



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2010; 25 (1): 17 - 21
http://www.fusabil.org

Farklı Oranlardaki Sentetik β -Karotenin Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) Filetolarında Kas Karotenoid Stabilitesi ve Lipid Peroksidasyon Düzeyine Etkileri

Özlem EMİR ÇOBAN
Gülüzar TUNA KELEŞTEMUR

Fırat Üniversitesi, Su
Ürünleri Fakültesi,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada, rasyonlarına farklı oranlarda (kontrol, 30 mg/kg, 70 mg/kg) β -karoten katılarak renklendirilen gökkuşağı alabalığı filetoları -18°C 'de 6 ay süreyle muhafaza edilmiş ve aylık olarak β -karoten ve lipid peroksidasyon miktarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. β -karoten miktarı spektrofotometre, lipid peroksidasyon düzeyi ise HPLC ile tespit edilmiştir. Besleme sonucu en fazla renklenme 70 mg /kg β -karoten içeren grupta görülmüştür. Ancak yine bu grupta muhafaza süresince önemli düzeyde ($p<0,05$) renk kayıpları gözlenmiş ve 2. aydan itibaren lipid peroksidasyon üzerinde 70 mg /kg β -karotenin önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: β -Karoten, *Oncorhynchus mykiss*, Lipid peroksidasyon, Spektrofotometre, HPLC.

Effect of Synthetic β -Carotene at Different Rates on the Levels of Lipid Peroxidation and Muscle Carotenoid Stability of the Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) Fillets

In this study, the diets of different ratios (0 mg/kg, 30 mg/kg, 70 mg/kg β -carotene) of rainbow trout filets coloured with β -carotene were storage of -18°C for 6 months period and monthly changes in the amount of β -carotene and lipid peroxidation were investigated. The amount of β -carotene was determined with spectrophotometer while the level of lipid peroxidation was determined by HPLC. The maximum coloration at the end of feeding was observed in 70 mg/kg β -carotene group. However, significant ($p<0.05$) colour losses were observed in this group during storage period it was observed that from the second month 70 mg/kg β -carotene has not got an important effect on lipid peroxidation level ($p>0.05$).

Keywords: β -Carotene, *Oncorhynchus mykiss*, Lipid Peroxidation, Spectrophotometer, HPLC.

Giriş

Balık etinin rengi ve kalitesi, tazelikten sonra tüketicinin seçimini etkileyen en önemli kalite kriterlerinden biridir. Özellikle alabalıklarda et rengi ürünün pazar arzını önemli oranda etkilemektedir. Doğal ortamda yetişen alabalıklar pembe-kırmızı et rengine sahip oldukları için tüketici, kültüre alınan alabalıklarda da pembe-kırmızı rengi aramakta ve bu ürünleri daha çok tercih etmektedir. Balık rasyonlarında pazar problemini yaşatmayacak renk maddelerinin uygun şekilde kullanılması, su ürünlerinde başarılı olmanın şartlarından biridir (1-3).

Doğal ortamda yetişen balıkların rengi besinlerini oluşturan planktonik organizma ve krustaselerden kaynaklanmaktadır. Doğada yetişen balıklarda olduğu gibi kültür balıklarında istenen renklenme, yemlere ilave edilen doğal ve sentetik renk maddeleri ile elde edilebilmektedir (4, 5). Rasyonlara katılan karotenoidler, çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olan balıkların dokularında oksidasyon sonucu oluşan lipid peroksidasyonun önlenmesinde A, C, E vitaminlerinin yanı sıra hem antioksidan vitamin olarak hem de renk maddesi olarak kullanılan önemli katkı maddeleridir (6).

Pazara sunulan alabalıklar taze olarak tüketildiği gibi, derin dondurucularda bir süre muhafaza edildikten sonra da tüketilmektedir. Soğuk muhafaza sırasında, sıcaklığa, muhafaza süresine ve paketieme tekniğine bağlı olarak karotenoid kayıpları görülmektedir (7-10). Bu pigmentlerin bozulması durumunda balıktaki kırmızı renklenme kaybolmakta ve balığın pazar arzı ve değeri düşmektedir. Bu nedenle doğal veya yapay olarak renklenmiş alabalık filetosundaki karotenoidin stabilizasyonu önemlidir (11, 12).

Karotenoid pigmentlerinin bozulma hızı; muhafaza süresi, oksijen ve ışık varlığına bağlı olduğu belirlenmiştir. En düşük etki oksijen iken en etkili faktörün muhafaza süresi olduğu saptanmıştır (13).

