

İskenderun Körfezi'nden avlanan derin su pembe karidesi (*Parapenaeus longirostris*)'nin atıklarından elde edilen astaksantin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu

Extraction and characterization of astaxantin from the waste of deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) obtained from İskenderun Bay

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, düşük değerli bir hammadde olan karides atıklarından yüksek değerli bir pigment olan astaksantin izolasyonu için basit ve etkili bir yöntem önermektir. Bu çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak aseton kullanılmıştır. Thin Layer Chromatography (TLC) için mobil faz olarak 3/7 (v/v) oranında aseton/ hekzan kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örnekler *Parapenaeus longirostris* türüne ait olup İskenderun Körfezi (Türkiye)'nde faaliyette bulunan yerel balıkçılardan elde edilmiştir. Karides atıkları, buzla dolu steril bir kapta laboratuvara taşınmıştır. Karideslerin kullanılan atıkları sefalotoraks, abdomen ve abdominal uzantı (telson ve üropodlar) kısmıdır. Sefalotoraks'a yapışan etler temizlenmiş, atıklar su ile yıkanmış ve örnekler 50 °C' de etüvde kurutulmuştur. Polietilen torbalarla paketlenmiş ve kullanılıncaya kadar -18 °C'de saklanmıştır. Bu çalışmada astaksantin, organik çözücüler (petrol eteri ve aseton) kullanılarak karides kabuk atıklarından ekstrakte edilmiştir. Astaksantin pigmentinin karakterizasyonu, üç bant olarak serbest Astaksantin (Rf=0,43), Astaksantin monoester (Rf=0,56) ve Astaksantin diester (Rf=0,81) olarak tespit edilen Lorenz Todd standart kromatogramında belirtildiği Retardasyon faktörünü (Rf) karşılaştıran TLC ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Astaksantin, *Parapenaeus longirostris*, Aseton, TLC.

ABSTRACT

The aim of this study is to purpose a simple and effective method for the isolation of high-value pigment astaxanthin from shrimp waste, a low-value raw material. In this study, acetone was used as an extraction solvent. Mobile phase for Thin Layer Chromatography (TLC) was acetone:hexane in the ratio 3:7 (v/v). The samples used in the study belong to the *Parapenaeus longirostris* species and were obtained from local fishermen operating in the İskenderun Bay (Türkiye). Shrimp waste was transported to the laboratory in a sterile container filled with ice. The wastes used in shrimp are the cephalothorax, abdominal shell and tail portion. Adhering meat from the cephalothorax was removed and the waste was washed under water and samples were dried at 50 °C with drying oven. Packed in polyethylene bags and stored at -18 °C until use. In this study, astaxanthin was extracted from shrimp shell waste using organic solvents (petroleum ether and acetone). Characterization of astaxanthin pigment was performed with TLC buy comparing the Retardation Factor (Rf) as indicated in the Lorenz Todd standard chromatogram, in which three bands of astaxanthin (Rf=0.36), astaxanthin monoester (Rf=0.60) and astaxanthin diester (Rf=0.75) were detected.

Keywords: Astaxanthin, *Parapenaeus longirostris*, Aceton, TLC

Research Article

Çiğdem Dikel^{1a}
Yasemen Yanar^{2b}
Onur Demirkol^{3c}

¹Biotechnology Application and Research Center, Çukurova University, Adana, Türkiye

²Faculty of Fisheries, Çukurova University, Adana, Türkiye

³Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Çukurova University, Adana, Türkiye

ORCID-

^a[0000-0002-5533-8899](https://orcid.org/0000-0002-5533-8899)

^b[0000-0002-7677-7727](https://orcid.org/0000-0002-7677-7727)

^c[0000-0002-0720-2735](https://orcid.org/0000-0002-0720-2735)

