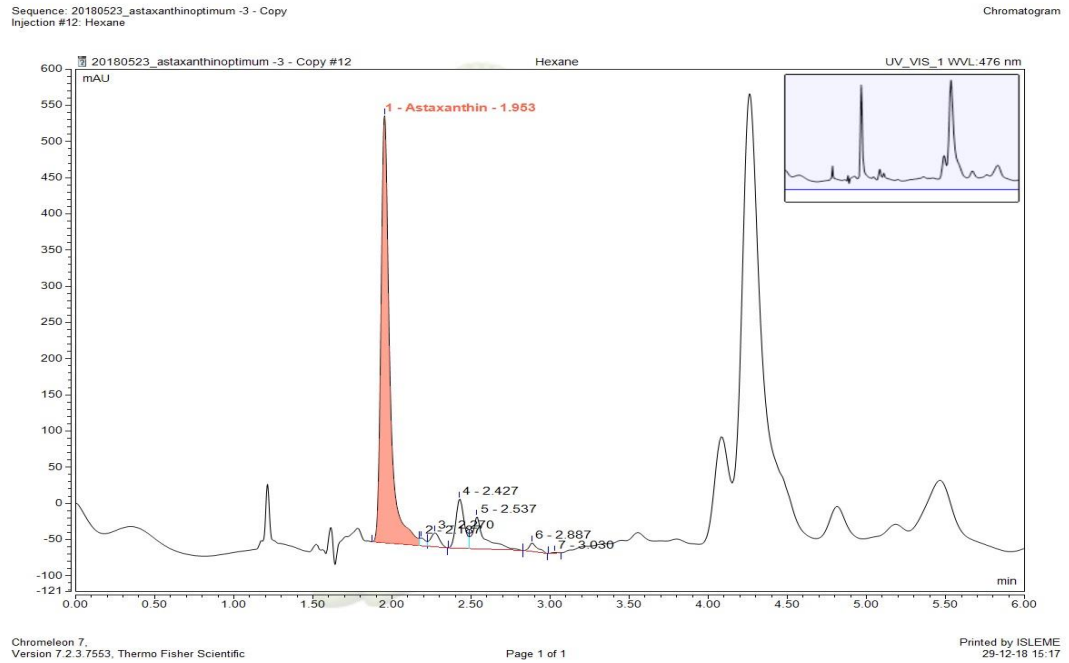
Şekil 4.10. Aseton ekstresinin HPLC kromotogramı

Kloroform ekstresinin 287.54 ± 14.84 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kloroform ekstresinin HPLC kromotogramı

Hekzan ekstresinin 336.40 ± 10.00 ppm astaksantin içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Hekzan ekstresinin HPLC kromotogramı

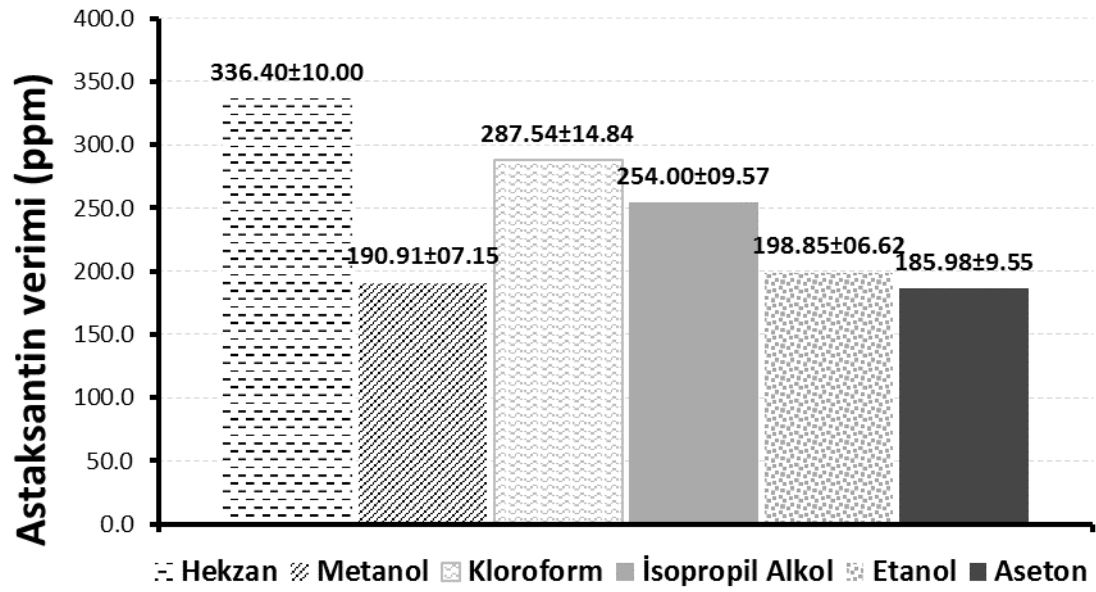
Çizelge 4.9. *Aristaeomorpha foliacea* karidesi artıkları ekstraktlarının kullanılan çözügen türüne göre astaksantin miktarları, antioksidan aktivite değerleri ve renk değerleri