Geliş Tarihi : 17.12.2010
Kabul Tarihi : 14.02.2011

Yazışma Adresi Correspondence

Özlem Emir ÇOBAN
Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Elazığ - TÜRKİYE

oecoban@firat.edu.tr

Rasyondaki karotenoidin doz ve zamana bağlı olarak balık etinde ne oranda renklenme sağladığı, muhafaza süresince karotenoidlerin fileto doza bağlı olarak nasıl değiştiği ve ilave edilen sentetik karotenin lipid peroksidasyon üzerinde ne derecede etkili olduğunun araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla bu çalışmada, rasyonlarına iki farklı oranda sentetik β -karoten ilave edilen gökkuşaağı alabalıklarının muhafaza süresince kas karotenoid stabilitesi ve lipid peroksidasyon değişimleri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Deneme Yeri ve Deneme Kafesleri: Deneme, Keban Baraj Gölü 3. avlak sahasında kafes yetiştiriciliği yapan özel bir tesise ait yetiştiricilik ünitesinde yürütülmüştür. Denemede, göz açıklığı 8 mm, torba derinliği 7 m ve çapı 11 m olan 3 adet yuvarlak kafes kullanılmıştır. Kafesler karadan yaklaşık 100 m uzaklıkta ve 22 m derinlikte olacak şekilde yerleştirilmiştir.

Balık ve Yem Materyali: Denemede, Keban Baraj Gölü'nde alabalık yetiştiriciliği yapan özel bir firmadan temin edilen ortalama canlı ağırlığı $60,3 \pm 0,27$ g ve ortalama uzunluğu $17,24 \pm 0,04$ cm olan 189 adet gökkuşaağı alabalığı kullanılmıştır. Araştırmada diyetle 30 mg/kg düzeyinde β -karoten ilavesinin yapıldığı β_{30} grubu, diyetle 70 mg/kg düzeyinde β -karoten ilavesinin yapıldığı β_{70} grubu ve β -karoten ilavesinin yapılmadığı kontrol (K) grupları oluşturulmuştur. Araştırma diyetlerinde kullanılan balık unu, soya küspesi, buğday unu ve antioksidan, Köy-Tur Yem Fabrikasından, mineral ve vitamin karması Roche firmasından, β -karoten (Rovimix β -Karoten, %10) DSM Besin Maddeleri Ltd. şirketinden, bitkisel yağ ise marketten temin edilmiştir. Araştırma diyetleri bazı araştırmacıların çalışmaları (14, 15), kontrol diyeti ise Elazığ Yem Fabrikası tarafından üretilmekte olan alabalık büyüme yemi göz önüne alınarak oluşturulmuştur. Araştırma diyetlerinin yapısına giren yem maddelerinin bileşimi ve ham besin madde düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Araştırma diyetlerinin yapısına giren yem maddelerinin bileşimleri, ham besin madde ve β -karoten düzeyleri.

Yem Maddeleri	Kontrol	β_{30}	β_{70}
Balık unu	50,0	50,0	50,0
Soya küspesi	23,0	23,0	23,0
Buğday unu	19,895	19,898	19,892
Bitkisel yağ	6,00	6,00	6,00
Beta-karoten	0	0,003	0,007
Antibiyotik ^(a)	0,10	0,10	0,10
Vitamin karması ^(b)	0,90	0,90	0,90
Mineral karması ^(c)	0,10	0,10	0,10
Rasyonların Ham Besin Madde Düzeyleri (%) ve β -karoten miktarları			
Ham Protein	44,66	44,35	45,75
Ham Yağ	8,95	9,45	9,28
Ham Selüloz	4,08	4,24	4,52
Ham Kül	14,47	14,82	15,34
Azotsuz Öz Madde	23,67	24,53	26,7
Nem	7,76	8,23	7,25
Toplam Enerji (kkal/kg)	3630,55	3635,34	3635,67
β -karoten (mg/kg)	3,42	34,13	73,25

(a) Butilen Hydroxytoluene (BHT); 125.000 mg/ kg

(b) Vitamin Karması (mg/kg); Menadion 3.000, Riboflavin 6.000, Pridoksin 5.000, kobalamin 15, Askorbik asit 150.000, Niasin 25.000, Biotin 40, Folik asit 1.000, Kolin klorid 300, Kalsiyum D-pantothenat 8.000, Kalsiferol 2.000.000 IU E vitamini.