Correspondence

Çiğdem DİKEL
atlasdikel01@gmail.com

Article info

Submission: 13-09-2021

Accepted: 30-07-2022

Online First: 20-08-2022

Publication: 31-08-2022

e-ISSN: 2548-1150

doi prefix: 10.31797/vetbio

• <http://dergipark.org.tr/vetbio>

This work is licensed under a
Creative Commons Attribution 4.0

International License



How to cite this article

Dikel, Ç., Yanar, Y., Demirkol O. (2022). Extraction and characterization of astaxantin from the waste of deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) obtained from İskenderun Bay. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 7(2), 228-232.
<https://doi.org/10.31797/vetbio.994594>

GİRİŞ

Karides ve karides ürünleri tüm dünyada yaygın olarak tüketilmekte ve yüksek besin değeri nedeniyle talep her geçen yıl artmaktadır (Nirmal, vd., 2020). Küresel karides üretimi 2020'de 5,03 milyon tondur ve 2020'den 2025'e kadar %6,1'lik yıllık birleşik büyüme oranı ile (CAGR) 7,28 milyon tona çıkması beklenmektedir (IMARC, 2020). Ayrıca karides pazarı ciro değerinin 2025 yılı sonunda 67,6 milyar ABD dolarına ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonim, 2019.).

Genellikle karidesler, piyasa talebine göre kabuklu veya kabuksuz olarak donmuş halde depolanır ve ihraç edilir. Bu nedenle, karides işleme sırasında, karidesin yaklaşık %50-60'ı baş, iç organ ve kabuk şeklinde atık olarak kabul edilir (Senphan vd., 2012). Bu yan ürünün büyük miktarları boşa harcanmakta ve bu da değerli biyoaktif bileşenlerin kaybına ve çevre kirliliğinin artmasına neden olmaktadır. Biyoaktif moleküllerin atıklardan geri kazanılması, karides işleyicilerin ve ülkenin ekonomisi için faydalı olacaktır. Bu aynı zamanda karides atıklarının boşaltılmasından kaynaklanan çevre kirliliğinin azaltılmasına da yardımcı olacaktır (Nirman, vd., 2020).

Karides atıkları, protein/peptidler (Cahú vd., 2012), kitin/kitosan (Paul vd., 2015), pigmentler (Sila, Ghilissi, vd., 2015), enzimler (Senphan vd., 2014), lipidler (Senphan ve Benjakul, 2012), mineraller (Gomez-Estaca vd., 2019) ve vitaminler (Nair vd., 2017) gibi değerli biyoaktif bileşenleri içermektedir.

Günümüzde her yıl büyük miktarlarda karides kabuğu (neredeyse karides ağırlığının %60'ı kadar) atık olarak kaybedilmektedir. Bunlar göz önüne alındığında tüm dünyada modern eğilimler geri dönüşümü işaret etmektedir. Ancak karides atıklarının arıtılması kolay bir iş değildir ve gıda endüstrisinin

problemlerinden biridir. Bu problemlerin çözümü ile elde edilen karotenoidler çok değerli bileşiklerdir. En önemli, ucuz, doğal karotenoid kaynakları olan astaksantin ve esterleri endüstriyel karotenoidlere iyi bir alternatiftir (Islam vd., 2004; Sindhu ve Sherief, 2011).

Astaksantin sekiz izopren, C₅H₈ molekülünden oluşan tetraterpenoidler; başlangıç öncüsü olarak izopentenil difosfat (veya IPP) ve dimetilalil difosfat (veya DMAPP) olarak bilinen fitokimyasallar sınıfına ait bir karotenoiddir.

Astaksantin denizel organizmalarda ve mikroorganizmalarda çok yaygın bulunan, çok güçlü bir antioksidan ve anti-lipit peroksit olan kırmızı renkli Ksantofiller grubundaki karotenoidlerdir. Ksantofiller arasında astaksantin, iyonon halkalarının her iki ucundaki oksijen içeren fonksiyonel gruplarıyla tanımlanır. Astaksantin, stereo izomerlerde bulunur ve yapısında bu pigmentin renginden sorumlu olan konjuge çift bağa sahip olduğu geometrik izomerlerin sayısıdır (Chesson. vd., 1997). Birçok karotenoid gibi, astaksantin de renkli, lipide çözünen bir pigmenttir. Renk, bileşiğin ortasındaki genişletilmiş konjuge (alternatif çift ve tek) çift bağ zincirinden kaynaklanmaktadır. Bu konjuge çift bağlar zinciri aynı zamanda astaksantin (ve diğer karotenoidlerin) antioksidan özelliklerinden de sorumludur (Margalith, 1999; Choi vd., 2005).