Çözgen Türü	Astaksantin Miktarı (ppm)	Antioksidan Aktivite Değeri (TEAC)	Renk (L)	Renk (a)	Renk (b)
Etanol	198.85±6.62 ^c	1.46±0.07 ^c	49.06±1.40 ^a	20.42±1.23 ^b	13.46±1.16 ^a
Metanol	190.91±7.15 ^c	1.43±0.04 ^c	47.35±0.97 ^{ba}	21.74±0.57 ^{ba}	14.08±0.88 ^a
İsopropil Alkol	254.00±9.57 ^b	1.93±0.05 ^b	43.07±1.53 ^{bc}	23.28±1.43 ^{ba}	14.07±1.27 ^a
Aseton	185.98±9.55 ^c	1.38±0.04 ^c	47.86±1.31 ^{ba}	20.05±1.33 ^b	12.57±1.20 ^a
Kloroform	287.54±14.84 ^b	2.08±0.10 ^b	41.40±1.58 ^{dc}	23.92±1.38 ^{ba}	14.42±1.27 ^a
Hekzan	336.40±10.00 ^a	2.48±0.07 ^a	38.11±1.16 ^d	25.24±1.45 ^a	15.10±1.41 ^a

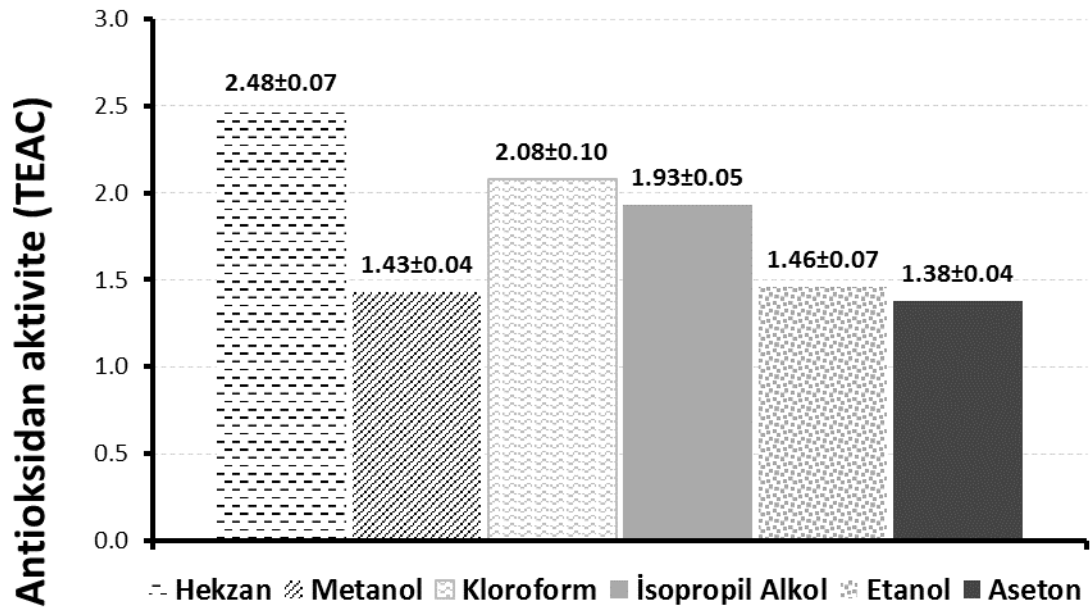
Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, hekzanın (336.40±10.00^a ppm) astaksantin miktarına göre en iyi çözügen olduğu tespit edilirken en kötü oranları sırasıyla etanol (198.85±6.62^c ppm), metanol (190.91±07.15^c ppm) ve aseton (185.98±09.55^c ppm) çözügenleri vermiştir. Aynı harf değerine sahip çözügenler arasında istatistiki fark bulunamamıştır (Çizelge 4.9.).

Antioksidan aktivite değerine göre değerlendirildiğinde hekzanın en iyi harf değeri (2.48±0.07^a TEAC) ile en iyi çözügen olduğu gözlemlenirken, kloroform (2.08±0.10^b TEAC) ile isopropil alkolün (1.93±0.05^b TEAC) ise aynı harf değeriyle ikinci sırayı paylaştığı tespit edilmiştir. Etanol (1.46±0.07^c TEAC), metanol (1.43±0.04^c TEAC) ve aseton (1.38±0.04^c TEAC) çözümlerinin antioksidan aktivite değeri açısından istatistiki olarak bu çözümler arasında son sırayı aldıkları tespit edilmiştir.