(c) Mineral Karması (mg/kg); Mn 80.000, Fe 35.000, Zn 50.000, Cu 5.000, I 2.000, Co 400, Se 150.

Deneme Süresi ve Planı: Çalışma 01.05.2009-01.08.2009 tarihleri arasında yürütülmüştür. Denemede 3 adet kafese 63'er adet balık olacak şekilde konulan gökkuşaağı alabalıkları, günde üç kez (sabah, öğlen ve akşam) yemlenmiştir. Balıklara verilen yem miktarı, öğün sayısı, su sıcaklığı ve balık büyüklüğü dikkate alınarak belirlenmiştir (16).

Günlük Yem Miktarı (GYM) = Yemleme Katsayısı (YK) x Toplam Balık Ağırlığı / 100

YK= Su Sıcaklığı/10

Fileto Karotenoid Ölçümü: Çalışmada her bir tekerrürde 63 adet olmak üzere toplam 189 adet gökkuşaağı alabalığı kullanılmıştır. Başlangıçtaki karotenoid miktarlarını tespit etmek için her gruptan 3'er adet balık tesadüfi olarak alınmış ve fileto haline getirildikten sonra hemen β -karoten analizine (başlangıçtaki β -karoten miktarı) tabi tutulmuştur. Diğer balıklar ise yine tesadüfi olarak seçildikten sonra strafor kutulara yerleştirilmiş ve LLDPE (linear low-density polyethylene) sarılarak -18 °C'de analiz günlerine kadar muhafaza edilmiştir. Filetodaki karotenoid ölçümü aylık

olarak yapılmıştır. Analizler 3 paralelli olarak yürütülmüştür.

Filetoda karotenoid ölçümü: 0.5-1 g kadar fileto örneği alınarak 15 ml'lik deney tüplerine konulmuştur. Alınan örnekler mikserle kıyılmıştır. Kıyılan örneğin üzerine 0.2 g susuz NaOH (sodyum hidroksit) ve 50 ml aseton ilave edilerek cam baget yardımı ile karıştırılmıştır. Bir müddet sonra renklenen aseton alınıp üzerine 50 ml daha aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Asetonla ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra, rengin etten asetona tam olarak geçebilmesi için yaklaşık 2-3 gün +4°C'de buzdolabında bekletilmiştir. Asetona geçen karotenoidin ışıktan etkilenmemesi için tüplerin etrafı alüminyum folyo ile sarılmıştır. Buzdolabından çıkan çözeltiler, 5000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Örneklerin spektrofotometrede okunmasında, kontrol çözelti olarak aseton kullanılmıştır (12). Deney çözeltilerinin spektrofotometrede maksimum absorpsiyonları veren dalga boyu, 475 nm olarak belirlenmiştir. Total karotenoidlerin hesaplanmasında, 475 nm'de, 1 cm'lik küvetteki teorik ekstrüksiyonu 2200 (molar absorblama katsayısı) olarak alınmıştır. Kasdaki toplam karotenoid miktarlarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır (17).

$$C(mg/kg) = \frac{A_{475nm} \times V_{ekstrat}}{E_{1cm}^{1\%} \times W} \times 1000$$

($C(mg/kg)$): toplam karotenoid konsantrasyonu,

A_{475nm} : 475 nm'de okunan absorpsiyon değeri, V (ml):

ekstrat hacmi, $E_{1cm}^{1\%}$: molar absorblama katsayısı,

W (g): ekstrakte edilen doku miktarı).

Kas Dokusunda Lipid Peroksidasyon Tespiti:

Filetoda alınan 1g doku örneği homojenizatör de iyice karıştırılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra 0,3 ml'lik tüplere alınarak üzerine 300 ml perklorik asit ve 300 ml saf su ilave edilmiş ve vortex ile karıştırılmıştır. Karışım 3500 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Bu çözeltilerden 20 μ l alınıp, 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1.5 ml/dk'ya ayarlanan mobil faz HPLC (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edilmiştir. Cihaz verileri alınarak sonuçlar tespit edilmiştir (18).

İstatistiksel Analiz: Bu çalışmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanılmıştır. Ortalamaların ayrıştırılması, Fisher'in Least Significance Difference (LSD) metodu kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde 0,05'lik önem düzeyi ($p < 0,05$) olarak dikkate alınmıştır. Bütün analizler Statistical Analysis System (SAS) programından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir (19).