Astaksantin mikroalg, maya, somon, alabalık, kril, karides, kerevit, kabuklular ve bazı kuşların tüylerinde bulunur. Somon etinin ve pişmiş kabuklu deniz hayvanlarının kırmızı rengi bu pigmentten kaynaklanmaktadır (Ambati, vd., 2014).

Astaksantin ve esterleri gıda endüstrisine, yem endüstrisine, kozmetik ve renklendirici maddeye girer ve doğal metabolik reaksiyonlar, fizyolojik stres, hava kirliliği, tütün, duman, kimyasallara maruz kalma veya UV ve ışığa

maruz kalma sırasında vücutta üretilen insan sağlığı sorunlarının çoğunun tedavisinde rol oynar.

Karides kabuğu atıklarının etkin kullanımı, yan etkisi olmayan doğal ilaçların geliştirilmesi için biyomedikal bir araştırma materyali olma potansiyeline sahiptir.

Farklı kabukluların kabuk atıklarından elde edilecek karotenoidlerin ekstraksiyonu için çözücü olarak birkaç organik çözücü rapor edilmiştir. Karotenoidlerin ekstraksiyonu için aseton, etanol, hekzan gibi organik çözücüler kullanılabilir. Bu çalışma, karides atıklarının tam olarak değerlendirilmesini ve katma değer elde edilmesini amaçlamaktadır. Bilim adamları ve mühendisler için katma değerli ürünler için karides atıklarını kullanmanın yeni yolunu açması hedeflenmektedir. Ayrıca bu bilgiler biyoteknoloji ve endüstriyel personelin sürdürülebilir çevresel kalkınma için karides işleme atıklarından yararlanmaları için faydalı olacaktır. Yeni ekstraksiyon yöntemleri yalnızca yeni bir astaksantin kaynağına erişme olasılığını değil aynı zamanda her yıl atılan binlerce ton karides atığının çevre dostu bir kullanımını bulma olasılığını da artırmaktadır.

MATERYAL ve METHOD

Çalışmada kullanılan örnekler *Parapenaeus longirostris* türüne ait olup, İskenderun Körfezi/ Kuzeydoğu Akdeniz/ Türkiye' de faaliyet gösteren yerel balıkçılardan alınmıştır. Karides atıkları, buzla dolu steril bir kaptan laboratuvara taşınmıştır. Karideste kullanılan atıklar sefalotoraks, abdomen ve abdominal uzantı (telson ve üropodlar) kısmıdır. Sefalotoraksa yapışan etler temizlenerek kabuklar akan temiz su altında yıkanmıştır. Örnekler kurutma fırını ile 50°C'de kurutulmuştur. Polietilen torbalarda paketlenmiş ve kullanılıncaya kadar -18°C'de saklanmıştır.

Astaksantin Pigmentinin Ekstraksiyonu

Karides kabuğu atığı (1gr), 10 ml aseton kullanılarak öğütülmüştür. Ekstrakt filtre kağıdı

(Whatmann) kullanılarak süzümüştür. Örnek tekrar tekrar ekstrakte edilmiş ve renksiz bir filtrat elde edilene kadar taze çözücüyle çözülmüştür. Biriken ekstrakt ayrı konik bir şişede toplanmış ve üzerine 12,5 ml petrol eteri (BP 40-60°C) ve 9,4 ml NaCl ilave edilmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra epifaz toplanmıştır. Alt faza eşit miktarda su ilave edilmiş, iyice karıştırılmış ve daha sonra tekrar epifaz toplanmıştır. Biriktirilen epifaz, petrol eterinin buharlaştırılması için 60°C'de su banyosuna tutulmuştur (Ushakumari, vd., 2012).