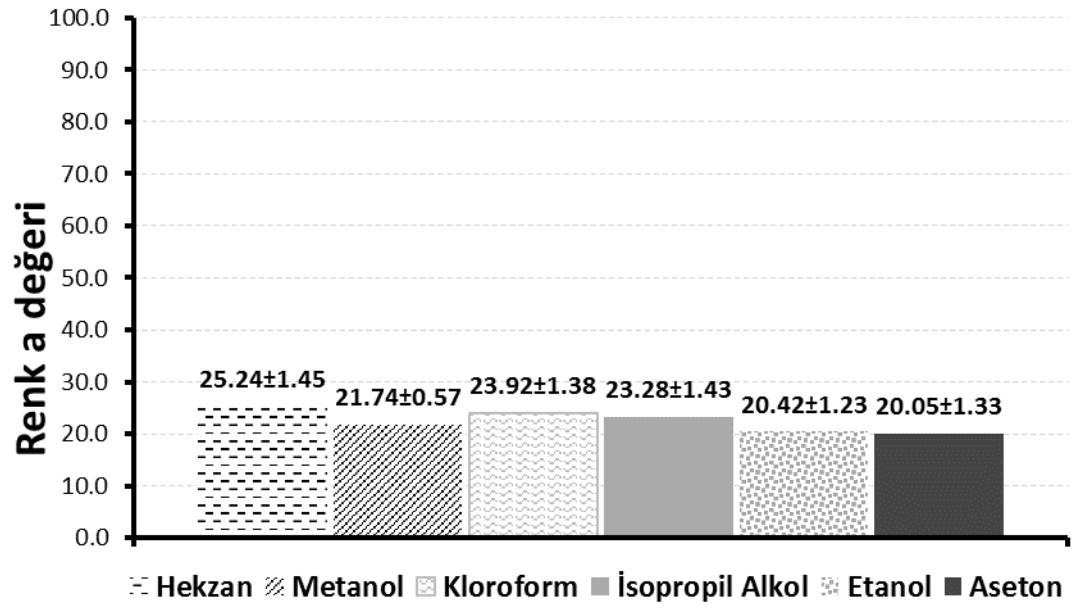
Renk ölçümlerine göre bir değerlendirme yapılması gerekirse dikkate alınması gereken renk olan kırmızı rengi veren “a” ya göre hekzan çözügeni en iyi değere (25.24±1.45^a) sahip olduğu görülürken kloroformun (23.92±1.38^{ba}), isopropil alkolün (23.28±1.43^{ba}) ve metanolün (21.74±0.57^{ba}) aynı harf değeri ile ikinci sırayı paylaştıkları tespit edilmiştir. Diğer çözügenler aynı harf değeriyle, istatistiki olarak aralarında bir fark bulunmadığından son sırayı paylaşmışlardır.



Şekil 4.13. Farklı polaritedeki çözenlerin astaksantin miktarı üzerine etkileri



Şekil 4.14. Farklı polaritedeki çözenlerin antioksidan aktivite değeri üzerine etkileri



Şekil 4.15. Farklı polaritedeki çözenlerin Renk a değeri üzerine etkileri

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında öncelikle *Aristaeomorpha foliacea* karidesi baş alma ve kabuk çıkarma işlemine tabi tutularak toplam elde edilebilecek işleme artığı miktarı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre 100 g *Aristaeomorpha foliacea* karidesinden 51.54 ± 1.53 g kadar işleme artığı elde edilmiştir.

Elde edilen bu işleme artıkları dondurarak kurutma (freeze dryer) ile kurutularak elek yardımı ile standardize hale getirildikten sonra kimyasal kompozisyonu belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre 100 g kurutulmuş, standardize hale getirilmiş *Aristaeomorpha foliacea* karidesi işleme artığının kuru madde miktarı: 23.32 ± 1.95 g, kül miktarı: 5.56 ± 0.19 g, yağ miktarı: 1.77 ± 0.05 g olarak belirlenmiştir.

Ekstraktlarda % 7.14 ± 2.32 oranında EPA, % 14.71 ± 3.20 oranında DHA olmak üzere toplam % 21.85 ± 5.30 omega-3 yağ asidi içeriği tespit edilmiştir. İşleme artığından bu kadar yüksek omega-3 yağ asidi eldesinin sebebi olarak baş alma ve kabuk çıkarma işlemleri sırasında baş içinde bulunan ve kabukla beraber gelen et parçalarından olduğu düşünülmektedir.

Tez çalışmasının birinci aşamasında; karides işleme artıklarının astaksantin miktarı ve antioksidan aktivite değeri gözönünde bulundurularak optimizasyon yapılmıştır. Hekzan ile yapılan optimizasyon çalışmasına göre optimum biyokütle:çözgen oranı 1:30 g/ml, ekstraksiyon süresi 88 dk ve ekstraksiyon sıcaklığı 41 °C olarak tespit edilmiştir. *Aristaeomorpha foliacea* karidesinden astaksantin ekstraksiyonunun optimizasyonunda maksimum astaksantin miktarı ve antioksidan aktivite değerine biyokütle:çözgen oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin etkileri bakımından biyokütle:çözgen oranı p değerinin 0.05'ten küçük olması ($P < 0.05$) nedeniyle istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çözgen oranının artırılmasının astaksantin miktarını ve antioksidan aktivite değerini de artırdığı tespit edilmiştir.

İkinci aşamada belirlenen optimum ekstraksiyon koşullarında farklı polaritelere sahip 6 adet çözgen (etanol, metanol, isopropil alkol, aseton, kloroform, hekzan) kullanılarak ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiş ve bu ekstraktların astaksantin miktarları ve antioksidan aktiviteleri saptanmıştır.