Bulgular

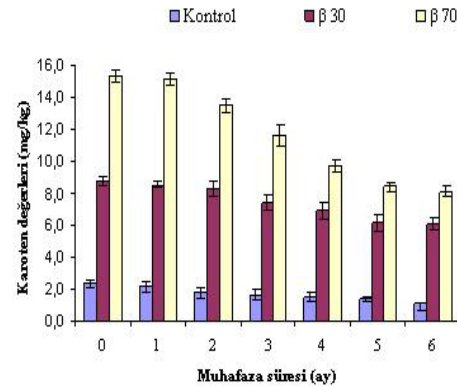
Bu çalışmada, rasyonlarına iki farklı oranda β -karoten katılarak renklendirilen gökkuşuğu alabalığı filetolarının -18 °C'de muhafazası esnasında β -karoten miktarlarında ve lipid peroksidasyon düzeylerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. 3 aylık besleme sonunda elde edilen ilk ölçümlerde, β -karoten ilave edilmeyen (kontrol) gruptaki balıkların et rengi 2,33 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler sonucu yemlerine β -karoten ilave edilen gruplardaki (30 mg/kg, 70 mg/kg) balıkların et renginde ise kontrol grubuna göre sırasıyla 3,77 ve 6,57 kat artış kaydedilmiştir. Muhafaza süresince β -karoten miktarında meydana gelen değişimler metot bölümünde belirtilen formüle göre hesaplanmış ve Tablo 2- Şekil 1'de verilmiştir.

Tablo 2. Alabalık Filetolarının Aylık Muhafaza Sürelerinde Total Karotenoid Miktarlarındaki Değişimler (mg/kg)

Filetoların Muhafaza Süresi	Karotenoid Ölçümü (mg/kg)		
	Kontrol	β_{30}	β_{70}
Başlangıçta (0. ay)	2,33±0,26 ^{ax}	8,79±0,29 ^{bx}	15,33±0,41 ^{bx}
1.ay	2,14±0,30 ^{ax}	8,54±0,24 ^{bx}	15,14±0,35 ^{bx}
2. ay	2,76±0,41 ^{ax}	8,28±0,49 ^{bx}	13,52±0,41 ^{bx}
3.ay	2,64±0,68 ^{ax}	7,38±0,51 ^{byz}	11,64±0,68 ^{by}
4.ay	2,52±0,39 ^{ax}	6,87±0,53 ^{bz}	9,76±0,39 ^{bz}
5.ay	2,41±0,34 ^{ax}	6,11±0,54 ^{bz}	8,41±0,34 ^{bz}
6.ay	2,11±0,36 ^{ax}	6,05±0,41 ^{bz}	8,09±0,36 ^{bz}

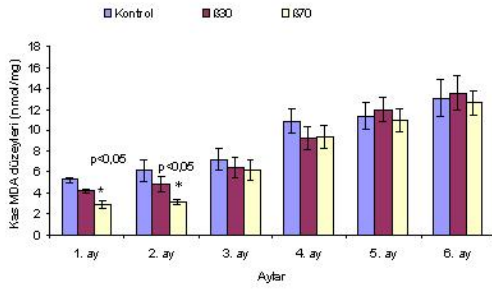
x, y, z : Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$)

a, b: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$)



Şekil 1. Alabalık Filetolarının Aylık Muhafaza Sürelerinde Total Karotenoid Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler (mg/kg) (β_{30} : 30 mg/kg β -karoten ilaveli, β_{70} : 70 mg/kg β -karoten ilaveli)

Araştırma gruplarında gökkuşuğu alabalığı filetolarının 6 aylık muhafaza süresince aylık olarak kas dokusundaki MDA düzeyleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Kontrol, β 30 ve β 70 gruplarındaki balıkların kas dokularına ait MDA düzeyleri (nmol/mg). (Değerler \pm Standart sapma olarak verilmiştir, n=15, * Kas dokularına ait MDA düzeyleri arasında önemlilik düzeyi ($p < 0,05$).

Tartışma

β -karoten miktarı kontrol grubunda başlangıçta $2,33 \pm 0,26$ mg/kg iken, bu değer 6. ayın sonunda $1,11 \pm 0,48$ mg/kg'a düşmüştür. β -karoten miktarındaki bu azalma istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur. Kontrol grubu değerleri Ergün ve Erdem (20)'in bildirdiği değerlerden yüksektir. Bu farklılık deneysel koşulların farklılığı ile açıklanabilir.