Şekil 1. Astaksantin pigmenti ekstraktı

İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile Karides Kabuğu Atık Ekstraktında Astaksantin Tanımlanması

Karides kabuğu ekstraktındaki farklı bileşenlerin analizi, Kobayashi ve Sakamoto, 1999 yöntemine dayalı olarak TLC kullanılarak yapılmıştır. Küçük bir miktar ekstrakt silika kaplı alüminyum levhalar üzerine lekelenmiş ve 3:7 oranında hazırlanmış aseton:hekzan kullanılarak yürütülmüştür. Ayrılan bantlar, astaksantin monoester ve astaksantin diester için uluslararası kabul görmüş Rf değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Rf değeri (Geciktirme Faktörü) TLC'deki herhangi bir çözünen noktanın konumu, Retardasyon faktör olarak karakterize edilir.

Örnekler kurutulmuş, ardından görünen noktaların her biri tarafından kat edilen mesafe ve çözücü tarafından kat edilen mesafe

kullanılarak Rf değeri hesaplanmıştır. Rf= (Ekstraktın kat ettiği mesafe) / (Çözücünün kat ettiği mesafe)



Şekil 1. Parapenaeus longirostris ekstraktındaki farklı karotenoidlerin ayrılması ve Rf değerleri

BULGULAR

Tespit edilen astaksantin detayları Tablo 1'de tartışılmıştır. Astaksantin diesterin Rf değeri 0,81 ve monoester için 0,56, astaksantin için 0,43 olarak kaydedilmiştir.

Tablo 1. Karotenoidin Rf değerleri

Karotenoid	*Rf değeri
Astaksantin diester	0,81
Astaksantin monoester	0,56
Astaksantin	0,43

*Rf: Retardasyon Faktörü

TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalar, doğal astaksantin güçlü bir nutrasötik ve terapötik potansiyeli olduğunu göstermiştir. Güçlü antioksidan ve diğer biyoaktif özellikleri (anti-inflamatuar, sitotoksik, antiproliferatif ve antikanser aktivitesi) ve ayrıca uygun güvenlik profili, astaksantini farklı sağlık sorunlarını önleme hatta tedavi etme kabiliyetine sahip umut verici bir bileşik haline getirir. Birçok çalışma, kabuklu yan ürünlerinin farklı

kısımlarından astaksantin mevcudiyetinin kanıtlamaktadır. Ana zorluk, üretim sürecinin bilinmeyen maliyetinin yanı sıra yan ürünlerden elde edilen miktarlar hakkında bilgi eksikliğidir. Ayrıca endüstriyel düzeyde çıkarma metodolojilerinin başarılı bir şekilde geliştirilmesi için ele alınması gereken zorluklar vardır. Ekstraksiyon işlemleri sırasında, işlemin fizibilitesinin yanı sıra astaksantin ekstraktının kalitesi de ele alınmalıdır. Yağda çözünen bir madde olduğu için herhangi bir yağ veya aseton, alkol vb. organik çözücüler kullanılarak ekstrakte edilebilir. Karotenoidin karides atıklarından izolasyonu için organik çözücü kullanımı yüksek verim sağlamaktadır.

Astaksantin monoester ve astaksantin diester için elde edilen Rf değerleri, astaksantin monoester için 0,60 ve astaksantin diester için 0,75 – 0,85 olarak belirtilen Rf değerlerine sahip Kobayashi ve Sakamoto (1999) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumlu olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Dalei ve Sahoo (2022) tarafından aseton ekstraktının Rf değerleri astaksantin, astaksantin monoester ve astaksantin diester için sırasıyla 0,36; 0,60 ve 0,75 olarak bulunmuştur.

SONUÇ

Su ürünleri endüstrilerinden gelen kabuklu kabuk atıkları, astaksantin gibi doğal karotenoid gibi önemli biyoaktif bileşiklerin izolasyonu için kullanılabilir. Yapılan bu çalışmada aseton, organik çözücüler arasında astaksantin için iyi bir ekstraksiyon ortamı olmuştur. TLC ayrımı, kabuklu atıklardan elde edilen karotenoid ekstraktının astaksantin, astaksantin mono ve diester içerdiğini doğrulamıştır.