Optimum ekstraksiyon koşullarına göre astaksantin miktarı için hekzan (336.40 ± 10.00 ppm) en iyi çözgen olarak bulunmuştur.

Antioksidan aktivite değerleri açısından bakıldığında optimum ekstraksiyon koşullarına göre hekzan çözeltisi (2.48 ± 0.07 TEAC) en iyi çözgen olarak bulunmuştur.

Renk a değerleri açısından hekzan (25.24 ± 1.45) en iyi çözgen olarak bulunmuştur.

Tez çalışması sonucunda; *Aristaeomorpha foliacea* karidesi işleme artıklarından, sağlık açısından oldukça önemli olan ve gıda endüstrisinde de bir çok uygulama alanı bulunan astaksantin eldesi ve maksimum verim için ekstraksiyonda en uygun çözgenin hekzan olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- Anderson, M. (2001). Method of Inhibiting 5-a Reductase with Astaxanthin to Prevent and Treat Benign Prostate Hyperplasia (BPH) and Prostate Cancer in Human Males. *US Patent*, 6277417.
- Arakane, K. (2002). Superior Skin Protection via Astaxanthin. *Carotenoid Science* April 5:21-24.
- Arıca, Ş. Ç. (2017). Hatay İlinde, İskenderun Halkının Balıkçılık Ürünleri Tüketim Alışkanlığı ve Tercihlerinin Belirlenmesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 17(3), 233-243.
- Artüz, M. L. (2005). Türkiye denizlerinde bulunan karides türleri üzerine etüt. *Zoo-Natantia, Publications Scientifiques*, 22s.
- Atar, H.H. and Alçiçek, Z. (2009). Su ürünleri sektöründe sürdürülebilirlik. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2(2), 35-40.
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food research international*, 48(2), 410-427.
- Balachandran, S., Kentish, S. E., Mawson, R., & Ashokkumar, M. (2006). Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 471–479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2005.11.006>
- Bayhan, Y. K., Cartes, J. E., & Fanelli, E. (2015). Biological condition and trophic ecology of the deep-water shrimp *Aristaeomorpha foliacea* in the Levantine Sea (SW Turkey).
- Bennedsen, M.; Wang, X.; Willen, R.; Wadstrom, T.; Andersen, L.P. Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunol. Lett.* 1999, 70, 185–189.
- Bermúdez Menéndez, J. M., Arenillas, A., Menéndez Díaz, J. Á., Boffa, L., Mantegna, S., Binello, A., & Cravotto, G. (2014). Optimization of microalgae oil extraction under ultrasound and microwave irradiation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11), 1779-1784.
- Bhuvaneswari, S.; Yogalakshmi, B.; Sreeja, S.; Anuradha, C.V. Astaxanthin reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and nuclear factor-κB-mediated inflammation in high fructose and high fat diet-fed mice. *Cell Stress Chaperones* 2013, in press.
- Bianchini, M. (1999). The deep-water red shrimp, *Aristaeomorpha foliacea*, of the Sicilian Channel: biology and exploitation (Doctoral dissertation).

- Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Faithong, N., Tanaka, M., & Kishimura, H. (2008). Composition, antioxidative and oxidative stability of mungoong, a shrimp extract paste, from the cephalothorax of white shrimp. *Journal of food lipids*, 15(1), 97-118.
- Bjerkeng B, Peisker S, Ytrestøyl Å. Digestibility and muscle retention of astaxanthin in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with the red yeast *Phaffia rhodozyma* in comparison with synthetic formulated astaxanthin. *Aquaculture*. 2007; 269 (1-4):476-89. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04. 070.
- Bono, G., Badalucco, C. V., Cusumano, S., & Palmegiano, G. B. (2012). Toward shrimp without chemical additives: A combined freezing-MAP approach. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 274-279.
- Borsarelli, C. D., & Mercadante, A. Z. (2009). 12 Thermal and Photochemical Degradation of Carotenoids. *Carotenoids: Physical, chemical, and biological functions and properties*, 229.
- Capelo, J. L., & Mota, A. M. (2005). Ultrasonication for analytical chemistry. *Current Analytical Chemistry*, 1(2), 193-201.
- Cartes, J. E. (1995). Diets of, and trophic resources exploited by, bathyal penaeoidean shrimps from the western Mediterranean. *Marine and Freshwater Research*, 46(6), 889-996.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813–835. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chew, W.; Mathison, B.D.; Kimble, L.L.; Mixter, P.F.; Chew, B.P. Astaxanthin decreases inflammatory biomarkers associated with cardiovascular disease in human umbilical vein endothelial cells. *Am. J. Adv. Food Sci. Technol.* 2013, 1, 1–17.
- Chan, K.C.; Pen, P.J.; Yin, M.C. Anti-coagulatory and anti-inflammatory effects of astaxanthin in diabetic rats. *J. Food Sci.* 2012, 77, H76–H80.
- Charoenvuttitham, P., Shi, J., & Mittal, G. S. (2006). Chitin extraction from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) waste using organic acids. *Separation Science and Technology*, 41(06), 1135-1153.
- Chen, Y., Li, D., and Lu, W., 2003, Screening and characterization of astaxanthin-hyperproducing mutants of *Haematococcus pluvialis*, *Biotechnology Letters*, 25: 527-529.
- Chen, Y. Y., Lee, P. C., Wu, Y. L., & Liu, L. Y. (2015). In vivo effects of free form astaxanthin powder on anti-oxidation and lipid metabolism with high-cholesterol diet. *PLoS One*, 10(8), e0134733.
- Chouliara, E., Georgogianni, K. G., Kanellopoulou, N., & Kontominas, M. G. (2010). Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 20(5), 307-313. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.12.006>