Rasyonlarına 30 mg/kg β -karoten ilave edilen grupta başlangıçta $8,79 \pm 0,29$ mg/kg olan karoten miktarı muhafaza sonunda $6,05 \pm 0,41$ mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu grupta başlangıçta ölçülen değer ile muhafazanın 3. ayından sonraki değerler arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar ($p < 0,05$) saptanmıştır. Alabalık filetolarında oluşan bu pigment kayıplarının renk kalitesine yansımalarının görsel olarak tüketici tercihini etkileyecek boyutta olmadığı belirlenmiştir.

β -karoten ilaveli diğer deneysel grubun (70 mg/kg β -karoten) başlangıçtaki karoten miktarı $15,33 \pm 0,41$ mg/kg olup, yine bu grupta da muhafaza süresine bağlı olarak karoten miktarlarında azalmalar görülmüştür ($p < 0,05$). -18 °C'de 6 aylık muhafaza süresince bu grupta, karoten miktarındaki azalma diğer gruplara göre daha fazla olmuştur. Gruplar arası değerlendirilmede kontrol grubu ile deneysel diğer gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda, iki farklı oranda β -karoten içeren rasyonla 3 ay beslenen alabalık filetolarının başlangıçtaki karoten miktarlarının Foss ve ark. (21), Iwamoto ve ark. (22)'nin belirttiği değerlerden yüksek, ancak Torissen ve ark. (3), Yanar ve ark. (12)'nin bildirdiği değerlerle uyumlu olduğu saptanmıştır.

Yanar ve ark. (12), 100 mg/kg astaksantin içeren diyetle 60 gün beslenen alabalık filetolarını derin dondurucuda muhafaza etmiş ve muhafazanın 2., 4. ve 6. aylarında karotenoid miktarlarındaki değişimleri incelemişlerdir. Bu araştırma sonuçlarına göre muhafaza süresince karotenoid miktarlarında azalmalar görülmüş ancak bu azalmanın önemli düzeyde olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Morais ve ark. (13), karotenoid pigmentlerin bozulma hızının; depolama süresi, oksijen

ve ışık varlığına bağlı olduğunu saptamışlardır. Pozo ve ark. (9) ise, -12 °C' ve -30 °C'de muhafazada, filetolarda renk tonlarında açılmanın olduğunu bildirmişlerdir.

-18 °C'de muhafaza sırasında karotenoidlerdeki bu kayıpların; proteinlerin donma esnasında denatüre olmaları ve hücre içi sıvıların serbest kalmaları nedeniyle karotenoidlerin suya maruz kalmaları ile açıklanmaktadır (14).

Torrissen ve ark. (2), Salmonid türü balıkların etinde 3-4 mg/kg karotenoid konsantrasyonunun yeterli olabileceğini ancak, muhafaza ve işleme esnasında karotenoid kaybının olacağını ve bu nedenle balık etinde istenen rengi sağlayabilmek için karotenoid konsantrasyonunun 4 mg/kg üzerinde olması gerektiğini bildirmektedir. Araştırma bulgularımız dikkate alındığında deneysel gruplarda -18 °C'de muhafaza süresince β -karoten miktarının belirtilen konsantrasyonlarda olduğu görülmektedir.

Çalışma sonuçlarımızda meydana gelen farklılıkların, deneysel koşulların, muhafaza sıcaklığının, muhafaza süresinin, paketlenme şeklinin, kullanılan β -karoten konsantrasyonunun farklılığından kaynaklandığı söylenilebilir.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır (23). Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerin aldehitler, hidrokarbonlar ve hidroperoksitler gibi istenmeyen ürünlere dönüşmesi ile sona ermektedir. Balık etinde bozulmanın bir göstergesi olarak da ifade edilmektedir (24).