AÇIKLAMALAR

Bu çalışma 23-27 Ağustos 2021 tarihinde Saraybosna/Bosna Hersek'te düzenlenen 5. ICABB (5th International Congress on Advances in

Bioscience and Biotechnology) Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Etik beyan: Bu çalışmada canlı materyal üzerinde çalışılmamıştır.

Çıkar çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Ambati, R. R., Siew Moi, P., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014).** Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- Cahú, T. B., Santos, S. D., Mendes, A., Córdula, C. R., Chavante, S. F., Carvalho Jr, L. B., Nader, H. B & Bezerra, R. S. (2012).** Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*, 47(4), 570-577.
- Chesson, A., & Collins, A. (1997).** Assessment of the role of diet in cancer prevention. *Cancer letters*, 114(1-2), 237-245.
- Choi, S., & Koo, S. (2005).** Efficient syntheses of the keto-carotenoids canthaxanthin, astaxanthin, and astacene. *The Journal of organic chemistry*, 70(8), 3328-3331.
- Dalei, J., & Sahoo, D. (2022, January).** Extraction and characterization of astaxanthin from the crustacean shell waste from shrimp processing industries. In International Conference on Public Health and Medical Sciences.
- Gómez-Estaca, J., Alemán, A., López-Caballero, M. E., Baccan, G. C., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2019).** Bioaccessibility and antimicrobial properties of a shrimp demineralization extract blended with chitosan as wrapping material in ready-to-eat raw salmon. *Food chemistry*, 276, 342-349.
- IMARC. (2020).** Shrimp market: Global industry trends, share, size, growth, opportunity and forecast 2020-2025. USA: IMARC group.
- Kobayashi, M., & Sakamoto, Y. J. B. L. (1999).** Singlet oxygen quenching ability of astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Letters*, 21(4), 265-269.
- Margalith, P. Z. (1999).** Production of ketocarotenoids by microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(4), 431-438.
- Marketstudyreport. (2019).** Global shrimp market research report 2019. USA.
- Nair, S., Gagnon, J., Pelletier, C., Tchoukanova, N., Zhang, J., Ewart, H. S., Ewart, K. V., Jiao, G & Wang, Y. (2017).** Shrimp oil extracted from the shrimp processing waste reduces the development of insulin resistance and metabolic phenotypes in diet-induced obese rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 42(8), 841-849.
- Nirmal, N. P., Santivarangkna, C., Rajput, M. S., & Benjakul, S. (2020).** Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 20-35.
- Paul, T., Halder, S. K., Das, A., Ghosh, K., Mandal, A., Payra, P., Barman, P., Mohapatra, P.K.D., Pati, B.R., & Mondal, K. C. (2015).** Production of chitin and bioactive materials from Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) shell waste by the treatment of bacterial protease cocktail. *3 Biotech*, 5(4), 483-493.
- Senphan, T., & Benjakul, S. (2012).** Compositions and yield of lipids extracted from hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by prior autolysis. *Food Chemistry*, 134(2), 829-835.
- Senphan, T., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2014).** Characteristics and antioxidative activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases. *Food Bioscience*, 5, 54-63.
- Sila, A., Ghlissi, Z., Kamoun, Z., Makni, M., Nasri, M., Bougatef, A., & Sahnoun, Z. (2015).** Astaxanthin from shrimp by-products ameliorates nephropathy in diabetic rats. *European journal of nutrition*, 54(2), 301-307.
- Sindhu, S., & Sherief, P. M. (2011, August).** Extraction, characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of carotenoids from the shell waste of arabian red shrimp *Aristeus alcocki*, ramadan 1938. In The open Conference proceedings journal (Vol. 2, No. 1).
- Ushakumari, U. N., & Ramanujan, R. (2012).** Astaxanthin from shrimp shell waste. *International journal of pharmaceutical chemistry research*, 1(3), 1-6.