- Cira, L. A., Huerta, S., Hall, G. M., & Shirai, K. (2002). Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Process Biochemistry*, 37(12), 1359-1366.
- Cohen, Z.V., 2000, Chemicals from microalgae, Taylor & Francis publishers, 419 p.
- Coward-Kelly, G., Agbogbo, F. K., & Holtzapple, M. T. (2006). Lime treatment of shrimp head waste for the generation of highly digestible animal feed. *Bioresource Technology*, 97(13), 1515-1520.
- Dalgıç, L., Özkan, G., & Karacabey, E. (2016). Altın Çilek Çeşnili Zeytinyağı Üretiminde İşlem Koşullarının Kalite Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi ve Optimizasyonu. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(2), 21-34.
- Delpech, R. (2001). Colourful cultures: classroom experiments with the unicellular alga *Haematococcus pluvialis*: Practicals. *Journal of Biological Education*, 35(4), 201-205.
- Díaz-Rojas, E. I., Argüelles-Monal, W. M., Higuera-Ciapara, I., Hernández, J., Lizardi-Mendoza, J., & Goycoolea, F. M. (2006). Determination of chitin and protein contents during the isolation of chitin from shrimp waste. *Macromolecular Bioscience*, 6(5), 340-347.
- Doğan, N., Doğan, C., Bilgin, S., Hayoğlu, İ., & Dağistanlı, Ö. (2015). *Pleurotus ostreatus* tan mantar tozu üretiminde kurutma işleminin yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyonu.
- Dong, L.Y.; Jin, J.; Lu, G.; Kang, X.L. Astaxanthin attenuates the apoptosis of retinal ganglion cells in db/db mice by inhibition of oxidative stress. *Mar. Drugs* 2013, 11, 960–974.
- Dong, J., Liu, Y., Liang, Z., & Wang, W. (2010). Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(1), 61-65.
- dos Santos, R. R., Moreira, D. M., Kunigami, C. N., Aranda, D. A. G., & Teixeira, C. M. L. L. (2015). Comparison between several methods of total lipid extraction from *Chlorella vulgaris* biomass. *Ultrasonics sonochemistry*, 22, 95-99.
- d'Udekem, D. A. C., 1999. Inventaire et distribution des crustacés décapodes de l'Atlantique nord-oriental, de la Méditerranée et des eaux continentales adjacentes au nord de 25 N. *Patrimoines naturels (MNHN/SPN)*, 40, 383.
- Dündar, A. (2011). Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında optimum tuz, askorbik asit ve yağ kullanım seviyelerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ekpe, L., Inaku, K., & Ekpe, V. (2018). Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases—a review. *J Mol Pathophysiol*, 7(1).
- Elwinger, K., Lignell, A., & Wilhelmson, M. (1997, September). Astaxanthin rich algal meal (*Haematococcus pluvialis*) as carotenoid source in feed for laying hens. In *Proceedings of the VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products* (pp. 52-59). Poland: Poznan.

- Eren, İ. (2004). Patateslerin osmotik dehidrasyonunun "Response Surface" metodu kullanılarak optimizasyonu (Doctoral dissertation, Ege Üniversitesi).
- Fábregas, J., Otero, A., Maseda, A., & Domínguez, A. (2001). Two-stage cultures for the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Biotechnology*, 89(1), 65-71.
- Fábregas, J., Domínguez, A., Regueiro, M., Maseda, A., & Otero, A. (2000). Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 530-535.
- Fassett, R. G., & Coombes, J. S. (2011). Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine drugs*, 9(3), 447-465.
- Fischer, W., Bauchotet, M. and Schnider, L., 1987. Fishes FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Rome, FAO, 1, 761-1530.
- Galil, B.S. & Goren, M. (1994) The deep sea Levantine fauna. New records and rare occurrences. *Senckenbergiana Maritima*, 25, 41-52
- Gallego-Juárez, J., Rodríguez, G., Acosta, V., & Riera, E. (2010). Power ultrasonic transducers with extensive radiators for industrial processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 953-964. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.11.006>
- Gerster, H. 1993. Anticarcinogenic effect of common carotenoids. *Intenat. J. Vit. Nutr. Res.* 63: 93-121 s.
- Gildberg A, Stenberg E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. *Process Biochem.* 2001;36:809-812.
- Grimmig, B., Daly, L., Hudson, C., Nash, K. R., & Bickford, P. C. (2017). Astaxanthin attenuates neurotoxicity in a mouse model of Parkinson's disease. *Functional Foods in Health and Disease*, 7(8), 562-576.
- Gross, G. J., & Lockwood, S. F. (2005). Acute and chronic administration of disodium disuccinate astaxanthin (Cardax™) produces marked cardioprotection in dog hearts. *Molecular and cellular biochemistry*, 272(1-2), 221-227.
- Guerin, M., Huntley, M. E., & Olaizola, M. (2003). *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *TRENDS in Biotechnology*, 21(5), 210-216.
- Hagen, C., Grünewald, K., and Rothe, E., 2001, Effect of cultivation parameters on growth and pigment biosynthesis in flagellated cells of *Haematococcus pluvialis*, *Journal of Applied Phycology*, 13:79-87.
- Higuera-Ciupara, I., Felix-Valenzuela, L., & Goycoolea, F. M. (2006). Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), 185-196.
- Ibrahim, H. M., Salama, M. F., & El-Banna, H. A. (1999). Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Food/Nahrung*, 43(6), 418-423.