MDA düzeylerinin 1. ve 2. ayda 70 mg/kg beta karoten içeren rasyonla beslenen balık filetolarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. -18 °C'de muhafazanın 3., 4., 5. ve 6. aylarında kontrol grubu ile deneysel grupların MDA düzeylerinin birbirine yakın olduğu ve aralarında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Sonuç olarak, Salmonid türü balıkların etinin renklendirilmesi, doğal balıklar ve kültürü yapılan balıklar arasındaki farkın en aza indirilmesi, yeme ilave edilen sentetik karotenlerle mümkün olmaktadır. Ancak yeme ilave edilen yüksek orandaki karotenoid, balık etinde daha kısa sürede renklenme meydana getirmekle birlikte maliyeti de artırmaktadır. Altı aylık muhafaza süresi sonunda β_{70} grubunda, renk kayıplarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca β_{70} grubunun lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA konsantrasyondaki artışı 2 aylık muhafaza süresi boyunca baskıladığı ancak 2. aydan sonra MDA düzeyinde meydana gelen artış miktarına önemli oranda bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Pazar arzını ve değerini artırmak için kullanılan sentetik karotenoidlerin yemin maliyetini arttırdığı da düşünülürse rasyonlara ilave edilecek 30 mg/kg β -karotenin muhafaza süresince yeterli pigmentasyonu sağlayacağı söylenebilir.

Kaynaklar

1. Yeşilayer N, Doğan G, Erdem M. Balık yemlerinde doğal karotenoid kaynaklarının kullanımı. Journal of Fisheries Sciences 2008; 2(3): 241-251.
2. Torrissen OJ., Christiansen, R., Struksnaes G. et al. Astaxanthin deposition in the flesh of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in relation to dietary astaxanthin concentration and feeding period. Aquaculture Nutr 1995; 1: 77-84.
3. Torrissen OJ. Pigmentation of salmonids-a comparison of astaxanthin and canthaxanthin as pigment sources for rainbow trout. Aquaculture 1986; 53: 271-278.
4. Bird JN, Savage GP. Carotenoid pigmentation in aquaculture. Proceedings of the nutrition society of New Zealand 1990; 15: 45-56.
5. Choubert G, Blanc JM. Flesh colour of diploid and triploid Rainbow trout fed canthaxanthin. Aquaculture 1985; 47: 299-304.
6. Bendich A Olson. Biological Action of Carotenoids. FABES journal 1989; 3: 1927-1932.
7. Schmidt PJ. and Cuthber RM. Color Sorting Raw Salmon. Food and Technol 1969; 23: 232.
8. Chen HM, Meyers SP, Hardy RW et al. Color stability of astaxanthin pigmented Rainbow trout under various packaging conditions. J Food Sci 1984; 49: 1337.
9. Pozo R, Lavey J and Love RM. The role of dietary -tocopherol (Vitamin E) in stabilising the canthaxanthin and lipids of rainbow trout muscle. Aquaculture 1988; 73:163
10. No HK and Storebakken T. Color stability of rainbow trout filets during frozen storage. J. Food Sci 1991; 56 (4): 969-973.
11. Fennome OR. Principle of Food Science Part I. Food Chemistry. Newyork: 1976.
12. Yanar M, Çelik M, Yanar Y, Kumlu M. Derin dondurucuda depolanan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarında karotenoid pigmentlerinin stabilitesi. Turk J Biol 1998; 22 (3): 61-65.
13. Morais H, Ramos AC, Cserhati T, et al. Effects of fluorescent light and vacuum packaging on the rate of decomposition of pigments in paprika (*Capsicum annuum*) powder determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J.Chromatography A 2001; 936: 139-144.
14. Hu C, Chen MS, Pan HC, et al. Effect of dietary vitamin A or β - carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. Aureus*. Aquaculture 2005; 4: 233-245.
15. Wang Y, Chien Y, Pan H. Effect of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hypsobrycon Callistus*. Aquaculture 2006; 261: 641-648.
16. Çelikkale MS. İç Su balıkları ve Yetiştiriciliği. Karadeniz Teknik Üniversitesi Yayınları No:1, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Basım Evi, 1994.
17. Metusalach J, Brown A, Shahidi F. Effects of stocking density on colour characteristics and deposition of carotenoids in cultured arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Food Chem 1997; 59 (1): 107-114.
18. Karatepe, M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. LC-GC North Am 2004; 22 (4): 362-365.
19. SAS . Version 6.1. SAS Institute, Cary, North Caroline, USA: 1999.
20. Ergün S., Erdem M. Doğal ve sentetik karotenoid kaynaklarının Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) pigmentasyona etkisi. Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences 2000; 24: 393- 402.
21. Foss P, Storebakken T, Schiedt K, et al. Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. Aquaculture 1984; 41: 213-226.
22. Iwamoto RN, Meyers JM. Hersberger WK, et al. Heritability and genetic correlation for flesh colouration in pen-reared and coho salmon. Aquaculture 1990; 86:181-190.
23. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol 1990; 68: 989-998.
24. Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. Med Sci Sports Exerc 1993; 25: 218-224.