- Ichihara, K. I., Shibahara, A., Yamamoto, K., & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31(5), 535-539.
- Inbarr, J., 1998, *Haematococcus*, The poultry pigmentor, Feed Mix., 6: 31-34.
- Irzyntec, Z., Klimczak, J., & Michalowski, S. (1995). Freeze-drying of the black currant juice. *Drying Technology*, 13(1-2), 417-424.
- José, A., & Broekaert, C. (2015). Daniel C. Harris: Quantitative chemical analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(30), 8943.
- Kallianiotis A, Sophronidis K, Vidoris P, Tselepides A 2000. Demersal fish and megafaunal assemblages on the Cretan continental shelf and slope (NE Mediterranean): seasonal variation in species density, biomass and diversity. *Progr Oceanogr* 46: 429-455.
- Sandesh Kamath, B., Srikanta, B. M., Shylaja, M. D., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2009). Ulcer preventive and antioxidative properties of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *European Journal of Pharmacology*, 590, 387-395.
- Kaur, D., Wani, A. A., Oberoi, D. P. S., & Sogi, D. S. (2008). Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. *Food Chemistry*, 108(2), 711-718.
- Kaya, G.K. (2009). Marine edilmiş levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758), çipura (*Sparus aurata* L., 1758) ve karabalıkta (*Clarias gariepinus*) depolama süresince duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 177 (1).
- Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2011). The physical and chemical effects of ultrasound. In H. Feng, G. V. BarbosaCanovas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 1–12). London: Springer. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-7472-3>
- Kistler, A. et al., (2002), Metabolism and CYP-inducer properties of astaxanthin in man and primary human hepatocytes, *Arch. Toxicol.*, 75: 665-675.
- Kobayashi, M., Kurimura, Y., & Tsuji, Y. (1997). Light-independent, astaxanthin production by the green microalga *Haematococcus pluvialis* under salt stress. *Biotechnology Letters*, 19(6), 507-509.
- Koç, B., & Kaymak-Ertekin, F. (2010). Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. *Gıda Dergisi*, 35(1).
- Kocatas, A., Katagan, T., & Hüseyin, A. B. (2001). Contribution to the knowledge of the crustacean fauna of Cyprus. *Israel Journal of Zoology*, 47(2), 147-160.
- Koukouras, A., Dounas, C., Türkay, M. & Voultsiadou-Koukoura, E. (1992) Decapoda crustacean fauna of the Aegean Sea: new information, check list, affinities. *Senckenbergiana Maritima*, 22, 217–244.
- Koukouras, A., Dounas, C., Türkay, M. & Voultsiadou-Koukoura, E. (1992) Decapoda crustacean fauna of the Aegean Sea: new information, check list, affinities. *Senckenbergiana Maritima*, 22, 217–244.

- Küçükgülmez A., (2011). Kırmızı dev karides (*Aristaeomorpha foliacea*) kabuklarından elde edilen ekstraktın buzdolabında depolanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*)'nin kimyasal fiziksel ve duyuşal özelliklerine etkileri. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 139 s.
- Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2008). Shelf stability of lutein from marigold (*Tagetes erecta* L.) flowers in vegetable oils. *Chemical Engineering Transactions*, 14(199), e204.
- López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Gutiérrez-Coronado, M. A., & Ríos-Vázquez, N. J. (2006). Quantification of astaxanthin in shrimp waste hydrolysate by HPLC. *Biomedical chromatography*, 20(10), 981-984.
- Lorenz, R. T., & Cysewski, G. R. (2000). Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in biotechnology*, 18(4), 160-167.
- Marcin, K., Jarosław, W., Monika, P., & Agnieszka, W. (2016). Application of the response surface methodology in optimizing oat fiber particle size and flour replacement in wheat bread rolls. *CyTA-Journal of Food*, 14(1), 18-26.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics sonochemistry*, 3(3), S253-S260.
- Mendes-Pinto, M. M., Raposo, M. F. J., Bowen, J., Young, A. J., & Morais, R. (2001). Evaluation of different cell disruption processes on encysted cells of *Haematococcus pluvialis*: effects on astaxanthin recovery and implications for bio-availability. *Journal of Applied Phycology*, 13(1), 19-24.
- Metrouh-Amir, H., Duarte, C. M., & Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops and Products*, 67, 249-256.
- Miki, W. (1991). Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 63(1), 141-146.
- Mytilineou, C., Kavadas, S., Politou, C. Y., Kapiris, K., Tursi, A., & Maiorano, P. (2006). Catch composition on red shrimps' (*Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus*) grounds in the Eastern Ionian Sea. *Hydrobiologia*, 557(1), 155-160.
- Myers, R. H., & Montgomery, D. C. (1995). Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments (Vol. 3). New York: Wiley.
- Nawar, W. W. (1969). Thermal degradation of lipids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 17(1), 18-21.
- Naznin, R., 2005. Extraction of chitin and chitosan from shrimp (*Metapenaeus monoceros*) shell by chemical method.. *Pak. J. Biol. Sci.*, 8: 1051-1054.
- Nireesha, G. R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Babu, M. N., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/freeze drying-an review. *International journal of novel trends in pharmaceutical sciences*, 3(4), 87-98.

- O'Connor, I., & O'Brien, N. (1998). Modulation of UVA light-induced oxidative stress by β -carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. *Journal of Dermatological Science*, 16(3), 226-230.
- Olaizola, M., & Huntley, M. E. (2003). Recent advances in commercial production of astaxanthin from microalgae. *Biomaterials and Bioprocessing (Fingerman, M. and Nagabhushanam, R., eds) Science Publishers*.
- Orosa, M., Valero, J. F., Herrero, C., & Abalde, J. (2001). Comparison of the accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* and other green microalgae under N-starvation and high light conditions. *Biotechnology Letters*, 23(13), 1079-1085.
- Özogul, Y., & Özogul, F. (2007). Fatty acid profiles of commercially important fish species from the Mediterranean, Aegean and Black Seas. *Food Chemistry*, 100(4), 1634-1638.
- Packer, L., Witt, E. H., & Tritschler, H. J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free radical biology and medicine*, 19(2), 227-250.
- Panis, G., & Carreon, J. R. (2016). Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: a microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal research*, 18, 175-190.
- Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L., & Chew, B. P. (2010). Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 18.
- Perez Farfante, I. S. A. B. E. L., & Kensley, B. (1997). *Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera*. Editions du Muséum National d'Histoire Naturelle.
- Pico, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84-99.
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., ... & Ibáñez, E. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 245-253.
- Pragya, N., Pandey, K. K., & Sahoo, P. K. (2013). A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 24, 159-171.
- Preston-Thomas, H. (1990). The international temperature scale of 1990 (ITS-90). *metrologia*, 27(1), 3.
- Ragonese, S., Jereb, P., & Morara, U. (1997). Morphometric relationships of *Sphoeroides pachygaster* (Pisces-Tetraodontidae) of the strait of sicily (Mediterranean Sea). *Cahiers de Biologie marine*, (4).
- Rao, A. R., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2007). Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 957-965.

- Rao, A. R., Sindhuja, H. N., Dharmesh, S. M., Sankar, K. U., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2013). Effective inhibition of skin cancer, tyrosinase, and antioxidative properties by astaxanthin and astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(16), 3842-3851.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of food engineering*, 49(4), 311-319.
- Reichardt, C., & Welton, T. (2011). *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. John Wiley & Sons.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2006). Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*, 26(10), 1092-1098.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., Siddegowda, G. S., Sathisha, A. D., & Suresh, P. V. (2007). Recovery of carotenoids from ensilaged shrimp waste. *Bioresource technology*, 98(8), 1642-1646.
- Saldamlı, İ. (2007). *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Shimidzu, N., Goto, M., & Miki, W. (1996). Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries science*, 62(1), 134-137.
- Silow, C., Zannini, E., Axel, C., Belz, M. C., & Arendt, E. K. (2017). Optimization of Fat-Reduced Puff Pastry Using Response Surface Methodology. *Foods*, 6(2), 15.
- Smith, C. J., Lambropoulou, M., & PAPADOPOULOU, N. (1996). Megafaunal communities of the continental shelf and slope of the Cretan Sea. *CINCS: Pelagic-benthic coupling in the oligotrophic Cretan sea. Final report, MAST II project MAS-2-CT94-0092*, 187-204.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(7), 323-331.
- Stewart, J. S., Lignell, Å., Pettersson, A., Elfving, E., & Soni, M. G. (2008). Safety assessment of astaxanthin-rich microalgae biomass: Acute and subchronic toxicity studies in rats. *Food and chemical toxicology*, 46(9), 3030-3036.
- Storebakken, T., Sørensen, M., Bjerkeng, B., Harris, J., Monahan, P., & Hiu, S. (2004). Stability of astaxanthin from red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, during feed processing: effects of enzymatic cell wall disruption and extrusion temperature. *Aquaculture*, 231(1-4), 489-500.
- Suganya, T., & Renganathan, S. (2012). Optimization and kinetic studies on algal oil extraction from marine macroalgae *Ulva lactuca*. *Bioresource Technology*, 107, 319-326.
- Sun, H., Ge, X., Lv, Y., & Wang, A. (2012). Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography A*, 1237, 1-23.

- Topuz, O. K., Yerlikaya, P., Uçak, İ., Gümüş, B., Büyükbenli, H. A., & Gökoğlu, N. (2015). Influence of pomegranate peel (*Punica granatum*) extract on lipid oxidation in anchovy fish oil under heat accelerated conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 625-632.
- Torrissen, O. J. and Christiansen, R., (1995). Requirements for carotenoids in fish diets, *J. Appl. Ichtiol.*, 11: 225-230.
- Turkez, H., Geyikoglu, F., & Yousef, M. I. (2013). Beneficial effect of astaxanthin on 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced liver injury in rats. *Toxicology and industrial health*, 29(7), 591-599.
- Tume, R. K., Sikes, A. L., Tabrett, S., & Smith, D. M. (2009). Effect of background colour on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*): Effective method for improvement of cooked colour. *Aquaculture*, 296(1-2), 129-135.
- Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., & Karacabey, E. (2014). Mikrodalga destekli soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda*, 12(1), 20-28.
- Turujman, S. A., Wamer, W. G., Wei, R. R., & Albert, R. H. (1997). Rapid liquid chromatographic method to distinguish wild salmon from aquacultured salmon fed synthetic astaxanthin. *Journal of AOAC International*, 80(3), 622-632.
- Vercet, A., Sánchez, C., Burgos, J., Montañés, L., & Lopez Buesa, P. L. (2002). The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 53, 273-278. [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00165-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00165-0)
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.
- Yamashita, E. (2005). The effects of a dietary supplement containing astaxanthin on skin condition. *Food Style* 21, 9(9), 72.
- Yao, L., Gerde, J. A., & Wang, T. (2012). Oil extraction from microalga *Nannochloropsis* sp. with isopropyl alcohol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(12), 2279-2287.
- Yeh P-T, Huang H-W, Yang C-M, Yang W-S, Yang C-H (2016) Astaxanthin Inhibits Expression of Retinal Oxidative Stress and Inflammatory Mediators in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *PLoS ONE* 11(1): e0146438.
- Yeşilayer, N., Doğan, G., Erdem, M. (2008). Balık yemlerinde doğal karotenoid kaynaklarının kullanımı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 2(3), 241-251.
- Yuan, J. P., & Chen, F. (1997). Identification of astaxanthin isomers in *Haematococcus lacustris* by HPLC-photodiode array detection. *Biotechnology techniques*, 11(7), 455-459.
- Yuan, J. P., & Chen, F. (1998). Chromatographic separation and purification of trans-astaxanthin from the extracts of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3371-3375.

- Wambui, J. M., Karuri, E. G., & Wanyoike, M. M. (2017). Application of Response Surface Methodology to Study the Effects of Brisket Fat, Soy Protein Isolate, and Cornstarch on Nutritional and Textural Properties of Rabbit Sausages. *International journal of food science*, 2017.
- Wang, C., Armstrong, D. W., & Chang, C. D. (2008). Rapid baseline separation of enantiomers and a mesoform of all-trans-astaxanthin, 13-cis-astaxanthin, adonirubin, and adonixanthin in standards and commercial supplements. *Journal of Chromatography A*, 1194(2), 172-177.
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
- Wang, G., & Wang, T. (2012). Lipid and biomass distribution and recovery from two microalgae by aqueous and alcohol processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(2), 335-345.
- Wang, L., Yang, B., Du, X., & Yi, C. (2008). Optimisation of supercritical fluid extraction of flavonoids from *Pueraria lobata*. *Food chemistry*, 108(2), 737-741.
- Ziegler, T. (1991). Approximate density functional theory as a practical tool in molecular energetics and dynamics. *Chemical Reviews*, 91(5), 651-667.
- Zhang, B. Y., Geng, Y. H., Li, Z. K., Hu, H. J., & Li, Y. G. (2009). Production of astaxanthin from *Haematococcus* in open pond by two-stage growth one-step process. *Aquaculture*, 295(3-4), 275-281.
- Anonim 1: http://www.tuik.gov.tr/IcerikGetir.do?istab_id=1 [Son erişim tarihi: 19.11.2018].
- Anonim 2 : http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Kar%C4%B1%C5%9F%C4%B1mlar%C4%B1%20Ay%C4%B1rma.pdf [Son erişim tarihi: 18.11.2018].
- Anonymous 1: <https://www.realnatural.org/algae-nutrient-improves-cognition-and-may-provide-treatment-for-parkinsons-huntingtons-and-alzheimers/> [Son erişim tarihi: 11.11.2018].
- Anonymous 2: http://reliawiki.org/index.php/Response_Surface_Methods_for_Optimization [Son erişim tarihi: 20.11.2018].

ÖZGEÇMİŞ

Adem KAYA

ademkaya@akdeniz.edu.tr



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2014 – Devam Ediyor.	Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi
Lisans 2011-2014	Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi
Lisans 2007-2011	Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme Bölümü
Ön Lisans 1994-1997	Ankara Üniversitesi Çankırı MYO, Endüstriyel Elektronik

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Elektronik Teknikeri 2005 – Devam ediyor.	Akdeniz Üniversitesi Yapı İşleri Teknik Daire Başkanlığı
Elektronik Teknikeri 2000-2005	Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi