

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAKRO VE MİKROALGLERİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

MEYREM VEHAPİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. DİDEM ÖZÇİMEN**

İSTANBUL, 2016

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MAKRO VE MİKROALGLERİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Meyrem VEHAPI tarafından hazırlanan tez çalışması 21.11.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyotühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Rabia ÇAKIR KOÇ

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Serdar UYSAL

Bezmialem Vakıf Üniversitesi



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2016-07-04-YL13 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam ve eğitim hayatım boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan gurur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı değerli danışman hocam Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN'e,

Çalışmalarım sırasında mikrobiyoloji alanındaki bilgilerinden yararlandığım, deneylerimde bana destek olan, bütün bilgi ve deneyimlerini sabırla benimle paylaşan hocam Dr. Azime YILMAZ'a,

Tez çalışmamda laboratuvarın bütün imkânlarını kullanmamı sağlayan ve katkısını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ'a,

Deneylerim esnasında deneyimlerini sabırla benimle paylaşan sayın Perihan Kübra ÇİÇEK'e ve özellikle çalışmalarım sırasında büyük destek ve yardım gördüğüm laboratuvar çalışmalarım ve analizler sırasında yardımlarını esirgemeyen 3 yıl boyunca her zaman yanımda olan sevgili Benan İNAN, Anıl Tefik KOÇER, Canan Yağmur KARAKAŞ, Sedef KAPTAN, Sevgi AKIŞ ve Dilek ÖZTAY'a,

Her konuda desteğini ve sevgisini sürekli yanımda hissettiğim Şaban İŞÇİ'ye,

Ayrıca beni bugünlere yetiştiren, her türlü zorluklara rağmen sevgilerini ve maddi manevi desteklerini asla esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın bizden sonraki arkadaşlarımıza yardımcı olmasını umut ediyorum.

Kasım, 2016

Meyrem VEHAPİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	3
1.3 Özgün Değer	4
BÖLÜM 2	
LİTERATÜR ÖZETLERİ	5
2.1 Alglerin Genel Özellikleri	5
2.2 Alglerden Elde Edilen Ürünler	5
2.2.1 Vitaminler.....	7
2.2.2 Polisakkarit ve Oligosakkarit Türevleri.....	7
2.2.3 Proteinler ve Peptidler	8
2.2.4 Lipidler, Yağ asitleri ve Steroller	9
2.2.5 Fenolik Bileşikler	10
2.2.6 Pigmentler.....	10
2.2.7 Florotaninler	12
2.2.8 Terpenler.....	12
2.2.9 Laktonlar.....	13
2.3 Alglerin Kullanım Alanları	13
2.3.1 Antibakteriyel ve Antifungal	13
2.3.2 Antiviral	15
2.3.3 Antioksidan	16
2.3.4 Antienflamatuar	17
2.3.5 Dejeneratif Hastalıklar Üzerinde Potansiyeli Olan Bileşikler	18
2.3.6 Sağlık Desteklenme Potansiyeli Olan Bileşikler	18
2.3.7 Gıda.....	19

2.3.8	Kozmetik.....	19
2.4	Alg Türlerinin Özellikleri	20
2.4.1	<i>Chlorella</i>	20
2.4.1.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	21
2.4.1.2	<i>Chlorella minutissima</i>	22
2.4.1.3	<i>Chlorella protothecoides</i>	22
2.4.2	<i>Ulva lactuca</i>	22
2.5	Yetiştirme Koşulları.....	23
2.5.1	Mikroalg Üretimine Etki Eden Parametreler	23
2.5.1.1	pH, Sıcaklık ve Işık	23
2.5.1.2	Besinler	25
2.5.2	Mikroalg Üretiminde Kullanılan Besin Ortamları	25
2.5.2.1	Bold Basal Ortamı.....	26
2.5.2.2	Ağaç Suyunun Kültür Ortamı Olarak Kullanımı	26
2.5.2.3	Atık Suyun Kültür Ortamı Olarak Kullanımı	27
2.6	Fungal Mikroorganizmalar ve Özellikleri	27
2.7	Bakteriler ve Özellikleri.....	28
2.8	Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	29
2.9	Algal Antimikrobiyal İlaç Üretimi	30
2.9.1	Algal Antimikrobiyal İlaç İçeriğini Etkileyen Faktörler.....	30
2.9.2	Algal Antimikrobiyallerin Ekstraksiyonu	31
2.9.3	Ekstraksiyon Yöntemi ve Çözücüler.....	31
2.10	Denizsel Anti bakteriyellere Karşı Karasal Anti bakteriyeller	31
2.11	Sinerjistik Etkiler	32
BÖLÜM 3		
MATERYAL VE YÖNTEM.....		33
3.1	Materyaller.....	33
3.1.1	Alg Örnekleri	33
3.1.2	Mikroalglerin Kültür Ortamı.....	35
3.1.3	Optik Yoğunluk Analizi.....	37
3.1.4	Bakteri Suşları.....	37
3.1.5	Fungal Mikroorganizmalar	37
3.2	Yöntem.....	38
3.2.1	Üretilen/Toplanan Makro ve Mikroalglerin Yağ Ekstraksiyonu .	38
3.2.2	Algal Ekstraktların Antifungal Etkisinin Belirlenmesi	39
3.2.3	Algal Ekstraktların Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi	40
3.2.4	Algal Ekstraktların Antioksidanlara Olan Etkisinin Belirlenmesi	40
3.2.5	Algal Ekstraktların Klorofil ve Karotenoid İçeriğinin Belirlenmesi	41
3.2.6	İstatistiksel Analizler	41
BÖLÜM 4		
DENEYSEL BULGULAR VE SONUÇLAR		42
BÖLÜM 5		
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....		98
KAYNAKLAR		102
ÖZGEÇMİŞ.....		108

SİMGE LİSTESİ

β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
gr	Gram
mm	Milimetre
mg	Miligram
μg	Mikrogram
mL	Mililitre
μl	Mikrolitre
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AIDS	Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
ANOVA	Analysis of Variance
ARA	Araşidonik Asit (Ω -6 C20: 4)
BHT	Bütillendirilmiş hidroksitoluen
CO ₂	Karbon dioksit
DHA	Dokosaheksaenoik
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Gram(+)	Gram Pozitif
Gram(-)	Gram Negatif
EPA	Eikosapentaenoik Asit
HSV	<i>Herpes</i> Virüsleri
HIV	Human Immunodeficiency Virus
MIK	Minumum İnhibisyon Konsantrasyonu
MBK	Minimum Bakteri Öldürücü Konsantrasyon
MS	Mean Square
NA	Nutrient Agar
NPs	Doğal Pigmentler
OD	Optik Yoğunluk
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
pH	Power of Hydrogen
PDA	Patates Dekstroz Agar
RNA	Ribo Nükleik Asit
RPM	Reverse Per Minute
ROS	Reaktif Oksijen Species
SOD	Süperoksit dismutaz
SS	Sum of Squares
UV	Ultraviyole

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3. 1	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in mikroskopik görüntüsü 33
Şekil 3. 2	<i>Chlorella minutissima</i> 'nın mikroskopik görüntüsü 34
Şekil 3. 3	<i>Chlorella protothecoides</i> 'in mikroskopik görüntüsü [88]..... 35
Şekil 3. 4	<i>Ulva lactuca</i> 'nın görüntüsü..... 35
Şekil 3. 5	Alg gelişimi için özel dizayn edilmiş inkübatörde mikroalg kültürleri..... 36
Şekil 3. 6	BBM ortamında <i>Chlorella vulgaris</i> 'in büyümesi 36
Şekil 3. 7	Kurutulmuş makro ve mikroalglerin soxhlet ekstraksiyon cihazında ekstrakte edilmesi 38
Şekil 3. 8	Makro ve mikroalglerin 40 °C sıcaklıkta döner buharlaştırıcıda çözücü uzaklaştırma işlemi 38
Şekil 3. 9	Makro ve mikroalg ekstraktlarının fumigasyon yöntemiyle antifungal etkisinin belirlenmesi..... 39
Şekil 3. 10	Makro ve mikroalg ekstraktların antibakteriyel etkisinin belirlenmesi..... 40
Şekil 3. 11	Makro ve mikroalg ekstraktların antioksidan etkisinin belirlenmesi 40
Şekil 3. 12	Makro ve mikroalg ekstraktların klorofil ve karotenoid içeriğinin belirlenmesi 41
Şekil 4. 1	İroko ağaç özütünde yetişen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> 'nın büyüme grafiği 43
Şekil 4. 2	İSKİ atık suyunda yetişen <i>C. vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> 'nın büyüme grafiği 44
Şekil 4. 3	BBM ortamında yetişen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C. minutissima</i> 'nın büyüme grafiği 45
Şekil 4. 4	BBM'da üretilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> ekstraktlarının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> koloni gelişimine etkileri 54
Şekil 4. 5	<i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> koloni gelişimine etkileri 55
Şekil 4. 6	BBM'da üretilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> ekstraktlarının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Alternaria mali</i> koloni gelişimine etkileri 61
Şekil 4. 7	<i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Alternaria mali</i> koloni gelişimine etkileri 62
Şekil 4. 8	BBM'da üretilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporium</i> koloni gelişimine etkileri 68

Şekil 4. 9	<i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporium</i> koloni gelişimine etkileri.....	69
Şekil 4. 10	BBM’da üretilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Penicillium expansum</i> koloni gelişimine etkileri.....	75
Şekil 4. 11	<i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Penicillium expansum</i> koloni gelişimine etkileri.....	76
Şekil 4. 12	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişimini engelleme oranları.....	78
Şekil 4. 13	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.minutissima</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişimini engelleme oranları.....	80
Şekil 4. 14	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> koloni gelişimine etkileri..	81
Şekil 4. 15	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişimini engelleme oranları.....	83
Şekil 4. 16	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.minutissima</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişimini engelleme oranları.....	85
Şekil 4. 17	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> koloni gelişimine etkileri.....	86
Şekil 4. 18	<i>C.minutissima</i> ekstraktının NA besi yerinde 1. <i>Morganella morganii</i> , 2. <i>Mycobacterium smegmatis</i> , 3. <i>Proteus mirabilis</i> üzerindeki antibakteriyel aktivitesi.....	88
Şekil 4. 19	<i>C.vulgaris</i> ekstraktının NA besi yerinde 1. <i>Aeromonas hidrofila</i> , 2. <i>Morganella morganii</i> , 3. <i>Mycobacterium smegmatis</i> , 4. <i>Proteus mirabilis</i> üzerindeki antibakteriyel aktivitesi.....	89
Şekil 4. 20	<i>C.protothecoides</i> yağının NA besi yerinde 1. <i>Aeromonas hidrofila</i> , 2. <i>Mycobacterium smegmatis</i> , 3. <i>Proteus mirabilis</i> üzerindeki antibakteriyel aktivitesi.....	91
Şekil 4. 21	<i>U.lactuca</i> ekstraktının NA besi yerinde 1. <i>Aeromonas hidrofila</i> , 2. <i>Morganella morganii</i> , 3. <i>Mycobacteriumsmegmatis</i> , 4. <i>Proteus mirabilis</i> üzerindeki antibakteriyel aktivitesi.....	92
Şekil 4. 22	Makro ve mikroalg ekstraktları ve standart antioksidan maddelerin DPPH. radikali süpürme aktivitesi (% inhibisyon değerleri).....	95
Şekil 4. 23	Makro ve mikroalg ekstraktlarının DPPH. radikali süpürme aktivitesi ve DPPH çözeltisinin renginde oluşan değişim.....	96

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1	Mikroalglerde mevcut olan faydalı maddeler [23] 6
Çizelge 2. 2	<i>Chlorella</i> cins mikroalglerden ekstrakte edilen biyoaktif bileşikler [19,8]..... 21
Çizelge 3. 1	<i>Chlorella vulgaris</i> ve <i>Chlorella minutissima</i> için optimum ortam koşulları 36
Çizelge 4. 1	İroko ağaç özütünde yetişen <i>C. vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> için tarihlere göre ölçülen OD değerleri..... 42
Çizelge 4. 2	İSKİ atık suyunda yetişen <i>C. vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> için tarihlere göre ölçülen OD değerleri..... 43
Çizelge 4. 3	BBM ortamında yetişen <i>C.vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> için tarihlere göre ölçülen OD değerleri..... 45
Çizelge 4. 4	<i>Ulva lactuca</i> ve farklı kültür ortamında yetişen <i>C. vulgaris</i> ve <i>C.minutissima</i> için Karoten ve Klorofil-a değerleri..... 47
Çizelge 4. 5	BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü* 49
Çizelge 4. 6	One-way ANOVA ile BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi* 53
Çizelge 4. 7	BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Alternaria mali</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü* 56
Çizelge 4. 8	One-way ANOVA ile BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının fumigasyon uygulamasının <i>Alternaria mali</i> misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi* 60
Çizelge 4. 9	BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü* 63
Çizelge 4. 10	One-way ANOVA ile BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi* 67

Çizelge 4. 11	BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının <i>Penicillium expansum</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü* 70
Çizelge 4. 12	One-way ANOVA ile BBM’da üretilen <i>C.minutissima</i> ve <i>C.vulgaris</i> ekstraktlarının, <i>C.protothecoides</i> yağının ve <i>U.lactuca</i> ekstraktının fumigasyon uygulamasının <i>Penicillium expansum</i> misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi* 74
Çizelge 4. 13	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü 77
Çizelge 4. 14	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.minutissima</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Aspergillus niger</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü 79
Çizelge 4. 15	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.vulgaris</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü 82
Çizelge 4. 16	Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen <i>C.minutissima</i> mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının <i>Fusarium oxysporum</i> misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü 84
Çizelge 4. 17	<i>C.minutissima</i> mikroalg ekstraktının NA besi yerinde değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi, D:denenmedi..... 88
Çizelge 4. 18	<i>C.vulgaris</i> mikroalg ekstraktlarının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi..... 89
Çizelge 4. 19	<i>C.protothecoides</i> mikroalg yağının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi, D:denenmedi 91
Çizelge 4. 20	<i>Ulva lactuca</i> makroalg ekstraktlarının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi..... 92

MAKRO VE MİKROALGLERİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Meyrem VEHAPI

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Deniz canlıları; yeni farmasötik maddelerin geliştirilmesinde kullanılan biyoaktif sekonder metabolitlerin potansiyel kaynaklarıdır. Algler hem deniz hem de tatlı su ortamlarında bulunan fotosentetik organizmalardır. Algler iki ana gruba ayrılırlar; mikroalgler ve makroalgler (yosunlar). Alglerin kimyasal ve farmakolojik yenilik ve çeşitlilikleri olduğu bilinmektedir. Ayrıca, mikroalgler deniz kaynaklarında bulunan bazı yüksek biyoaktif bileşiklerin gerçek üreticileri olarak kabul edilir. Mikroalgler antibiyotik, antiviral, antitumor ve antioksidan gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerle doğal olarak zengin olan kaynaklardır. Buna ek olarak, bu mikroorganizmaların sağlığı teşvik ve dejeneratif hastalıkların gelişme riskini azaltmak için yeteneği vardır. Yeni farmasötik maddeler geliştirmek, kimyasal ve farmakolojik yenilik ve çeşitlilik sağlamak için bu biyolojik olarak aktif bileşikler araştırılmalıdır. Çeşitli alg ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı in vitro antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, *Ulva lactuca* makroalgi ve *Chlorella vulgaris*, *Chlorella minutissima*, *Chlorella protothecoides* mikroalglerinin Gram pozitif; *Mycobacterium smegmatis* RUT ve Gram negatif; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* BC 6624, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965 bakterilerine ve *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria mali* Roberts, *Penicillium expansum* Link, *Fusarium oxysporum* fungal mikroorganizmalara karşı antioksidan, antifungal ve antibakteriyel etkilerini araştırmaktır. Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak Gram pozitif ve Gram negatif bakteri ve fungal mikroorganizmalar üzerinde denenmiştir. Alg ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi 1, 1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali giderme metodu kullanılarak tayin edilmiştir. Bu çalışmanın bir sonucu olarak, çalışmada kullanılan hemen hemen tüm alg türlerinin,

denenen tüm patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görölmüştür. Bu sonuçlar, alg türlerinde antimikrobiyal bileşiklerin varlığının bir göstergesidir. Alglerin ilaç endüstrisi için doğal antibiyotik üretimi için araştırılması gerektiği sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: Makroalg, Mikroalg, Ağaç suyu, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, *Chlorella minutissima*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides*, *Ulva lactuca*



ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF MACRO AND MICROALGAE

Meyrem VEHAPI

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Marine organisms are potentially prolific sources of highly bioactive secondary metabolites, used in the development of new pharmaceutical agents. Algae are photosynthetic organisms that are found in both marine and freshwater environments. Algae can be classified into two main groups; the microalgae and macroalgae (seaweeds). Algae have been recognized to provide chemical and pharmacological novelty and diversity. Moreover, microalgae are considered as the actual producers of some highly bioactive compounds found in marine resources. Microalgae are natural rich sources of biologically active compounds such as antibiotics, antivirals, antitumorals and antioxidants. Furthermore, these microorganisms have the ability to promote health and reduce the risk of the development of degenerative diseases. In order to develop new pharmaceuticals, these biologically active compounds should be investigated. The cell extracts of various algae have been shown to have antibacterial and antifungal activity in vitro against microorganisms. The aim of this thesis study was to investigate antioxidant, antibacterial and antifungal activities of macroalgae *Ulva lactuca* and microalgae *Chlorella vulgaris*, *Chlorella minutissima*, *Chlorella protothecoides* against Gram positive; *Mycobacterium smegmatis* RUT and Gram negative; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* BC 6624, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965 bacteria and fungus; *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria mali* Roberts, *Penicillium expansum* Link, *Fusarium oxysporum*. In vitro antimicrobial activity was evaluated by agar disc diffusion assay method against pathogenic fungi and pathogenic Gram positive and Gram negative bacteria. The total antioxidant activity of

extracts were investigated with 1, 1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) free radical scavenging method. As a result of this study, almost all of the extracts of algal species revealed to have antimicrobial activity against all pathogens. These results gave an indication of the presence of antimicrobial compounds in the algal species. It can be concluded that algae should be investigated for the production of natural antibiotics for pharmaceutical industry.

Keywords: Macroalgae, Microalgae, Wood water, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, *Chlorella minutissima*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides*, *Ulva lactuca*.



1.1 Literatür Özeti

Suda yaşayan canlılar, dünyanın varoluşundan bu yana canlıların ihtiyacı olan besinlerin önemli bir parçası olmuştur. Su ürünlerinin fosfor, kalsiyum, iyot, D, B1, B2 ve A vitaminleri, yağ asitleri, karbonhidrat ve protein gibi temel besin maddeleri ile birçok hastalığı önleyici rolü olduğu düşünülmektedir [1]. Su ürünlerinin büyük bir kısmını oluşturan algler klorofil içeren yeşil ve mavi-yeşil renkte ya da kahverengi ve kırmızı renkte olabilmektedirler [2]. Algler, bütün canlıların ihtiyacı olan oksijenin üreticileridir [1]. Mikroalgler ve makroalgler olarak ikiye ayrılan algler, fotosentez yoluyla karbondioksiti ve güneş ışığını çok etkin bir şekilde enerjiye dönüştüren yağ üreticileridir. Alglerin fotosentez dışında gerçekleştirdiği diğer önemli katkılardan biri, içinde bulundukları suyun organik maddelerini büyük miktarda artırmalarıdır. Bu nedenle alglerin bulunduğu sular son derece verimli olup, diğer canlıların yaşaması için besin kaynağı olmakta ve algler bu yönleriyle okyanus ortamında beslenme zincirinin temelini oluşturmaktadırlar [2]. Algler, hücre içinde depoladıkları değerli metabolitleri sayesinde; sağlık koruyucu ve gıda desteği, hayvan yemi, toprak yapısını iyileştirici gübre, doğal gıda boyası, kozmetik ve sanayinde kullanımları gibi farklı alanlarda kullanılabilirler [3]. Algler uzun yıllardan bu yana birçok farklı alanlarda kullanılmaktadırlar. Hücre içinde biriktirdikleri protein, karbonhidrat, yağ asitleri, vitamin, mineral, pigmentler ve daha pek çok önemli metabolitleri nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olarak kullanılmaktadırlar [4]. Sağlıklı beslenme dışında alglerden elde edilen antioksidanlar yardımıyla koruyucu tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunma açısından önem göstermektedir. Tokoferoller, askorbik asit, karotenoidler, flavonoidler ve retinoidler alglerde bulunabilen başlıca antioksidanlardır

[1]. Serbest radikaller, dış orbitallerinde çiftlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan ve diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırarak protein ve lipidlerden elektron çalarak eşlenmekte, DNA ve nükleotidlerde mutasyonlara neden olmaktadır. Bu zararın kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığı teşvik ettiğine dair bilgiler bulunmaktadır [5]. Vücutta serbest radikallerin oluşumu katabolik reaksiyonların yanı sıra yağlı ve sağlıklı beslenme, sigara kullanımı, kontrolsüz ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyona maruz kalma, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle meydana gelmektedir [6]. Antioksidanlar ise serbest radikallerin yol açtığı zincirleme reaksiyonları durdurarak ve serbest radikalleri nötralize ederek hücre içeriğini ve hücre zarını serbest radikal tahribatından korurlar [7]. Organizmanın serbest radikal üretimi farklı antioksidan molekülleri tarafından düzenlenir; bu süper oksit dismutaz (SOD) ile endojen olabilir ya da diyet ile aldığımız askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve polifenoller gibi metabolitlerle düzenlenebilir. Tek hücreli alg *Chlorella vulgaris* tıbbi özelliklere sahip birçok biyoaktif maddeyi içermektedir. *Chlorella* kapsamında yürütülen deneysel çalışmalar; *Chlorella*'nın antitumor, antikanser, antienflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu göstermiştir [8]. Bazı mikroalg türleri çeşitli stres koşulları (azot stresi, fosfor stresi, yüksek ışık şiddeti, yüksek tuzluluk gibi stres koşulları) altında büyütüldüğünde hücre içinde β -karoten, astaksantin, zeaksantin, lutein gibi antioksidan maddelerin birikmesi sağlanabilir. Böylelikle mikroalg kültür koşullarında bu parametrelerle oynanarak hücreler üzerinde stres koşulları yaratılır ve bu yolla kültüre alınan hücrelerin istenen ürünü daha fazla üretmesi sağlanabilir [6]. Diğer önemli antioksidan maddelerinden olan karotenoidler doğal olarak çözünebilen yağ pigmentlerinin bir sınıfıdır [1]. Karotenoidler sadece fitoplankton, algler, bitkiler ve sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilmektedirler [6]. Çok güçlü antioksidan özelliğine sahip olan astaksantin pigmenti çoğunlukla *Haematococcus pluvialis*'ten elde edilmektedir [1]. Karotenoidler hücreyi oksidatif stresten serbest radikalleri inhibe ederek korur. Provitamin A aktivitesi gösteren karotenoidler α , β , γ karotendir. Zeaksantin ve lutein gibi antioksidan pigmentleri *Dunaliella salina* (*Chlorophyceae*)'dan elde edilmektedir. *Dunaliella sp.*, β -karoten üretiminde en önemli ticari türlerden biridir ve kuru ağırlığının % 40'tan fazla gliserol [6] ve % 10'dan fazla β -karoten biriktirebildiği belirlenmiştir

[1]. Mikroalg içeriklerinin bu süpürücü kapasitesi kronik hastalıklar, inflamasyon, yaşlanma veya derinin UV ışığına maruz kalma gibi oksidasyonla ilişkili durumlara karşı mikroalgleri potansiyel alternatif maddeler haline getirmektedir [9]. Çeşitli alglerin hücre ekstraktlarının ve aktif bileşenlerinin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı in vitro antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Najdenski ve ark. (2013); *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella* ve *Nostoc* türlerinin etanolik ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Aynı şekilde, Sanmukh ve ark. (2014); *Chlorella* türünün biyolojik olarak aktif bileşiklerinin *Staphylococcus* türüne karşı antibakteriyel etkisini göstermiştir. Beena ve Krishnika (2011); doğal göletten izole edilen *Scenedesmus* türünün farklı ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini test etmiş ve en iyi sonuçları sulu ve metanol ekstraktlarından elde etmişler. Sanmukh ve ark. (2014); mikroalglerin antibakteriyel, antiviral ve antifungal etkilerini onaylamış; ayrıca alglerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin kullanımının yararlı olacağını ve geleneksel tedavi yöntemleri ile karşılaştırıldığında çok daha etkili olduğunu belirtmiştir. Antimikrobiyal aktivite, alg türlerine ve bunların ekstraksiyonu için kullanılan çözücülere bağlıdır. Algal ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi genellikle çeşitli organik çözücüler kullanılarak test edilmektedir [10]. Son yıllarda farklı yaşam bilimleri alanlarında potansiyel uygulamaları nedeniyle algal biyoaktif bileşikler araştırmacıların ve şirketlerin dikkatini çekmektedir [11].

1.2 Tezin Amacı

Bu tezin amacı, *Ulva lactuca* makroalg ve *Chlorella vulgaris*, *Chlorella minutissima*, *Chlorella protothecoides* mikroalglerinin Gram pozitif; *Mycobacterium smegmatis* ve Gram negatif; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Aeromonas hydrophila* bakterilerine ve *Aspergillus niger*, *Alternaria mali*, *Penicillium expansum*, *Fusarium oxysporum* fungal mikroorganizmalara karşı antioksidan, antifungal ve antibakteriyel etkilerinin araştırılmasıdır. Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak Gram pozitif ve Gram negatif bakteri ve fungal mikroorganizmalar üzerinde denenmiş ve toplam antioksidan aktivitesi 1, 1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali giderme metodu kullanılarak tayin edilmiştir.

1.3 Orijinal Katkı

Yapılan literatür incelemelerinde *C.protothecoides* ve *C.minutissima*'nın antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Ayrıca tez çalışmasında kullanılan makro ve mikroalg türlerinin antibakteriyal aktivite gösterdiği *Morganella morganii*, *Aeromonas hydrophila* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buna ek olarak, tez çalışmasında kullanılan makro ve mikroalg türlerinin antifungal aktivite gösterdiği *Alternaria mali* ve *Penicillium expansum* fungal mikroorganizmalar ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* ile ilgili de çok az çalışma bulunmaktadır.

Fumigasyon çalışmasında 10, 50, 100 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan makro ve mikroalg ekstraktları 20µl/petri, 40µl/petri, 60 µl/petri dozlarında otomatik pipetlerle disk kağıtlarına uygulanmıştır. Yapılan literatür incelemelerinde makro ve mikroalg türlerinin konsantrasyon veya disklere emdirilen doz miktarlarının karşılaştırılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

İSKİ atık su ve Iroko ağaç özütü suyunda yetiştirilen mikroalg türleri ile yapılan bu çalışmada bu kültür ortamlarında yetişen mikroalglerin büyüme oranları ve fumigasyon uygulaması ile antifungal aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Literatürde ise mikroalglerin fumigasyon uygulamasında kullanılmaları amacıyla İSKİ atık su ve Iroko ağaç özütü suyunda yetiştirilmeleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışması ile elde edilen veriler literatüre orijinal katkı sağlayacaktır.

LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1 Alglerin Genel Özellikleri

Algler yapısal olarak ökaryotik ve prokaryotik olmak üzere iki gruba ayrılırlar [13]. Algler üç farklı üreme sistemine sahiptirler. Bunlar; vejetatif üreme, eşeyli ve eşeysiz üremelerdir [16]. Alglerin çoğunluğunun dağıldığı alan sulardır. Ancak, ekolojik olarak, karlı alanlarda ve tamamen buzla kaplı alanlarda da bulunabilirler. Algler su ortamında organik karbon bileşiklerinin major primer üreticisidirler. Yapılarındaki pigmentler sayesinde karbondioksit ve suyu ışık etkisiyle karbonhidratlara çevirirler ve bu şekilde su ortamının besin değerini ve çözünmüş oksijen oranını arttırmaları. Alglerin üretimi çevresel faktörlerle; ışık, sıcaklık, pH, tuzluluk, karıştırma ve besleyici elementlerle sınırlanmıştır [13]. Çevresel koşullar alg üretimi için önemlidir, bununla birlikte kültür ortamında kullanılan besleyici elementler ve bunların konsantrasyonları mikroalgal büyüme ve biyokimyasal kompozisyon üzerinde değişikliklere neden olabilmektedir. Alg üretiminde kullanılan kültür ortamı azot, fosfor, demir gibi başlıca elementleri içermektedir [4].

2.2 Alglerden Elde Edilen Ürünler

Günümüzde algal biyoteknoloji gelişimini hızla sürdürmekte ve önemini giderek arttırmaktadır [18]. Algler çok uzun yıllardan beri birçok farklı alanda kullanılmaktadırlar. Hücre içinde biriktirdikleri protein, karbonhidrat, yağ asitleri, vitamin, mineral, pigmentler [19] ve daha pek çok önemli metabolitleri nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olmak üzere değişik amaçlarla kullanılmaktadırlar [4]. Bu bileşiklerin birçoğu (oleik asit, linoleik asit, palmitoleik asit,

E vitamini, B12, β -karoten, fikosiyanin, lutein ve zeaksantin) antimikrobiyal, antioksidan, antifungal, antiviral ve antienflamatuar [20] özelliklerine sahip olup, hastalıkların azaltılması ve önlenmesinde önemli rol oynarlar [19]. Algler fototrof organizmalar olmaları nedeniyle, yüksek oksijen ve radikal stresine maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle mikroalgler reaktif oksijen ve serbest radikallere karşı etkin koruyucu sistemlere sahiptirler. Yapılan çalışmalarda, doğal bir antioksidan olan α tokoferol ve yapay bir antioksidan olan BHT ile karşılaştırıldığında mikroalglerin metanol ekstraktları daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir [51]. Algal ham ekstraktlar ve alglerin parçalanmış ya da saflaştırılmış bileşenleri antikoagülan, antivirütik, antioksidan, antikanser ve antienflamatuar özellikler sergilemektedir. Antibiyotiklere karşı patojenlerin direncinin artması ile daha iyi potansiyele sahip, antibiyotiklerden daha az yan etkilere sahip, biyo yararlanımı daha iyi olan ve minimum toksisiteye sahip daha ucuz ve etkili doğal antimikrobiyal maddeleri keşfetmeye ve geliştirmeye ihtiyaç vardır. Aynı zamanda deniz antimikrobiyallerin mevcut ilaçlar ile olası sinerjik etkisini test etmek gerekmektedir [20]. Antibakteriyel aktivitesi olan bileşiklerin fonksiyonel grupları arasında florotaninler, yağ asitleri, polisakkaritler, peptidler, terpenler, poliasetlenler, steroller, indol alkaloidler, aromatik organik asitler, şikimik asit, poliketidler, hidrokinonlar, alkoller, aldehytler, ketonlar ve halojene furanonlar, alkanlar ve alkenler bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Algler ozmotik strese ve yüksek düzeyde UV ışığına, oksijen ve tuzluluk gibi stres koşullarına maruz kalmaktadırlar. Buna ek olarak, deniz suyunun her mililitresinde ortalama bir milyon bakteriyel hücre mevcuttur. Bu stres koşulları ile mücadelesinde alglerin ürettiği kimyasalların bazıları antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahiptir [21].

Çizelge 2. 1 Mikroalglerde mevcut olan faydalı maddeler [23]

Pigmentler/Karotenoidler	B-karoten, astaksantin, lutein, kantaksantin, klorofil, fikosiyanin, fikoeritrin
Çoklu doymamış yağ asitleri	DHA(C22:6), EPA(C20:5), ARA(C20:4), GAL(18:3)
Vitaminler	A, B1, B6, B12, C, E, biotin, riboflavin, folik asit, nikotinik asit
Antioksidanlar	Katalaz, polifenol, superoksit dismutaz, tokoferol
Diğer	Antimikrobiyal, antifungal, antiviral, toksinler, amino asitler, proteinler, steroller.

Mikroalgelere ek olarak makroalgler de yüksek antioksidan etkili bileşikler içermektedir. Makroalglerdeki yüksek antioksidan etki α - tokoferol, β -karoten, glutatyon, askorbik asit, flavonoidler, hidrokinonlar, fikosiyaninler, prolin, fenolik bileşikler ve poliaminler gibi antioksidan bileşiklerinden kaynaklanmaktadır [6].

2.2.1 Vitaminler

Mikroalgler kozmetik, gıda ya da ilaç endüstrisinde uygulamalara sahip olan değerli ürünler olan (pigmentler ve vitaminler gibi) spesifik ikincil metabolitleri biriktirmektedirler. Mikroalgler yetiştikleri ortamlarda stres ve / veya aşırı koşullara; tuzluluk, sıcaklık ve besin gibi değişikliklere maruz kalabilmektedirler. Bu mikroorganizmalar hızla hayatta kalmak ve böylece diğer organizmalarda bulunmayan biyolojik olarak aktif ikincil metabolitleri büyük bir çeşitlilikte üretmek için yeni çevre koşullarına uyum sağlamak zorundadır [19]. Mikroalglerin besleyici değeri ve vitamin içeriği genotipine, şekline, büyüklük, sindirilebilirlik, biyokimyasal kompozisyon, çoğalma döngüsündeki aşamalara, gelişme evrelerine, besin ortamına, ışık yoğunluğuna ve diğer çevre koşullarına bağlıdır [51,13,6]. B12 ve E vitamini de alglar tarafından üretilabilmektedir. Mikroalg biyokütlesinde B12 vitamini ve demir yüksek miktarda bulunmaktadır [13]. E-vitamini (tokoferol), C-vitamini (askorbik asit), karotenoidler, bioflavonoidler ve retinoidler alglerde bulunabilen antioksidan bileşiklerdir [6].

2.2.2 Polisakkaritler ve Oligosakkarit Türevleri

Polisakkaritler glikozidik bağları ile bağlanmış monosakkarit birimlerinin tekrarlanmasından oluşur. Polisakkaritler bitki ve alglerde yapısal depolama bileşikleri gibi başlıca işlevlere sahiptir. Algal polisakkaritler ve sülfatlı polisakkaritler başarılı bir şekilde farmasötik ve diyet uygulamaları için kullanılmışlardır [27]. Buna ek olarak, polisakkaritler endüstride viskozlaştırıcı, yağlayıcı, jelleştirici ve kıvam arttırıcı olarak kullanılmaktadır [51,13]. Alglar hızlı gelişme gösterdikleri için ve gelişmeleri sırasında çevre koşulları kontrol edilebildiği için endüstriyel ve ticari alanlarda polisakkarit üretmekte kullanılmaktadırlar [51]. Alglerden maksimum polisakkarit üretiminin logaritmik fazın sonlarına doğru olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar azot stresi ile polisakkarit üretiminin arttığını göstermişlerdir. Algal polisakkaritlerin antikanser aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir [13]. Algal polisakkaritlerin antibakteriyel etki mekanizmalarının; bakteriyel hücre duvarı, sitoplazmik zar ve DNA bileşikleri ile

bağlanan polisakkaritlerin hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein reseptörlerine bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu durum, artan sitoplazmik membran geçirgenliği, protein kaçağı ve bakteriyel DNA bağlanması ile sonuçlanır. Fukoidan ve laminarin gibi polisakkaritler, başarılı bir şekilde oral antibiyotikler olarak ilaç salınımında *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin üremesini inhibe etmek için ve gastrit mukozada *Helicobacter pylori* biyofilm yapışmasını önlemek için kullanılmaktadır [21]. Yeşil, kahverengi ve kırmızı alglerin ana bileşenleri depolama ve yapısal işlevlere sahip olan polisakkaritlerdir. Alglerin hücre duvarları; alginik asit ve alginatlar, carrageenan ve agar, laminaranlar, fukoidanlar, ulvanlar ve türevleri de dahil olmak üzere çeşitli polisakkaritlerden oluşmaktadır. Alglerin antimikrobiyal aktivitesi; dağılımları, molekül ağırlığı, yük yoğunluğu, sülfat içeriği, yapısal ve konformasyon yönleri gibi faktörlere bağlıdır. Buna ek olarak, algal polisakkaritlerin polimerizasyonu ile elde edilen oligosakkaritler, bitkileri; viral, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı korumaktadır. Bu polimerik karbonhidrat yapılar genellikle farklı glikozidik bağlarla bağlanmış çeşitli monosakkaridlerden oluşmaktadır. Kırmızı algler karragenan ve agar; kahverengi algler alginat, fukan ve laminarin; ve yeşil algler selüloz ve ulvan gibi sülfatlanmış polisakkaritler içermektedir [20,51].

2.2.3 Proteinler ve Peptidler

Alglerin protein içeriği bulunduğu kültür ortamdaki potasyum ve azot gibi besin kaynaklarının kullanımına ve büyüme fazındaki ışığın miktarı ve kalitesine bağlıdır. *Spirulina platensis* ile yapılan çalışmalarda en yüksek protein içeriği sabahın erken saatlerinde elde edilmektedir [51]. Aminoasitlerin kompozisyonu türlerin çoğalma koşullarına ve büyüme fazına bağlı olarak değişmektedir. Mikroalglerden diğer ürünlerin eldesi esnasında proteinler ve aminoasitler yan ürün olarak elde edilmektedir [13]. Amino asitlerin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili son çalışmalar; kısa zincirli peptidlerde ya da daha büyük, daha karmaşık proteinler üzerinde gösterilmiştir. Peptidlerin amfipatik konformasyonu bakteriyel sitoplazmik zarı polar ve polar olmayan bölgelere bağlanmayı sağlar, bu şekilde hücresel süreçleri ve yayılmayı engeller. Örneğin, lektinler hayvanlar, bitkiler, algler, bakteriler ve virüslerde meydana gelen bir protein grubudur. Lektinlerin bakterilerin hücre yüzeyi üzerindeki lipopolisakkaritler, glukanolar ve peptidoglikanlara seçici olarak bağlanarak besin alımı gibi normal hücresel süreçleri engelleme yeteneği vardır [21].

2.2.4 Lipidler, Yağ asitleri ve Steroller

Algal lipidlerin içeriği temel olarak fosfolipidler, glikolipidler ve polar olmayan gliserolipidler'den oluşmaktadır. Fosfolipidler ekstra kloroplast zarlarında yer almaktadır ve toplam algal lipidlerin % 10 - % 20'sini oluşturur. Fosfolipidler n-6 yağ asitlerinin daha yüksek içeriği ile karakterize edilir ve bu temel yağ asitleri; oleik, palmitik, stearik, araşidonik ve eikosapentanoik asitlerdir. Alglerin en baskın fosfolipidleri; yeşil alglerde fosfatidilgliserol, kırmızı alglerde fosfatidilkolin ve kahverengi alglerde fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamindir.

Glikolipitler fotosentetik zarda bulunur ve alg gruplarındaki lipidlerin yarısından fazlasını teşkil eder. Glikolipitler yüksek oranda n-3 çoklu doymamış yağ asitleri ile karakterize edilir.

Triaçilgliserol depolama ve enerji deposu fonksiyonu olan, içeriği % 1 ile % 97 arasında değişen ve en sık görülen nötral bir lipittir.

Yağ asitleri, alifatik zincirleri olan karboksilik asitlerdir ve sık görülen karbon zincirleri (C4-C28); düz ya da dallanmış, doymuş ya da doymamış olabilir. Çift bağa göre yağ asitleri tekli doymamış (MUFA) ya da çoklu doymamış (PUFA) yağ asitleri olarak sınıflandırılır ve son olarak metil ucundan itibaren ilk çift bağın pozisyonuna bağlı olarak n-3 ya da n-6 olarak sınıflandırılabilir. Yeşil algler; C18 PUFA ağırlıklı olarak α -linolenik (C18:3 n-3), stearidonik (C18:4 n-3) ve linoleik (C 18:2 n-6) asitler açısından zengindir; kırmızı algler; C20 PUFA ağırlıklı olarak araşidonik asit (C20:4 n-6) ve eikosapentaenoik (C20:5 n-3) bakımından zengindir; kahverengi algler her ikisini sentezleyebilirler [20]. *Porphyridium* türü araşidonik asit (C20:4 n-6), *Spirulina* türü S-linolenik asit (GLA, 18:3 n-6), *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum* ve *Diacronema* türleri eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5 n-3) ve *Cryptocodinium* ve *Schizochytrium* türleri dokosahekzaenoik asit (DHA, 22:6 n-3) gibi yüksek bitkiler ve hayvanlar tarafından sentezlenemeyen çoklu doymamış yağ asitlerini sentezlemektedir [51]. Algal serbest yağ asitlerinin bakteriyel hücre zarlarında elektron taşıma zincirinin ve normal oksidatif fosforilasyonun inhibitörleri gibi davrandığı bildirilmiştir. Serbest yağ asitleri adenosin trifosfat enerji transferini engeller ve bakteriyel hücre içindeki yağ asitlerinin sentezi için gerekli olan bakteriyel enoil-açıl taşıyıcı protein redüktaz gibi enzimleri inhibe eder. Daha sonra hücre lizisi ve peroksidasyonu ve oto-oksidasyon bozunma ürünlerinin oluşumu meydana gelir [21]. Yapılan bir çalışmada, antibakteriyel yağ asitleri; cyclopentaneacetic asit ve 10,13-octadecadienoic asitin *Sargassum*

vulgare'nin etanol ekstraktı ve *Sargassum fusiforme*'nin dietil eter ile ekstraktının ana bileşenleri olduğunu belirlemiştir. Transmisyon elektron mikroskobu; kahverengi deniz alg özleri ile işleminden geçirildikten sonra *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* hücrelerindeki morfolojik değişiklikleri ölçmek için kullanılmıştır. Her iki bakterinin hücre çeperleri delinmiş, hücre çeperinin yırtılması; sitoplazmik kaçak, protoplazmanın küçülmesi, sitoplazmik boşluk oluşumu, kromatinlerin saçılması, dış hücre şeklinin bozulması ve hücre boyutunun azalması ile sonuçlanmıştır [28].

2.2.5 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler sekonder metabolitlerdir çünkü fotosentez, hücre bölünmesi veya alglerin üremesi gibi doğrudan birincil süreçlerde yer almazlar. Fenolik bileşikler bir ya da daha fazla hidroksil grubuna sahip olan aromatik bir halka ile karakterize edilir ve antimikrobiyal aktivitesi; mikrobiyal hücrenin geçirgenliğinin değiştirilmesi, iç makromoleküllerin kaybı, zar işlevi ve hücresel bütünlük kaybı ve hücrenin ölümü ile sonuçlanmasından kaynaklanır. Polifenoller, floroglusinollere ve florotaninlere ayrılır. Floroglusinol üç hidroksil grubu ile aromatik fenil halkası içerir. Florotaninler ise oligomer veya floroglukinol polimerleri olan ilave halojen ya da hidroksil grupları içerir. Yeşil alglerde hidroksisinamik ve benzoik asit ve türevleri ve flavonoidler gibi basit fenollerin varlığı bildirilmiştir. Kahverengi deniz algleri, fenolik bileşikleri yeşil ve kırmızı makroalgelere oranla daha yüksek miktarda içerir [20].

2.2.6 Pigmentler

Bütün fotosentetik organizmalar ışık enerjisinden yararlanabilmek için klorofiller (yeşil pigmentler), karotenoidler (sarı ve turuncu pigmentler) ve fikobilinler gibi organik pigmentler içermektedirler [51]. Algler fotosentetik organizmalardır, deniz alglerinde bulunan pigmentler; klorofil, karotenoidler ve fikobiliproteinler algleri *Chlorophyceae* (yeşil algler), *Phaeophyceae* (kahverengi algler) ve *Rhodophyceae* (kırmızı algler) şeklinde sınıflandırmamızı sağlamaktadır. Yeşil renk; klorofil α ve β , yeşilimsi kahverengi renk; fukoksantin, klorofil α ve c, ve kırmızı renk; fikoeritrin ve fikosiyanin gibi fikobilin varlığı nedeniyle oluşur. Karotenoidler, bütün alglerde mevcut olan ve yağda çözünen doğal pigmentlerdir [20].

2.2.6.1 Klorofil

Klorofil-a bütün alglerde bulunan temel fotosentetik pigmenttir. Siyanobakteriler ve kırmızı algler (*Rhodophyta*) yalnızca klorofil-a içerirken, yeşil algler (*Chlorophyta*) ve öglenalar (*Euglenophyta*) klorofil-a ve klorofil-b içerirler. Klorofiller kuru hücre ağırlığının %0.5-1.5'ini oluşturmaktadırlar. Fitoplankton biyokütlesi fotosentetik bir pigment olan klorofil-a ile ölçülebilir. Kyler (2003) çalışmasında; %90'luk aseton kullanarak kırmızı ve yeşil alglerde bulunan fotosentetik pigmentlerin spektrum tarama sonuçlarına göre klorofil-a'nın 430 ve 663 nm'de, klorofil-b'nin 458 ve 654 nm'de, klorofil-c'nin 466, 584 ve 620 nm'de en yüksek absorbands değerini oluşturduğunu göstermiştir. Klorofil-a ve fikobiliprotein konsantrasyonları kültürün bulunduğu ortamın koşullarına bağlıdır. Yüksek ışık yoğunluğunda yetişen kültürlerin hücre sayısı daha az, gelişim hızı normale göre 10 kat daha yavaştır ve bu hücreler normalin 1/3'ü kadar pigment içerirler [51].

2.2.6.2 Karotenoid

Karotenoidler organizmalarda en yaygın bulunan pigmentlerdir [51]. Karotenoidler sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur [6]. Karotenoidler 40-karbon polien zincirinden türemiştir. Polien, karotenoidlere kimyasal ve ışık soğurma özellikleri kazandırır. Hidrokarbon yapısındaki karotenoidler karoten ve oksijenlenmiş türevleri ksantofiller olarak adlandırılır [51]. Alglerde karotenoidlerin çoğu fotosentez işleminde aktif olarak rol almaz. Karotenoid, ışıktan absorblanan enerjinin klorofil moleküllerine aktarılmasını sağlar [6]. Karotenlerin hücre içerisindeki temel fonksiyonları ışığı absorbe ederek hücreyi yoğun ışıktan korumaktır. Karotenoid pigmentler enerjiyi oksijen üzerine transfer ederek, oksijenin enerjisini absorblar [51]. Karotenoidler; triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, serbest radikalleri inhibe ederek hücreyi oksidatif strese korur [6]. Bu özelliği sayesinde reaktif oksijenin zararlarını azaltmaktadır. Antioksidan özelliğine sahip olan karotenoidler membran bütünlüğünün korunmasına yardımcı olurlar [51]. Karotenoidler ayrıca provitamin A aktivitesi göstermektedirler. Provitamin A aktivitesi gösteren karotenoidler α , β , γ karoten ve kriptoksantindir. β -karoten yağda çözünen Vit-A'nın hammaddesidir. Oksidasyon ile oluşan serbest radikalleri süpürülerek serbest radikallerin neden olduğu hastalıklara (kanser, yaslanma vs.) karşı korur. Araştırmacılar tarafından karotenoidlerin antioksidan aktivitelerine bağlı olarak kanser oluşumunu inhibe ettikleri rapor

edilmiştir. Yapılan araştırmalarda bazı karotenoidlerin UV ışığın ve kimyasalların neden olduğu tümörleri inhibe ettikleri ve immün cevabı arttırdıkları gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan α -tokoferol'un cildi UV ışığın neden olduğu hasarlara ve yaşlanmaya karşı koruduğu gösterilmiştir. *Chlorella* ekstraktı, α -tokoferol ve karotenoidler gibi antioksidan bileşikler içerir. Karotenoidler ve α -tokoferol gibi antioksidanlar radikalleri süpürme etkisi ile inhibe etmektedirler [6]. Karotenoid'in antimikrobiyal mekanizması; bakteriyel hücre duvarlarının sindirimine neden olan immün enzimi lyozime birikmesidir. Mikroalglerin karotenoid sentezi algin yapısına bağlıdır. Bunun yanında çevresel koşulların aniden değişmesi, tuzluluk, sıcaklık, ağır metal konsantrasyonu, ortamdaki azotun kullanılabilirliği ve ışık yoğunluğundaki artışlar gibi stres koşulları karotenoid sentezinin artmasına neden olmaktadır. Stres koşullarında birçok mikroalgin yüksek miktarda astaksantin, kantaksantin ve ekinenon gibi sekonder karotenoidleri sentezlediği ortaya konmuştur [51].

2.2.7 Florotaninler

Florotaninler, alg hücrelerinin içinde physodes adlı fukosan granüllerde meydana gelir ve kuru kütlenin %1-15'ini oluşturmaktadır. Florotaninlerin antibakteriyel aktivitesinin oksidatif fosforilasyon inhibisyonu nedeniyle meydana geldiği ve bu aktivitenin hücre lizisine neden olan enzimler ve hücre zarları gibi bakteriyel proteinlere bağlanma özelliği olduğu rapor edilmiştir. Floroglusinol birimlerinin fenol aromatik halkaları ve OH grupları, H-bağı ve hidrofobik etkileşimler ile bakteriyel proteinlerin -NH gruplarına bağlanır. Yapılan çalışmalara göre; *Sargassum thunbergii* türünden ekstrakte edilen düşük molekül ağırlıklı florotaninler, *Vibrio parahaemolyticus* türünde hücre zarı ve hücre duvarı hasarına, sitoplazma kaçağına ve membranda geçirgen yapının bozulmasına neden olmuştur. Başka bir çalışmada, alglerden elde edilen düşük molekül ağırlıklı florotaninlerin potansiyel gıda güvenliği kontrolünde ve su ürünleri ilaçlarında kullanılabilir olabileceği önerilmiştir. Florotaninler ve türevlerinin, gıda ve tıbbi uygulamalar için doğal antibakteriyel madde olma potansiyeli bulunmaktadır [21].

2.2.8 Terpenler

Terpenler, tekrarlanan izopren birimlerinden oluşan bileşiklerdir. Alglerde bulunan diterpen-benzoat bromophycolides gibi terpen bileşiklerinin bakteriyel büyümeyi inhibe

ettiği tespit edilmiştir. Lutein ve astaksantin gibi ksantofiller oksijen içeren tetraterpen bileşiklerdir, bitki ve alglerde ışık toplayıcı pigmentler gibi işlev görürler. Bunlar antioksidan aktiviteye sahiptirler, aynı zamanda bakterilere karşı da etkilidirler. Fukoksantin ağırlıklı olarak kahverengi algler (*Phaeophyceae*)'de, diatomlar (*Bacillariophyceae*)'da, altın algler (*Chrysophyceae*)'de ve *Raphidophyceae*'de düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır [21].

2.2.9 Laktonlar

Laktonlar furanonlar içeren siklik esterlerin kimyasal sınıfıdır. Bu maddeler, kırmızı alg *Delisea pulchra*'nın bakteri kolonizasyonu yüzeyinde serbest kalma kabiliyeti nedeniyle araştırılmıştır. *Delisea pulchra*'nın halojenli furanon ekstraktları *Pseudomonas aeruginosa*'nın biyofilm oluşumunu önlemede etkili bir yüzey sterilize edici olarak kullanılmıştır. Bu halojenli furanonlar bakteriyel hücreler arası iletişimi engelleyerek, çekirdek algılama mekanizmalarını inhibe eder. Algal furanonlar ve laktonlar sentetik yüzey sterilizasyonlara ve antibiyotiklere alternatif olabilecek potansiyele sahiptirler. *Campylobacter jejuni* ve *Escherichia coli* dünya çapında gıda zehirlenmelerinde önde gelen nedenlerden ikisidir ve pek çok geleneksel antibiyotiklere direnç geliştirmişlerdir [21].

2.3 Alglerin Kullanım Alanları

2.3.1 Antibakteriyel ve Antifungal

Mikroalgler geniş ve verimli antibakteriyel aktiviteye sahip antibiyotiklerin önemli bir kaynağıdır. Bu mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitesi, yağ asitleri, akrilik asitler, halojenlenmiş alifatik bileşikler, terpenoidler, steroller, sülfür içerikli heterosiklik bileşikler, karbonhidratlar, asetogeninler ve fenoller gibi bileşiklerin sentezlenme yeteneğine bağlıdır. Mikroalg ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi lipid bileşimi ile ilgilidir. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi insan patojenlerine karşı mikroalglerin antimikrobiyal aktivitesi, γ -linolenik asit, eikosapentaenoik asit, heksadekatrienoik asit, dokosaheksaenoik asit, palmitoleik asit, lorik asit, oleik asit, laktik asit ve araşidonik asit içerikleri ile bağlantılıdır. Yağ asitlerin etki mekanizması mikroorganizmaların çeşitli yapılarını etkiler; ancak en fazla hücre zarları etkilenmektedir. Zar hasarı hücre

içi maddelerin kaybına yol açmakta ve zararlı bileşenlerin girişi besin emilimini azaltmakta ve buna ek olarak hücre solunum engellenmektedir. Yağ asitlerinin bakteriyel büyümeye müdahale etme yeteneği, zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesine bağlıdır. 10'dan fazla karbon atomuna sahip yağ asitleri, bakteriyel protoplast lizisine neden olmaktadır [19].

Alglerin patojenik mikroorganizmalara karşı aktif bileşiklerin bir kaynağı olduğu farklı çalışmalarla doğrulanmıştır. Alglerin % 70'i antibakteriyel aktivite gösterirken ancak % 27.5'i antifungal etki göstermiştir. Test edilen türler arasında, *S. aureus*, *Vibrio spp* ve *Trichophyton mentagrophytes*'in en duyarlı olduğu, *P. aeruginosa* ve *Aspergillus flavus*'un en çok direnç gösterdiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, denizsel alg türlerinin etanol ve lipid-çözünür ekstraktlarının Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve fungal mikroorganizmalara karşı aktivitesi değerlendirilmiş ve % 80'den fazla türün Gram-pozitif test bakterilere karşı etkin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *U. lactuca* etil-eter ekstraktlarının metisiline dirençli *S. aureus*'a (MRSA) karşı in vitro geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, ancak *C. albicans* türüne karşı antifungal aktivite göstermediği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada *Rhodophyta*, *Chlorophyta* ve *Phaeophyta* türlerinin ham ekstraktlarının, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, Kaliforniya Körfezi'nden, *L. johnstonii*, *D. flabellata* ve *U. lactuca*'nın eter ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğunu doğrulanmıştır. *E. coli*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı ise hiçbir etki gözlenmemiştir. Bazı araştırmacılar tarafından *U. lactuca* ekstraktının *Shigella sonnei*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *Staphylococcus epidermis* patojenlerine karşı antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir. Ayrıca *U. lactuca* ve *E. intestinalis*'in aseton ekstraktlarının antimikrobiyal ve dört farklı insan kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [20].

- Akne

Akne vulgaris için etkili ve güvenli tedaviler algal ekstraktlardan elde edilebilmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre, *Fucus evanescens*'in etil asetat ekstraktlarının *Propionibacterium acnes* türüne karşı ve ayrıca *Hemofilus influenza*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium difficile* ve metisilin dirençli *S. aureus*'a karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir, ancak *B. cereus*, *E. coli*, *K.*

pneumoniae ve *P. aeruginosa* önemli ölçüde etkilenmemiştir. Ana aktif bileşik β -D-galaktozil O-bağılı glikolipid olarak tanımlanmıştır [20].

- Oral Mikroplar

Periodontitis, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi Gram-negatif patojenler tarafından başlatılan kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Periodontitis için geleneksel antibiyotik tedavileri bakteriyel enfeksiyonu hedeflemektedir, ancak çok az ya da hiçbir yan etkisi olmayan ve güçlü antimikrobiyal etkisi olan yeni terapötik maddelerin belirlenmesi gerekmektedir. *Enteromorpha linza* ekstraktları *P. intermedia* ve *P. gingivalis*'e karşı yan etkiler olmaksızın antimikrobiyal aktivite göstermiş ve ağız çalkalamada gingivitise (diş eti iltihabına) karşı Listerine® benzer etkiler göstermiştir. n-3 yağ asitlerinden türetilen ürünlerin topikal bir şekilde uygulaması deneysel modellerde periyodontite bağlı iltihap kaynaklı doku ve kemik kaybına karşı koruma sağlayabilmektedir. Stearidonik asitin güvenilirliği sıçan ve insan çalışmalarında kanıtlanmıştır [20].

2.3.2 Antiviral

Mikrobiyal polisakkaritler ve diğer biyolojik bileşikler antiviral ve antimikrobiyal etkiye sahiptirler. Mikroalglerden asidik özelliklere sahip ekstraselüler sülfatlı polisakarit (EPS) üretimi bir terapötik madde olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Çeşitli mikroalg türlerine ait yüksek sülfatlanmış antiviral polisakkaritler esas olarak ksiloz, glikoz, galaktozdan oluşmaktadır. EPS sülfat grupları polisakkaritlerin bazı özelliklerini belirlemektedir. Yüksek sülfat içeriğinin daha yüksek antiviral aktivitelere neden olduğu bulunmuştur. Mikroalg kökenli polisakkaritlerin önleyici etkisi, viral etkileşimlerden ya da hücre yüzeyi üzerindeki pozitif yüklerden kaynaklanmaktadır; böylece konakçı hücrelere virüs girişi engellenmektedir. *Chlorella sp.* ve *Dunaliella sp.* gibi ökaryotik mikroalgler, polisakkaritleri nispeten yüksek seviyelerde salgılayıp üretmektedirler. Bazı çalışmalarda, mikroalglerden elde edilen sülfatlanmış polisakaritlerin, *encephalomyocarditis* virüsü, *herpes simplex* virüsü tip 1 ve tip 2 (HSV1, HSV2), insan bağışıklık eksikliği virüsü (HIV), alabalık virüs *hemorajik septisemi*, domuz ateş virüsü ve *varicella* virüsü. gibi viral enfeksiyonu inhibe ettiği bildirilmiştir [19].

Gigartina atropurpurea, *Plocamium cartilagineum*, *Splachnidium rugosum* ve *Undaria pinnatifida* ekstraktları *herpes simplex* 1 (HSV-1) ve 2 (HSV-2) virüs tiplerini

engellemiştir. Alglerden elde edilen ekstraktlar ve farklı bileşikler gelecek antiviral tasarımı için umut vermektedir. Anti-HIV-1 aktivitesi olan lektinler, polisakkaritler ve tanenler deniz makroalglerinden izole edilmiştir. Deniz polisakkaritleri virüste birkaç adımda yaşam döngüsüne müdahale ederek veya konak bağışıklık yanıtlarını iyileştirip viral temizlenme sürecini hızlandırarak virüslerin çoğalmasını inhibe etmektedir [20].

2.3.3 Antioksidan

Antioksidanlar reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinen moleküllere karşı vücudu koruyarak insan sağlığına yararlı olduğu bilinmektedir. ROS'lar membran lipitleri, protein ve DNA'ya saldırabilir. ROS'lar kanser gelişiminde rol almaktadırlar. Yüksek ROS indirgeme aktivitesine sahip bileşiklerin kanser oluşumunu önlemesi mümkündür. Antioksidan aktivite; serbest radikal α , α -Difenil- β -picrylhydrazil (DPPH) temizleme ve Fe^{3+} , Fe^{2+} haline indirmek için peptidin kapasitesi ile ölçülmektedir [25].

Yağlar, proteinler ve nükleik asitlerde reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan oksidatif hasar, kalp hastalığı, ateroskleroz, kanser ve yaşlanma gibi birçok kronik hastalığa neden olabilmektedir. Mikroalgal biokütle gıda, kozmetik ve tıp alanında potansiyel uygulama alanları olan antioksidanlarca zengin doğal bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Dimetilkükürtproponat ve mikosporin amino asitler gibi antioksidan bileşikler mikroalglerden izole edilmiştir ve UV radyasyonunun güçlü kimyasal bloke edicileri oldukları tespit edilmiştir. Bu bileşiklere ek olarak, antioksidan aktiviteye sahip pigmentler, lipidler ve polisakkaritler de mikroalgal biokütlerde bulunabilir. Karotenoid bileşikler arasında, β -karoten ve astaksantin oldukça önemlidir. Bu bileşikler antioksidan özellikleri ve pigmentasyon yetenekleri nedeniyle gıda ve ilaç endüstrilerinde uygulama alanlarına sahiptirler. Mikroalg metabolizmasındaki karotenoid bileşikler ışık ve oksijenin neden olduğu zararlara karşı fotosentetik dokuları korumaktadırlar. *Dunaliella salina* mikroalgi, β -karoten pigmentinin önemli bir biyolojik kaynağı olarak kabul edilir ve kuru biokütlerde % 14'ten fazla β -karoten üretilmektedir. *H. pluvialis* astaksantin pigmentinin kaynağıdır ve kuru biyokütlerde %1-8 astaksantin üretilmektedir [19].

2.3.4 Antienflamatuar

Enflamasyon, toksinler ve patojenler gibi zararlı uyarıcıların neden olduğu bir hücre ya da doku yaralanmasının ani bir reaksiyondur. Bu durumda vücut saldırıdan sorumlu ajanları tanır ve mümkün olduğunca hızlı bir şekilde onları nötralize etmeye çalışır. Enflamasyon genellikle enfeksiyon bölgesinde kızarıklık, şişlik, ısı ve ağrıya neden olur. Antienflamatuar bileşiklerin ağız yoluyla alınması vücudun bağışıklık tepkisini artırır, hastalıkları önlemeye yardımcı olur ve iyileşme sürecinde yardımcı olur. Mikroalgler gıda olarak tüketildiğinde veya ilaç ve kozmetik olarak kullanıldığında vücutta koruyucu bir işlev gösterebilen çeşitli antienflamatuar bileşikler üretmektedir. Antienflamatuar yetenekli mikroalgal biyokütle organ ve dokuların yeniden oluşturulmasında kullanılmak üzere doku iskelelerinin geliştirilmesi için doku mühendisliği uygulamalarında dikkate alınmaktadır. Özellikle derinin tamamen kaybolduğu yanıkları bulunan hastalar için önemli bir uygulamaya sahiptirler. Bu tür özelliklere sahip en önemli mikroalg bileşikler arasında uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar), kükürtlü polisakkaritler ve pigmentler vardır. Birçok mikroalg polisakkaritleri makrofaj fonksiyonlarını etkinleştirerek ve reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit (NO) ve sitokinler / kemokinleri indükleyerek bağışıklık sistemini modüle etme kabiliyetine sahiptir. Makrofajlar doğuştan bağışıklık yanıtları düzenleme ve immün ve enflamatuar moleküler reaksiyonlar için sinyaller olarak hizmet eden sitokin ve kemokinleri salgılama yeteneğine sahiptirler. Antienflamatuar aktiviteye sahip kükürt polisakkaritleri, polimorfonükleer lökositlerin göçünün ve yapışmasının engellenmesi için cilt tedavilerinde uygulanabilir. PUFA'lar, özellikle $\omega 3$ ve $\omega 6$, eikosapentaenoik (EPA), dokosaheksaenoik (DHA) ve araşidonik (AA) asitler, romatizma ve cilt hastalıkları gibi kronik enflamasyon tedavisinde uygulanmaktadır. Antienflamatuar aktiviteye sahip pigmentler arasında, diatomlarda bulunan fukoksantin insan kanser hücrelerinde apoptosisi uyartabilir. Siyanobakterilerde bulunan fikosiyanın de histamin salınımının inhibisyonu yoluyla meydana gelen antienflamatuar aktiviteye sahiptir [19].

2.3.5 Dejeneratif Hastalıklar Üzerinde Potansiyeli Olan Bileşikler

Mikroalglerden elde edilen doğal pigmentler (NPs) nörodejeneratif hastalıkların tedavisi ve / veya önlenmesinde nöro-koruyucu özelliklere sahiptir. E vitamininin ateroskleroz ve kalp hastalığı ve aynı zamanda multiple skleroz gibi nörodejeneratif birçok hastalık için önleyici etkileri bulunmaktadır. Karotenoidlerin moleküler dejenerasyon ve katarakt oluşumu gibi dejeneratif hastalıkların tedavisi dahil olmak üzere insan sağlığına büyük potansiyel faydaları bulunmaktadır. Bu bileşikler ROS'lar tarafından oluşturulan oksidatif hasarı azaltan antioksidanlar olarak işlev görürler. Yapılan çalışmalar fenollerin alımlarının artmasıyla beraber dejeneratif hastalıkların oluşumunun azaldığı ve serbest radikallerle mücadele etme potansiyeline sahip mikroalglerden elde edilen fenolik bileşikler bildirilmiştir. *Dunaliella salina* insanlarda kanser ve dejeneratif hastalıklara yakalanma riskini azaltan β -karotenin doğal bir kaynağıdır. Lutein'in katarakt ve moleküler dejenerasyon ve aterosklerozun erken aşamalarında da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Chlorella*'dan ekstrakte edilen lutein'in kanserin görülme sıklığını azalttığı bildirilmiştir. Aynı şekilde, *Chlorella ellipsoidea* ve *Chlorella vulgaris*'ten ekstrakte edilen karotenoidler kolon kanserinin büyümesini önlemiştir. *Chlorella marina* mikroalginden ekstrakte edilen likopen'in belirgin biçimde sıçanlarda prostat kanserinin çoğalmasını azalttığı bildirilmiştir [19].

2.3.6 Sağlık Destekleme Potansiyeli Olan Bileşikler

Doğal pigmentler biyoaktif bileşiklerin değerli kaynaklarıdır. Bu pigmentler antioksidan, antikanser, antienflamatuvar, obezite önleyici, antianjiyojenik ve nöro-koruyucu aksiyon gibi çeşitli yararlı biyolojik aktivitelere sahip ve çeşitli kronik hastalıkların tedavisi ya da önlenmesinde etkilidirler. Karotenoid pigmentlerin antioksidan potansiyeli ve kanser, yaşlanma, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve dejeneratif hastalıkları önleme becerisi olduğu bildirilmiştir. β -karoten, görme ve bağışıklık sisteminin doğru çalışması için gerekli olan yüksek provitamin A aktivitesine sahiptir. Mikroalgal proteinler biyoaktif peptitlerin kaynağı olarak çeşitli hastalıkların tedavisindeki terapötik potansiyeli büyük ilgi görmektedir. Proteinler, peptitler ve amino asitlerin sağlık yararlarına katkıda bulunan işlevleri vardır. Bu bileşikler hasarlı dokuların değiştirilmesi için gerekli olan büyüme faktörleri, hormonlar ve immünomodülatörler içerebilirler. *Chlorella* ve *Spirulina* (*Arthrospira*) mikroalgleri,

zengin protein içeriği ve amino asit profili nedeniyle hastalıkları ve hücre ve dokuların zarar görmesini önlemektedir. Lizozimin sağlık etkileri ile ilgili çalışmalar *Spirulina platensis*, *Chlorella* ve *Dunaliella salina* mikroalgleri ile yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. *Chlorella* protein peptidleri ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve kanser gibi oksidatif stresle ilgili hastalıkların engellenmesi için diyet takviyesi olarak potansiyele sahiptir. Esansiyel yağ asitleri, ω -3 ve ω -6 özellikle doku bütünlüğü için önemlidir. Linoleik ve linolenik asitler bağışıklık sistemi ve diğer ilgili doku rejenerasyonu prosesleri için gerekli besin öğeleridir. Linoleik asit cilt hiperplazisinin tedavisi için kullanılır. En çok çalışılan mikroalgal lipid bileşikler, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar), dokosaheksaenoik asit (ω -3, C22: 6) (DHA), eikosapentaenoik asit (C20 ω -3: 5) (EPA), ve araşidonik asit (ω -6 C20: 4) (ARA). Yapılan çalışmalar, diyet ile alınan ω -3 PUFA'ların aterosklerotik kalp hastalıklarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [19].

2.3.7 Gıda

Mikroorganizmaların hemen her yerde bulunabilmesi ve insan sağlığı üzerindeki etkileri nedeniyle mikrobiyal gıda bozulmaları önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Gıda ürünleri bayat tatlılara, kokulara ve besin kalitesi ve gıda güvenliğinde azalmaya yol açan oto-oksidasyona uğramaktadırlar. Sentetik katkı maddelerinin değiştirilmesi ve yeni doğal antioksidan ve antibakteriyel maddelerin nutrasötik ajanlar olarak kullanımı teşvik edilmektedir. Çoklu fonksiyonel algal ekstraktlar gıda kalitesi ve güvenliğini geliştirmek için doğal koruyucular olarak gıdaların içine dahil edilebilir. Farklı çalışmalar gıda bozucu mikroorganizmalara karşı alglerin antimikrobiyal etkisini doğrulamıştır. Florotaninler gıda kaynaklı bakterilere karşı güçlü bir bakterisidal etki göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, gıda kaynaklı patojenlere karşı antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi için Hindistan'dan on yenilebilir alg türünü değerlendirilmiştir. *Gelidella acerosa* ve *Haligra* türleri yüksek fenolik içeriğine sahiptir ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir, ayrıca *G. acerosa* yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir [20].

2.3.8 Kozmetik

Deniz alglerinden elde edilen biyoaktif maddelerin, ikincil metabolit gibi çeşitli fonksiyonel rolleri vardır ve bu özellikler kozmetik maddelerin geliştirilmesi için

uygulanabilmektedir [22]. Mikroalg ekstraktları özellikle yüz ve cilt bakım ürünlerinde kullanılmaktadır (örneğin, yaşlanma karşıtı krem, canlandırıcı veya yenileyici ve yumuşatıcı bakım ürünleri). Mikroalgler ayrıca güneşten korunma ve saç bakım ürünlerinde de kullanılmaktadır. Kozmetik için kullanılan türlere örnek olarak *Chondrus crispus*, *Mastocarpus stellatus*, *Ascophyllum nodosum*, *Alaria esculenta*, *Spirulina platensis*, *Nannochloropsis oculata*, *Chlorella vulgaris* ve *Dunaliella salina* verilebilmektedir. Mikroalgler oksijenli fotosentez yapabilen klorofil-a ihtiva eden mikroorganizmalardır, ağırlıklı olarak sucul ortamlarda bulunan bu mikroorganizmalar yüksek düzeyde ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalmaktadırlar. Bazı mikroalgler fotosenteze katılan görünür UV radyasyon ışınlarından korunmak için sporopollenin, scytonemin ve mikosporin benzeri amino asitler gibi organik metabolitleri üretmektedirler [23].

2.4 Alg Türlerinin Özellikleri

2.4.1 *Chlorella sp.*

Chlorella sp. *Chlorophyta* grubuna ait yeşil tek hücreli mikroalglerin bir ökaryotik cinsidir. *Chlorella* mikroalgi klorofil, proteinler, polisakkaritler, vitaminler, mineraller ve esansiyel amino asitler açısından zengindir. Bu mikroalg, 53% (w/w) protein, 23% (w/w) karbonhidrat, 9% (w/w) lipit, ve 5% (w/w) minerallerden ve oligoelementlerden oluşmuştur [8]. Bu besin konsantrasyonları kültür koşullarının düzenlenmesi ile değiştirilebilir. Bu tür mikroalglerin biyokütlesi, kan hücrelerinin oluşumu ve rejenerasyonunda hayati önem taşıyan B kompleks vitaminleri özellikle B12 açısından zengindir. *Spirulina* gibi, *Chlorella* FDA tarafından yayınlanan GRAS sertifikasına sahiptir ve böylece doğru hijyen ve iyi üretim koşulları ile uygun bir ortamda yetiştirildiği zaman insan sağlığı için bir risk oluşturmadan gıda maddesi olarak da kullanılabilir. *Chlorella* tıbbi özellikte biyoaktif maddeler içerir. *Chlorella* ile yapılan deneysel çalışmalarda, antitümör, antikoagülan, antibakteriyel, antioksidan ve hepatoprotektif özelliğine ek olarak antihiperlipidemia etkisi ve enzimatik protein hidrolizat bağışıklık uyarıcı aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Birçok antioksidan bileşik *Chlorella*'nın fonksiyonel faaliyetlerinden sorumlu olabilir. Serbest radikallere karşı aktif olan lutein, α -karoten, β -karoten, askorbik asit ve α -tokoferol gibi antioksidanlar belirlenmiştir. Bu bileşiklerin sadece bir kısmı doğal renklendiriciler veya katkı

maddeleri olarak önemlidir, aynı zamanda kanser vakalarının azaltılması ve makula dejenerasyon (sarı nokta hastalığı)'nın önlenmesinde yararlı olabilir (Çizelge 2.2). Chlorelladaki en önemli biyoaktif bileşik, serbest radikalleri ve kandaki kolesterol seviyesini düşüren etkin immunostimülatör olan β -1,3 glucan dır. Mide ülseri, yaralar ve kabızlığa karşı bu bileşiğin etkinliği bildirilmiştir. Ayrıca, ateroskleroz ve hiperkolesterolemi karşı antitümör aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir [19].

Çizelge 2. 2 *Chlorella* cins mikroalglerden ekstrakte edilen biyoaktif bileşikler [19,8]

Mikroalg	Biyoaktif Bileşikler
<i>Chlorella vulgaris</i>	Kantaksantin, astaksantin, peptit, oleik asit, fenolik, trepenoidler, alkaloidler.
<i>Chlorella minutissima</i>	Eikosapentaenoik asit (EPA), fitol, fenol.
<i>Chlorella protothecoides</i>	Lutein, zeaksantin, kantaksantin.

Chlorella vulgaris antimikrobiyal özelliği olan fenol %0.20, alkaloid %2.45, peptit ve antioksidan özelliği olan terpenoid %0.09, kantaksantin, astaksantin, oleik asit içermektedir. *Chlorella minutissima* antimikrobiyal özelliği olan fitol %2.70, fenol %1.81, eikosapentaenoik asit (EPA) içermektedir. *Chlorella protothecoides* antioksidan özelliği olan lutein %4.60, zeaksantin, kantaksantin içermektedir(Çizelge 2.2) [19,8].

2.4.1.1 *Chlorella vulgaris*

İsmi, Latince 'küçük, taze yeşil' anlamına gelen ve bitkiler aleminde adını içinde taşıdığı klorofilden alan yeşil bir plankton cinsidir. Bilinen en eski canlılardan ve besin kaynaklarından biridir. İlk saf kültürü Hollandalı mikrobiyolog M. J. Beijerinck tarafından 1890 yılında yapılmıştır [4]. Mikroskobik boyutta, yeşil bir tatlı su algisi olan *Chlorella*, tek hücreli olmakla birlikte vitamin, protein, mineral, temel yağ asitleri, aminoasitler, nükleik asitler (RNA, DNA), enzimler ve karotenoidlerin yoğun bir kaynağıdır [13]. Tek başına mükemmel bir besin kaynağı olup, % 50-60 oranında proteinden oluşmakta ve klorofil'in doğada bilinen en yüksek kaynağıdır. Buna ek olarak demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir. *Chlorella*, sığır karaciğerinden daha yüksek miktarda B12 vitamini içermektedir [4].

2.4.1.2 *Chlorella minutissima*

Chlorophyta bölünme ait *Chlorella minutissima* küresel şeklinde, klorofil a ve b'ye sahip bir mikroalg türüdür. *Chlorella minutissima* amino asitler ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir, bu özelliği onu sağlık sektöründe, gıdalar ve ilaçlar da potansiyel olarak yararlı kılmaktadır [31]. Potansiyel alg türleri arasında *Chlorella minutissima* yüksek lipid içeriğine (% 57) sahiptir [32].

2.4.1.3 *Chlorella protothecoides*

Chlorophyta bölünme ait yeşil bir tatlı su mikroalgi olan *Chlorella protothecoides* ototrofik ve heterotrofik yetiştirilebilen bir mikroalg türüdür. Diğer çeşitli alg suşları ile karşılaştırıldığında *Chlorella* mikroalgleri araştırma alanında özellikleri en çok belirlenmiş türlerden biridir. Karbon kaynağı, azot kaynağı, fosfor, sülfür, oksijen ve diğer mikro besinler gibi birkaç önemli faktör algin gelişimini etkilemektedir. Birçok yayında *Chlorella protothecoides*'in farklı çevresel koşullar altında ve farklı karbon kaynaklarını kullanarak yüksek biyokütle ve lipid birikimi elde ettiği bildirilmiştir [33].

2.4.2 *Ulva lactuca*

Genelde tropik bölgelerde birçok çeşidi görülen ve fotosentez yapabilen bir makroalg türüdür. Tatlı sularda ve denizlerde yaşarlar[34]. Tallusları yaprak şeklindedir ve tallusu tek nükleuslu ve çanak şekilli kloroplast hücrelerinden oluşturmaktadır [14]. *Ulva lactuca* A vitamini içerir ayrıca vücuda yararlı birçok etkisi de vardır. *Ulva lactuca* içerdiği anti-obezite ajanı sayesinde hızlı kilo vermeyi sağlar. Bu ajan aynı zamanda vücutta yağ birikimini de önlemektedir. *Ulva lactuca* antioksidan ve yaşlanma karşıtı vitaminleri olan A, C ve E vitaminlerini ve çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermektedir [35]. Bütün *Ulva* türleri fotosentez pigmenti (kloroplast) içerirler. Fotosentetik pigmenti olarak sadece klorofil a ve klorofil b ve az miktarda karotenoid bulunmaktadır. Kültür koşulları; sıcaklık ve pH değişimlerine karşı oldukça dayanıklıdır [36].

2.5 Yetiştirme Koşulları

Mikroalg kültürasyonu için üreme koşulları mikroorganizmaların metabolizmasını etkileyen önemli bir faktördür. Birçok araştırmacı, inkübasyon sıcaklığı, ortamın pH'sı, yetiştirme süresi, tuz oranı, ışık yoğunluğu ve ortam bileşenlerinin antimikrobiyal maddelerin sentezine etkisini incelemiştir [19].

2.5.1 Mikroalg Üretimine Etki Eden Parametreler

Algal büyümeyi düzenleyen en önemli parametreler; besin kalitesi ve miktarı, ışık, pH, karıştırma, tuzluluk ve sıcaklıktır. Optimum parametreler ve tolerans aralıkları türe özgüdür [18]. Fotosentez sırasında, sadece ışık ve besinler kullanılarak lipitler, proteinler ve karbonhidratlar üretilmektedir. Bu metabolik ürünlerin miktarları çevresel koşullar ile bağlantılıdır. Güneş ışığının miktarı ve yoğunluğu, CO₂ düzeyleri, pH, sıcaklık, besin uygunluğu bu koşullardandır. Algin büyümesi için karbon, hidrojen ve oksijenden oluşan mineral olmayan besinler de gereklidir. Çevre koşulları (ışık ve sıcaklık) ve mineral olmayan besinler, makro besinler ve mikro besinler büyük ölçüde mikroalglerin biyokimyasal kompozisyonunu etkilemektedir [38].

2.5.1.1 pH, Sıcaklık ve Işık

Alglerin bulunduğu ortamın pH'ı alglerin gelişmesine etki ettiği gibi metabolizmalarını da etkilemektedir [39]. pH kontrolü, kültür ortamı bileşenlerinin etkili emilimi için gereklidir çünkü doğrudan çeşitli kimyasal elementlerin kullanılabilirliğini etkilemektedir. Kültür ortamında bazı besinlerin azalması spesifik biyo ürünlerin üretimine neden olabilmektedir [19]. pH; alg metabolizması için önemli olan CO₂ ve gerekli besinlerin çözünürlüğü ile kullanılabilirliğini belirler. Maksimum alg büyümesi nötr pH aralığında gerçekleşir. Optimum pH, algin büyümeye adapte olduğu pH'dır [38]. Her tür, spesifik olarak belirli bir pH aralığında üreyebilir. pH, birçok alg türünün kültüründe 7-9 aralığındadır. Optimum aralık ise 8,2-8,7 arasında değişmektedir [40]. Kültür için uygun pH'nın sağlanamaması, hücrelerin parçalanarak içeriğinin ortama geçmesine ve kültürün ölümüne yol açar. Çok yoğun kültürlerde, zamanla pH artışı meydana gelir. Bu durumda pH dengesi uygun miktarlarda eklenen CO₂ ile uygun aralıkta tutulur [18].

Işık, hücrelerin çoğalmasına ve böylece hücre konsantrasyonunun artmasına neden olan fotosentez için gerekli önemli bir parametredir [19]. Fotosentetik büyüme her bir hücrenin kullandığı ışık enerjisiyle orantılı olduğu için, üretimlerde ışığın optimum seviyelerde sağlanması gerekir [18]. Işık şiddeti biyokütlenin biyokimyasal bileşimini de etkilemektedir. Artan ışık şiddeti ile yağ asit içeriği azaltılabilir. Çalışmalar ayrıca ışık şiddetinin mikroalgal antioksidanlar üzerindeki etkisini göstermektedir [19]. *Dunaliella tertiolecta*'da ışık şiddetinin artmasıyla protein içeriğinde azalma ve lipid fraksiyonunda artış görülmektedir [38]. Kültürlerde hızlı bir büyüme elde etmek için genellikle sürekli aydınlatma yapılır. Ancak sürekli aydınlatma her tür için uygun olmayabilir. Bu durumda aydınlatmada fotoperiyod uygulanır. Kapalı alanlardaki mikroalg sistemlerinde genellikle floresan lambalar kullanılır ve kültür kaplarının maksimum şekilde aydınlatılmasını sağlayacak şekilde düzenlenirler [41]. Işık miktarının artması ile fotosentetik organizmaların büyüme hızları artar. Işık miktarının artışı, belli bir noktadan sonra doygunluk seviyesine ulaşılmasına neden olur. Bu noktadan itibaren hücreler ürettikleri enerjiyi ısı olarak açığa çıkartırlar. Yüksek ışık seviyelerinin devam etmesi durumunda organizmanın dengesi bozularak üretilen yüksek miktarda enerji nedeniyle inhibisyon meydana gelir ve fotoinhibisyon durumunda geri dönülmez zararlar oluşabilir [18].

Tüm canlı organizmaların büyümesi için en önemli faktörlerden biri sıcaklıktır. Sıcaklığın mikroalglerden biyokütle, proteinler, lipidler ve fenolik bileşiklerin üretiminde büyük bir etkisi vardır. Mikroalglerin yetiştirilmesi için optimum sıcaklık 35-37°C olarak belirlenmiştir [19]. Solunumla ilgili enzimler sıcaklıktan etkilenirler ve bu nedenle her bir akuatik alg grubunun tercih ettiği bir sıcaklık değeri vardır. Örneğin; *Chlorophyceae*'ler 30-35°C ve *Cyanophyceae*'lar 35-40°C arasında en iyi gelişme gösterirler [42]. Sıcaklık; alg büyüme oranını, hücre boyutunu, biyokimyasal bileşimini ve besin gereksinimlerini etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biridir. Sıcaklığın değişmesi ile birlikte en sık görülen değişikliklerden biri lipid zarı içinde yağ asitlerin doymamışlık seviyesindeki değişikliklerdir. Düşük sıcaklıklarda hücre zarının akışkanlığı da azalmaktadır. Hücrelerin akışkanlığını geliştirmek için, mikroalgler doymamış yağ asitlerinin seviyelerini artırır, lipid içeriğindeki azalma polisakkarit birikimine yol açar. Benzer etkiler *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella vulgaris*'te optimum büyüme sıcaklığı 25 °C'de gözlenmiştir. *C.vulgaris*'te sıcaklığın 25 °C'dan 30 °C'a artışı ile lipid içeriği %14,71 'den % 5.90'a inmiştir. Sıcaklığın optimum değerinin üzerine

ıkması protein sentezini azaltır ve büyüme oranında azalmaya neden olur. Sıcaklık karotenoid oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Karotenoidler fotosentez sırasında kullanılmak üzere ışık enerjisi emerler [38].

2.5.1.2 Besinler

Mikroalglerin metabolizması ototrofik veya heterotrofik olabilir. Mikroalgler dış evre değişikliklerine hücre içi ortamındaki değişiklikleri ile tepki verirler. Bu nedenle, kültür koşulları veya besin varlığı veya yokluğunun manipülasyonu spesifik bileşiklerin sentezini uyarır. Bu durum ilk defa, *Chlorella*'nın biyokütle kompozisyonunu yetiştirme koşulları değiştirilerek özellikle protein ve lipid içeriğini değiştiren Richmond tarafından bildirilmiştir. Mikroalglerin beslenme ihtiyaçları evre koşullarına bağlıdır. Mikroalgler büyüme için, C, N, O, H, P, Ca, Mg, S ve K gibi makro besinlere ve Fe, Mn, Cu, Mo ve Co gibi mikro besinlere gereksinim duymaktadırlar. Buna ek olarak, bazı türler kültür ortamı içinde düşük konsantrasyonda vitaminlere gereksinim duymaktadırlar [19]. Algler esas olarak büyümelerinde ana inorganik elementlere ihtiyaç duyan ototrofik organizmalardır. Fotosentez olayında kullanılan karbondan başka protein, nükleik asit ve diğer kompleks moleküllerin üretimi için azot, fosfor, silikon, demir, manganez gibi inorganik elementlere ve bazı alglerde olduğu gibi ilave organik bileşikler ile vitaminlere ihtiyaç gösterirler [42]. Kültür ortamı mikroalglerin çoğalması ve / veya hayatta kalması için gerekli olan besinleri içerecek şekilde formüle edilmiş kimyasal preparatlardır. Kültür ortamı mikroalglerin beslenme ihtiyaçlarını karşılaması, süreç kontrolünde yardımcı olması ve oldukça sabit bileşime sahip olması gerekmektedir [19].

2.5.2 Mikroalg retiminde Kullanılan Besin Ortamları

Mikroalg kültüründe hücre konsantrasyonu doğada bulunandan daha yüksektir. Bu nedenle alg kültür suyu nutrientlerce zenginleştirilmelidir. Mikroalg ihtiyacı için başlıca nutrientler makro ve mikronutrientler olarak 2'ye ayrılır. Makronutrientler karbon, nitrat, fosfat ve silistir. Mikronutrientler ise demir, bakır, çinko, kobalt, manganez, molibden gibi çeşitli iz elementleri ile tiamin (B1), cyanocobalamin (B12) ve biotin gibi vitaminleri içerir. Alglerin iyi bir şekilde gelişimi için bu elementler kültür ortamında bulunmalıdır [41].

2.5.2.1 Bold Basal Ortamı

Kimyasallar	Distile Su Litre Başına
KH_2PO_4	175 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	75 mg
NaNO_3	250 mg
K_2HPO_4	75 mg
NaCl	25 mg
H_3BO_3	11.42 mg
Microelement stock solution	1 ml
Solution 1	1 ml
Solution 2	1 ml
Microelement Stock Solution	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.82 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.44 g
MoO_3	0.71 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.57 g
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.49 g
Solution 1	
Na_2EDTA	50 g
KOH	3.1 g
Solution 2	
FeSO_4	4.98 g
H_2SO_4 (Conc.)	1 ml
pH = 6.8	

[24]

2.5.2.2 Ağaç Suyunun Kültür Ortamı Olarak Kullanımı

Ağaç kabuğu içinde bulundurduğu zengin maddeler nedeniyle ağaç suyu, birçok farklı alanda kullanıma elverişli olmaktadır. Ağaç suyu klasik olarak ağacın kurutmayla elde edilebileceği gibi, yeni geliştirilen teknolojiyle yani radyo frekans kullanılarak vakumlu kurutma veya normal kurutma da yapılabilmektedir. Ağaç suyunun içeriği incelendiğinde; hormonlar, mineral maddeler, organik asitler ve amino asitler tespit edilmiştir. Ağaç suyunun içerdiği hormonlar ve diğer zengin besin maddeleri nedeniyle alglerin ağaç suyuyla beslenmesi durumunda algin büyümesinin hızlanacağı, besin içeriğini (yağ, karbonhidrat vb.) arttırarak zenginleştirilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca ağaç suyu içerdiği hormonlar ve organik asitler nedeniyle piyasada çok yüksek fiyatlarda satılan algal besin ortamlarına olan ihtiyaç azalmaktadır [48,49].

2.5.2.3 Atık Suyun Kültür Ortamı Olarak Kullanımı

Bazı atıksular mikroalglerin miksotrofik / heterotrofik ekimi için organik karbonlarını yüksek konsantrasyonda içerir. Bu nedenle, bu tarz atık sular mikroalg kültivasyonu için hem karbon hem de azot kaynakları olarak kullanılabilir. Atık sularda mikroalglerin yetiştirilmesi tercih edilen bir yöntemdir çünkü, üretim maliyetlerinde önemli bir azalmaya yol açar ve bu tür atık sudan fosfor, azot, ağır metaller ve patojen gibi çeşitli kirleticilerin kaldırılması ile tatlı suya olan talep de azalmaktadır. Karbon, nitrojen ve fosfora ek olarak, mikroalgal büyüme ve ya  üretimi için alglar mikrobesein maddelerine ihtiyaç duyar. Mikrobeseinler eser miktarda silis, kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, manganez, sülfür, çinko, bakır, çinko, nikel, kurşun, krom ve kobalt içerir. Atık sular organik besin bakımından zengindir. Mikroalg kültürleri için belediye, endüstriyel ve tarımsal atık suları kullanılmaktadır [50]. Mikroalglerin ihtiyaç duydukları kültür ortamının kimyasal kompozisyonu doğal ortamlarına benzer olmalıdır. Ya lar, pestisidler, organik ya da inorganik ağır metaller gibi toksinleri kapsayan su kullanılmamalıdır. Çok az miktardaki intoksitidleri içeren suyun alglar üzerinde etkili olduğu ve gelişimi engellediği bilinmektedir [41].

2.6 Fungal Mikroorganizmalar ve  zellikleri

P. expansum mavi k f hastalığına neden olduğu bilinmektedir. Hastalanmı  ve yaralanmış meyvelere daha fazla zarar vermektedir. Ayrıca *P. expansum*  zellikle elma ve armutlarda toksik, mutajenik ve kanserojen etki gösteren patulin adında mikotoksin salgılar.

Alternaria   r kl kleri genellikle yumuşak çekirdekli meyvelerde görülmektedir. Hasat  ncesi ve sonrası meyve çürümelerine neden olurlar. Elmanın orta kısımlarında erken evrelerde renk açılmasına neden olur. Hastalık etmeni toksik özellikte bazı maddeler de üretir.

Aspergillus niger, saprofit bir etmen olup hasat sonrası büyük kayıplara yol açar. Bu hastalık etmeni depolardaki sağlıklı meyvelere, doğrudan temas ile ve hava akımları ile bula abilir. Bu zararlı etmene genellikle uygun olmayan koşullarda depolanan meyvelerde rastlanmaktadır. Enfekte olan meyveler üzerinde söz konusu fungal etmenin siyah renkli sporlarını görmek mümkündür. Yol açtığı enfeksiyon, meyvelerde içeri doğru ilerler ve ürettiği bazı enzimlerin aktivitesi sonucunda meyveler yumu ayabilmektedir.

Fungisitlerin kullanım oranı dünyada farklılıklar göstermekte ve her yıl yaklaşık 23 milyon kg fungusit sebze ve meyveler üzerine uygulanmaktadır. Ancak sebze ve meyvelerin, yüksek oranda sentetik kimyasallarla muamele edilmesi sonucu, karsinogenik, teratojenik, yüksek akut toksijenik etkiler oluşmaktadır. Ayrıca bu kimyasallar çevre kirliliğine yol açmakla beraber gıdalar üzerinde olumsuz etkilere ve insanlar üzerinde yan etkilere de neden olmaktadır. Bu gibi sebeplerden dolayı, farklı mücadele yöntemlerine başvurulmaktadır. Son yıllarda sentetik kimyasallardan daha ziyade doğal koruyucu maddelerin kullanımı git gide daha yaygın bir hale gelmektedir. Başka bir ifadeyle; biyolojik bozulmayı kontrol altına almak ve depolama ömrünü uzatmak amacıyla doğal ürünlerin kullanımı giderek daha çok tercih edilmektedir [59].

2.7 Bakteriler ve Özellikleri

Morganella cinsinin tek türü *Morganella morganii*'dir. *Morganella morganii*, Gram negatif ve hareketli özellikte olup fakültatif solunum yapar. *M. morganii* hücreleri düz çubuk şeklinde, yaklaşık 0.6-0.7 µm çapında ve 1,0-1,7 µm uzunluğundadır. İdrar yolları ve diğer çeşitli enfeksiyonlarda patojenik özellik göstermektedir [86].

Proteus cinsi bakteriler Gram negatif, hareketli, sporsuz ve kapsülsüzdür. *Proteus* insan dışkısının normal barsak florasında bulunan bir bakteridir. Bu nedenle lağım sularında sıklıkla bulunmaktadır. Hastalarda genellikle diğer bakterilerle birlikte enfeksiyonlara yol açmaktadır [87].

Aeromonas cinsi bakteriler, oksidaz ve katalaz pozitif, sporsuz, kapsülsüz, aerop ve fakültatif anaerop, kıvrık ya da düz, Gram negatif çomaklardır. En yaygın görülen enfeksiyonları ekstraintestinal olarak bildirilmektedir [47].

Mycobacteriaceae cinsi bakteriler, Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, bölünme süreleri 12-18 saat olup yavaş üreyen, pleomorfik çomaklardır. Mikobakterilerin hücre duvarı düşük permabilite ve hidrofobisite'ye sahiptir. Bu nedenle hidrofilik antibiyotikler, metal iyonları ve dezenfektanlar gibi toksik ajanlar oksijen radikalleri gibi hücrel toksinlere karşı intrinsik dirence sahiptirler ve bu şekilde kendilerini hücre içi ve hücre dışı zararlılara karşı korumaktadırlar. Bu özelliklerine ek olarak, mikobakteriler, hücre duvarlarında taşıdıkları bazı yapı elemanları ile konağın immun cevabını da etkileyerek tedaviye cevap vermeyen yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlara yol açarlar [54].

Antimikrobiyaller, etki mekanizmalarına göre beş sınıfta toplanırlar:

1. Bakterilerin hücre duvarının sentezini inhibe edenler

2. Protein sentezini inhibe edenler
3. Sitoplazma membranının geçirgenliğini artırarak etki gösterenler
4. DNA veya mRNA sentezini bozanlar
5. Bakterinin metabolizması için gerekli maddelerin sentezini önleyenler [85]

2.8 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Algal ekstraktların veya metabolitlerin antimikrobiyal aktivitesini ölçmek ve belirlemek amacıyla araştırmacılar tarafından çeşitli yöntemler kullanılmaktadır [20].

Antimikrobiyal duyarlılık testleri içinde en sık kullanılanları:

- Disk difüzyon testleri
- Dilüsyon testleri : Agar dilüsyon testleri ve Broth dilüsyon testleri [53]

2.8.1 Difüzyon Yöntemi

Antibakteriyel ve antifungal etkinliğini değerlendirmek için araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan yöntem agar disk difüzyon yöntemidir [20]. Bu yöntemde test materyali agarda difüze olur ve difüze olduğu mesafe kadar test mikroorganizmalarını inhibe etmektedir. Bu yöntemin disk difüzyon (Kirby-Bauer) ve kuyucuk agar difüzyon yöntemleri olarak adlandırılan iki benzer yöntemi vardır. Bu iki yöntemdeki tek fark test edilecek olan materyallerin agar üzerine yerleştirilmeleri farklıdır. Kuyucuk agar yönteminde değerlendirilecek olan madde (alg ekstraktı) agar üzerinde açılan standart çukurlara (kuyucuklara) yerleştirilirken, disk difüzyon yönteminde değerlendirilecek olan madde (alg ekstraktı) kâğıt diske emdirilip agar yüzeyine yerleştirilir [53]. Thanigaivel ve ark.; kültür ortamı içeren Petri kapları hazırlamış ve seçilen mikroorganizmaları eküvyon ile aşılamiştir. Steril koşullar altında 6-8 mm çapında kuyucuklar bir zımba ile açılmış ve alg ekstraktları bunların içine yerleştirilmiştir [20].

Disk difüzyon yönteminde ise, antimikrobiyal madde içeren kâğıt diskler, test mikroorganizmasından (belirli bir bakteri ya da mantar kültürü [20]) hazırlanan süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine belirli mesafelerde yerleştirilir [53]. Çözünür ekstraktlar kültür ortamı içine nüfuz eder (genellikle bakteriler için Mueller-Hinton agar, mantar suşları için Saboureaud agar plakaları kullanılmaktadır) ve her mikroorganizma için uygun inkübasyon süresinden sonra, mikrobik büyüme disklerin etrafındaki inhibisyonu zonu ile ölçülür ve kaydedilir [20]. Diskteki antimikrobiyal

madde bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi inhibe eder. Sonuç olarak, disk çevresinde bakteri üremesinin inhibe edildiği dairesel bir inhibisyon alanı (zonu) oluşur. İnhibisyon alanının çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenir [53].

2.8.2 Dilüsyon Yöntemi

Antibiyotiklerin sıvı veya katı (agarda) besiyerlerinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek belirli sayıda hücre içeren bakterinin süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesidir. Yöntemde, 35-37 °C’de bakterinin üremesi için kültür 16-20 saat arasında inkübe edilmektedir. Antimikrobiyal maddenin konsantrasyonu, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon (buyyon) bulanık gözükür. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun inhibitör düzeyinden daha yüksek olduğu tüplerde ise buyyon berrak gözükmemektedir. İnhibe edici en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) olarak adlandırılmaktadır [53].

2.9 Algal Antimikrobiyal İlaç Üretimi

Potansiyel antimikrobik maddelerin farklı kimyasal özelliklerinden dolayı, maksimum üretim, ekstraksiyon ve kurutma koşulları her zaman optimize edilmelidir [20].

2.9.1 Algal Antimikrobiyal İlaç İçeriğini Etkileyen Faktörler

Ontogenetik ve çevresel etkiler, mevsimsel değişiklikler, okyanus ısısı, tuzluluk ve kirleticiler gibi doğal faktörler algal biyoaktif içeriği üzerinde derin bir etkiye sahiptir [21]. Ayrıca, alglerin kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktiviteleri; türlerin fizyolojik durumu, tallusunun bölgesi, çevresel açıdan (iklim, konum, tuzluluk, sıcaklık), kirlilik, büyüme koşulları ve toplama zamanına göre değişiklik gösterir. Farklı çalışmalar kimyasal bileşimin ve antimikrobiyal etkinin mevsimlere göre değişimi/farklılığını doğrulamıştır. Çoğu araştırmacı, ilkbaharda maksimum antimikrobiyal etki tespit etmiştir. Bununla birlikte, fenolik bileşim ve antioksidan/antibakteriyel etki mevsimlere göre farklılıklar göstermiştir, ilkbahar ve yaz aylarında en yüksek inhibisyon etkinliği ve kış aylarında ise en yüksek fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi gözlenmiştir. Diğer çalışmalar alg sınıfları arasındaki antifungal ve antibakteriyel etkilerin mevsimsel

değişimini ve bazı mevsimlerde daha düşük aktiviteli olduklarını göstermiştir; *Phaeophyceae*'nin belirli mevsimlerde daha düşük aktiviteli olduğu, *Rhodophyceae*'nin mevsim boyunca farklılıklar gösterdiği ve *Chlorophyceae*'nin yıl boyunca aktif olduğu gözlenmiştir [20].

2.9.2 Algal Antimikrobiyallerin Ekstraksiyonu

Biyoaktif verim ekstraksiyon yönteminden etkilenebilir. Taze alglerdeki uçucu antimikrobiyallerin (hidrojen peroksit, terpenoid ve bromo-eter bileşikleri ve uçucu yağ asitleri) kaybı yüksek sıcaklıklarda ortaya çıktığı için kurutma aşaması oldukça önemlidir. Bazı araştırmacılar; hücre membranlarının geçirgenliği arttığı için yüksek sıcaklıklarda kurutulmuş alg ekstraktlarının *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua* ve *Staphylococcus aureus*'un hem klinik hem de gıda izolatları üzerinde daha geniş inhibisyon zonları olduğunu gözlemişler. Cox ve ark.; *H. elongata* türünün hidrotermal işlenmesi ve kurutması sırasında toplam fenolik ve antioksidan içeriğinin azaldığını raporlamışlardır [20].

2.9.3 Ekstraksiyon Yöntemi ve Çözücüler

Ekstraksiyon yöntemi ve çözücü seçimi ekstraktın fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkilemektedir. Deniz alglerinden gelen antibakteriyellerin kazanımı için çeşitli ekstraksiyon protokolleri rapor edilmiştir. Bunlar Soxhlet ekstraksiyonu ve organik çözücüler, enzimler veya bakteriyel fermentasyonun kullanılmasını içermektedir. Protokoller farklı ekstraksiyon sıcaklıkları, süreleri, pH aralıkları ve konsantrasyonlarını kullanırlar. Tüm bu değişkenler nihai antibakteriyel ürünün etkinliğini etkilemektedir [21].

2.10 Denizsel Antibakteriyellere Karşı Karasal Antibakteriyeller

Hem denizsel hem de karasal organizmalar bakteriyel enfeksiyonlardan korunmak için ikincil metabolitler üretirler. Bu metabolitler insanları ve hayvanları etkileyebilen pek çok patojenik bakterilere karşı aktiviteye sahiptir. Denizsel alg ekstraktları, lavanta ve çay ağacı yağı gibi karasal bitki ekstraktları ile birlikte doğal antimikrobiyal maddeler olarak tarih boyunca ilaç olarak kullanılmıştır. Denizsel ve karasal organizmalar çok farklı çevresel sorunlarla karşı karşıya olduğundan, yapısal özellikleri ve metabolitlerinin farmakolojik aktivitesi önemli ölçüde farklıdır. Algler gibi denizsel

organizmalardan elde edilen bazı antibakteriyel bileşiklerin karasal kaynaklarından daha yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu önerilmiştir. Havaya kıyasla deniz suyu daha fazla bakteriyel hücrelere sahiptir, okyanusta biyolojik kirliliği önlemek için daha çok organizmalara ihtiyaç vardır [21].

2.11 Sinerjistik Etkiler

Sinerji geleneksel ilaç veya doğal ürünler gibi farmakolojik etkinliğe sahip, iki veya daha fazla bileşik arasında oluşabilir. Tek tek kullanıldığında elde edilecek etki aktif maddeler birleştirildiğinde daha kuvvetli bir etki gösterir ve bu durum kontrendikasyon (uygun olmayan tedavi) şeklinde olumsuz bir etki üretebilir. Bununla birlikte, kontrollü sinerjistik etkileşim aktif maddelerin daha düşük dozlarda kullanılmasına olanak tanır, bu durum daha az yan etki ile sonuçlanabilir. Bazı denizsel alg türevlerinin ilaçların farmakolojik etkinliğini arttırarak patojenik bakterilerle mücadele için kullanıldığı bildirilmiştir. Lee ve ark.; diş enfeksiyonlarına neden olan ve diş çürümesine yol açan *periodonto* patojenik bakterileri inhibe etmek için; kahverengi alglerden elde edilen sülfatlı polisakkarit fukoidan ile antibiyotikleri birleştirerek sinerjik etkisini incelemiştir. Fukoidan yaygın olarak kullanılan iki antibiyotik ampisilin veya gentamisin ile birleştirilmiştir. Fukoidan / antibiyotik komplekslerin minimum inhibisyon ve bakterisidal konsantrasyonları; *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus ratti*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus gordonii*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas gingivalis* türlerine karşı ölçülmüştür. Sonuçlar son derece anlamlı bulunmuştur. Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) ve minimum bakteri öldürücü konsantrasyon (MBK) değerleri ortalama dört kat azaltılmıştır. Bu nedenle, fukoidan ile birleştirildiğinde ampisilin veya gentamisin dozun sadece dörtte biri tüm bakteri türlerini öldürmek için yeterli olmuştur. Çalışmada fukoidan'ın doğal antibakteriyel özellikleri ve bakteriyel hücre duvarı sentezini etkileme yeteneği sonucu gözlenen sinerjik etkiden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Deniz algi türevleri ve geleneksel antibiyotikler arasındaki bu sinerji antibiyotiğe dirençli bakterilerle mücadele için yenilikçi bir yaklaşım olarak gelişmeye devam etmektedir [21].

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1 Materyaller

3.1.1 Alg Örnekleri

- *Chlorella vulgaris*'in Sistematığı

Alem : Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm: Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf: Chlorophyceae

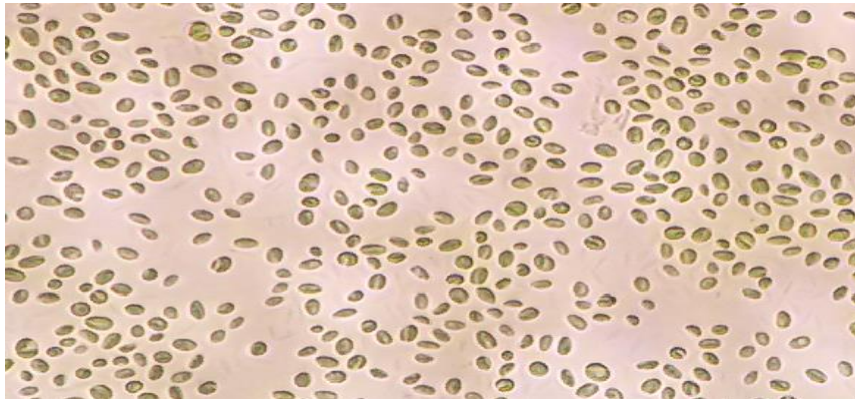
Takım: Chlorococcales

Aile: Oocystaceae

Cins: Chlorella

Tür: *Chlorella vulgaris* [13]

Şekil 3.1'de OLYMPUS CX22 mikroskobu ile çekilen *Chlorella vulgaris* fotoğrafı görülmektedir.



Şekil 3. 1 *Chlorella vulgaris*'in mikroskobik görüntüsü

•*Chlorella minutissima*'nın Sistematığı

Alem: Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm: Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf: Chlorophyceae

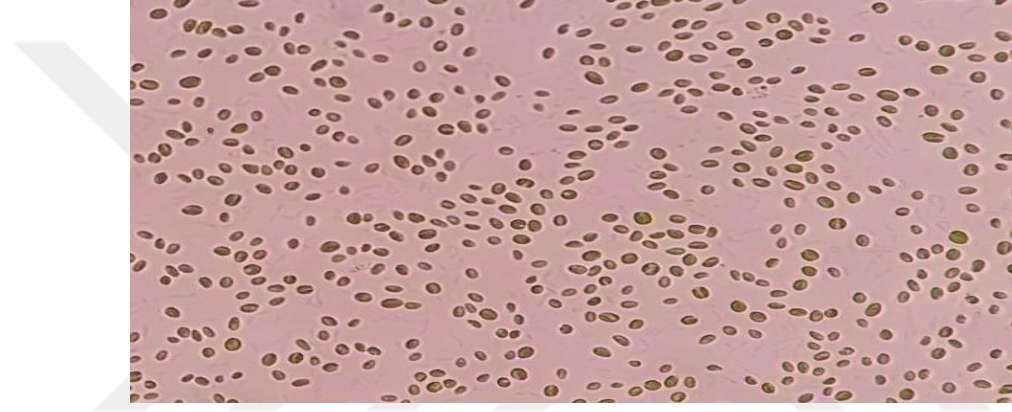
Takım: Chlorococcales

Aile: Oocystaceae

Cins: Chlorella

Tür: *Chlorella minutissima* [13]

Şekil 3.2'de OLYMPUS CX22 mikroskobu ile çekilen *Chlorella minutissima* fotoğrafı görülmektedir.



Şekil 3. 2 *Chlorella minutissima*'nın mikroskopik görüntüsü

•*Chlorella protothecoides*'in Sistematığı

Alem: Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm: Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf: Chlorophyceae

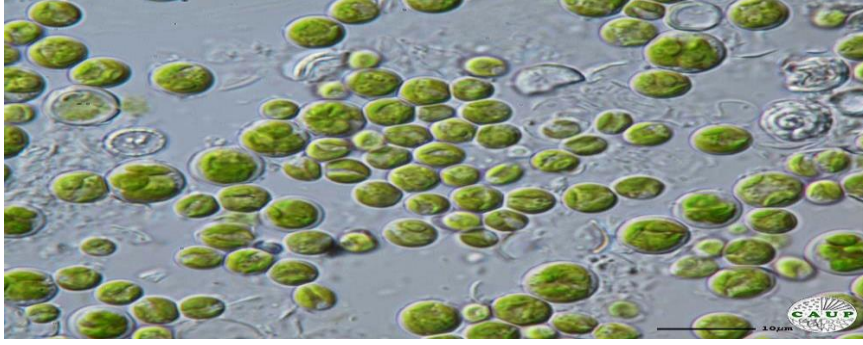
Takım: Chlorococcales

Aile: Oocystaceae

Cins: Chlorella

Tür: *Chlorella protothecoides* [13]

Şekil 3.3'te *Chlorella protothecoides*'in mikroskopik görüntüsü bulunmaktadır [88].



Şekil 3. 3 *Chlorella protothecoides*'in mikroskopik görüntüsü [88]

•*Ulva lactuca*'nın Sistematigi

Alem: Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm: Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf : Ulvophyceae

Takım: Ulvales

Aile : Ulvaceae

Cins : Ulva

Tür: *Ulva lactuca* [14]

Şekil 3. 4'te *Ulva lactuca*'nın görüntüsü verilmektedir.



Şekil 3. 4 *Ulva lactuca*'nın görüntüsü

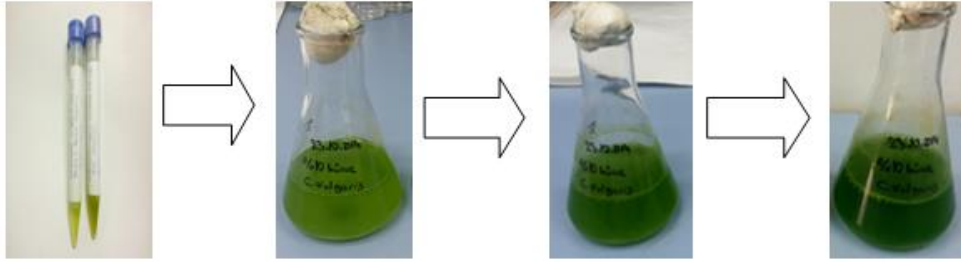
3.1.2 Mikroalglerin Kültür Ortamı

Çalışmada kullanılan BBM ortamı, %30'luk Iroko ağaç özütü [61] ve İSKİ atık suyu ile hazırlanan alg türleri; *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* saf kültür dolabındaki tüplerden alınarak erlenmeyerlere 0,15 litre çalışma hacimli olacak şekilde %10 oranında ekilmiştir (Şekil 3. 6). Besin ortamı olarak BBM ortamı distile suyla 50x oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Kültürler 150 rpm'de çalışan çalkalamalı

inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Mikroalg gelişimi için özel dizayn edilmiş inkübatörde (Şekil 3.5) erlenmeyerlere eşit mesafede 18 wattlık flouora özelliğe sahip kırmızı mor renkli flouora lambalar yerleştirilmiştir ve ortam sıcaklığı $25\pm3^{\circ}\text{C}$ 'a ayarlanmıştır. Çalışma sürekli ışıklandırma koşullarında sürdürülmüştür.



Şekil 3. 5 Alg gelişimi için özel dizayn edilmiş inkübatörde mikroalg kültürleri



Şekil 3. 6 BBM ortamında *Chlorella vulgaris*'in büyümesi

Chlorella vulgaris ve *Chlorella minutissima* türleri için optimum ortam parametreleri Çizelge 3.1' deki gibi belirlenmiştir.

Çizelge 3. 1 *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* için optimum ortam koşulları

Tür	<i>C.minutissiuma</i>	<i>C.vulgaris</i>
Aydınlatma (lux)	6500($\pm$)300	13000
Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	27-29	22-25
pH	7-9	7-9
Besi Ortamı	BG-11 ve BBM	BMM
Doğal Ortamı	Tatlı Su	Tatlı su
Karıştırma	150 rpm	150 rpm
Absorbans	540nm	540nm

3.1.3 Optik Yoğunluk Analizi

Optik yoğunluk analizi PG Instruments markalı T-60 Uv Visible Spektrofotometre cihazı ile yapılmıştır. Ölçümler esnasında kuartz ve disposable küvetler kullanılmıştır. Optik yoğunluk her alg türü için haftada dört gün düzenli olarak ölçülmüş ve değişimler kaydedilmiştir. Ölçümlerde her alg türü homojen olarak karıştırıldıktan sonra bir pasteur pipeti yardımıyla yaklaşık 3 ml örnek alınmıştır. Tüplerden alınan örnekler küvetlere konularak spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda 2 hafta analiz yapılmıştır.

3.1.4 Bakteri Suşları

Çalışmada kullanılan *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* BC 6624, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Mycobacterium smegmatis* RUT bakterileri Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi'nin Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

•Bakteriyel Kültür Ortamı

Nutrient Agar (NA) besiyerinde 37 °C'de 1 gece inkübe edilen bakteri suşlarından tek koloni alınarak 5 ml Nutrient Broth'a aşılanmıştır ve 37 °C'de 18 saat inkübe edilen kültürler antibakteriyel etkinin tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Bakteri suşlarının saflaştırılıp çoğaltılmasında ve antibakteriyel etkinin belirlenmesinde Nutrient Agar (NA) kullanılmıştır.

3.1.5 Fungal Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria mali* Roberts, *Penicillium expansum* Link ve *Fusarium oxysporum* fungal mikroorganizmalar Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi'nin Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

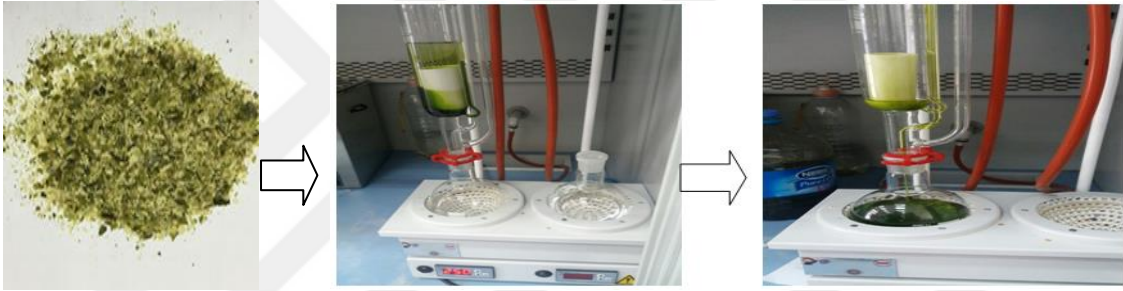
•Fungal Kültür Ortamı

Fungal mikroorganizmaların saflaştırılıp çoğaltılmasında ve antifungal etkinin belirlenmesinde fungal organizmalar için kullanılan standart bir besiyeri olan Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanılmıştır.

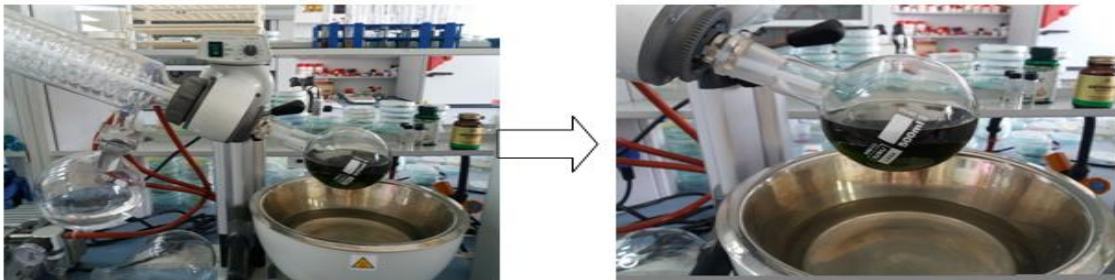
3.2 Yöntem

3.2.1 Üretilen/Toplanan Makro ve Mikroalglerin Yağ Ekstraksiyonu

Antibakteriyel ve antifungal etkileri test edilecek olan BBM ortamında üretilip 5 gr kurutulmuş mikroalg (*Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima*) ve 5 gr toplanan makroalg (*Ulva lactuca*) biyokütlesi, 300 ml çözücü (metanol) ile 90°C sıcaklığında 4 saat boyunca soxhlet ekstraksiyon cihazında (Şekil 3.7) ekstrakte edilmiştir. Çözelti Whatman No. 1 filtre kâğıdı ile filtre edilip 40°C sıcaklıkta döner buharlaştırıcıda (Şekil 3.8) çözücü uzaklaştırılana kadar bekletilmiştir. Sonra çözücüsü uzaklaştırılan alg örnekleri DMSO’da tekrar çözülerek değişik konsantrasyonlarda 10, 50, 100 mg/mL hazırlandı. Çalışmada *Chlorella protothecoides*’in hazır yağı DMSO ile 10, 50, 100 mg/mL’lik konsantrasyonlarda hazırlanarak kullanılmıştır.



Şekil 3. 7 Kurutulmuş makro ve mikroalglerin soxhlet ekstraksiyon cihazında ekstrakte edilmesi



Şekil 3. 8 Makro ve mikroalglerin 40 °C sıcaklıkta döner buharlaştırıcıda çözücü uzaklaştırma işlemi

Antifungal etkileri test edilecek olan İSKİ atık suyu ve iroko ağaç özütü suyunda üretilip kurutulmuş mikroalg (*Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima*) hücreleri 0.5 gr düşük konsantrasyonda üretildikleri için farklı bir yöntem ile ekstrakte edilmiştirler. 10 ml çözücü (DMSO) ile oda sıcaklığında 2 gün boyunca (50 rpm) karıştırılmıştır. Çözelti Whatman No. 1 filtre kağıdı ile filtre edilip çözücü uzaklaştırılmadan kullanıldı.

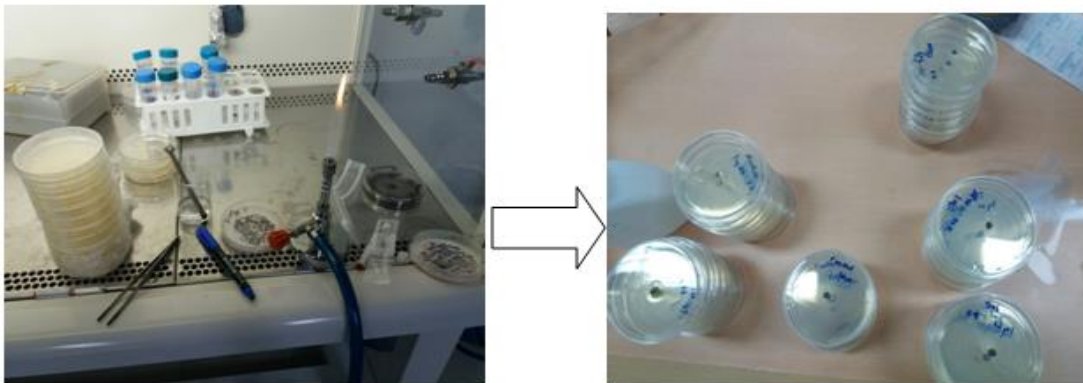
3.2.2 Algal Ekstraktların Antifungal Etkisinin Belirlenmesi

Fumigasyon uygulamasıyla antifungal etkinin belirlenmesi için disk difüzyon metodu uygulandı (Şekil 3.9) [56]. Otoklavda 121 °C’de, 1,1 atmosfer basınçta 15 dk steril edilen PDA besi ortamları 15’er ml steril petri kaplarına döküldü. PDA ortamında geliştirilen 7-10 günlük fungal kültürlerden mantar delici ile alınan fungal diskler petrilerin ortasına yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petrilerin üst kapaklarına steril kültür antibiyogram disk kâğıtları yerleştirildi. 10, 50, 100 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan alg ekstraktlar 20µl/petri, 40µl/petri ve 60 µl/petri dozlarında otomatik pipetlerle disk kâğıtlarına uygulandı. Kontrol olarak hazırlanan petrilerin kapaklarındaki antibiyogram disk kâğıtlarına ise aynı oranda DMSO emdirildi. Petri kapakları sıkıca parafilmlelendikten sonra ters çevrilerek 6 gün boyunca 27 °C’de inkübasyona bırakıldı [57]. Petrilerde gelişen fungusların koloni çapları 3., 4., 5. ve 6. günlerde dijital kumpas kullanılarak birbirine dik ve ayrı yönde ölçülmüştür. Denemeler üç tekerrürlü ve her tekerrürde üç paralel olacak şekilde yürütüldü. Kontrollere göre alg yağlarının % engelleme oranları; $E = \frac{K - M}{K} \times 100$ (1) formülüne göre hesaplandı. Burada;

E= Engelleme oranı (%)

K=Kontrol petrisindeki koloni çapı (mm)

M= Muameleli petrideki koloni çapı (mm) [58,64]



Şekil 3. 9 Makro ve mikroalg ekstraktlarının fumigasyon yöntemiyle antifungal etkisinin belirlenmesi

3.2.3 Algal Ekstraktların Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

Makro ve mikroalg ekstraktlarının antibakteriyel etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerine karşı tespit edildi (Şekil 3.10). 6 mm çapındaki diskler 10, 50, 100 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan alg ekstraktları 20µl/petri, 40µl/petri, 60 µl/petri dozlarında otomatik pipet ile disk kâğıtlarına emdirildi. Bakteriler için nutrient agar besiyeri yüzeyine eküvasyonla yayılan bakteri süspansiyonlarına alg ekstraktları emdirilmiş diskler yerleştirilip 24 saat 37⁰C’de inkübasyon sonrasında disklerde oluşan inhibisyon zonları okunmuştur.



Şekil 3. 10 Makro ve mikroalg ekstraktların antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

3.2.4 Algal Ekstraktlarının Antioksidanlara Olan Etkisinin Belirlenmesi

Algal ekstraktların toplam antioksidan aktivitesi 1, 1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali giderme metodu kullanılarak tayin edilmiştir. Serbest radikal yakalama etkinliği deneyi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak Brand-Williams ve ark. (2006) metoduna göre çalışılmıştır [60]. Metod ekstraktların bir proton veya elektron verebilme yeteneğinin, mor renkli DPPH çözeltisinin rengini açması esasına dayanır (Şekil 3. 11). Reaksiyon karışımındaki absorbansın düşmesi yüksek serbest radikal giderme aktivitesinin göstergesidir.



Şekil 3. 11 Makro ve mikroalg ekstraktların antioksidan etkisinin belirlenmesi

DPPH radikal giderme aktivitesi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanıştır:

$$\text{DPPH. Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (2)$$

A₀: Kontrolün absorbans değeri

A₁: Örnek veya standardın absorbans değeri

3.2.5 Algal Ekstraktlarının Klorofil ve Karotenoid İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraksiyon yöntemindeki amaç pigment kaybı olmadan kloroplastın parçalanarak renk maddelerinin çözücüye geçmesidir. Çözücü olarak ise genellikle %90'lık aseton kullanılır. Hücreler parçalandıktan sonra yabancı maddelerin uzaklaştırılması için santrifüj işlemi uygulanır, ardından üstte kalan süpernatant çözünmüş saf pigment ekstraktı spektrofotmetrede klorofil ve karotenoid içeriğinin belirlenmesinde kullanılabilir [51].

Şekil 3. 12'de Makro ve mikroalg ekstraktların klorofil ve karotenoid içeriğinin belirlenmesi için santrifüj işlemi sonrası ultrasonik banyo görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3. 12 Makro ve mikroalg ekstraktların klorofil ve karotenoid içeriğinin belirlenmesi

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Araştırma sonrasında elde edilen veriler, deney desenlerine uygun olarak varyans analizlerine tabi tutulmuşlardır. *in vitro* analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, her bir fungus türü kendi içerisinde değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizleri JMP (release 6.0.0, SAS) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki önem dereceleri ise aynı paket program kullanılarak, Student's *t* karşılaştırma testi ile tespit edilen ortalamalar arasındaki asgari önemdeki farklara (AÖF) göre belirlenmiştir [59].

BÖLÜM 4

DENEYSEL BULGULAR VE SONUÇLAR

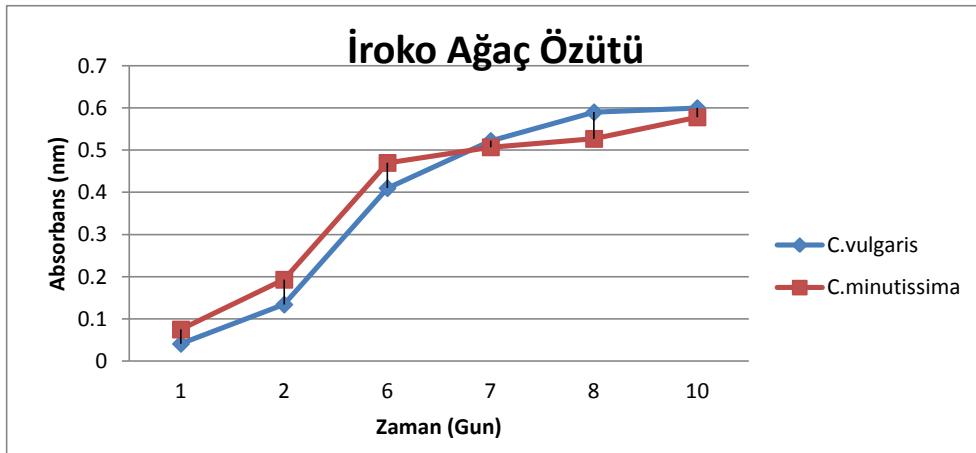
4.1 Optik Yoğunluk Analizi

Optik yoğunluk her alg türü için iki hafta boyunca düzenli olarak ölçülmüş ve değişimler kaydedilmiştir. Ölçümlerde her alg türü homojen olarak karıştırıldıktan sonra bir pasteur pipeti yardımıyla yaklaşık olarak 3 ml örnek alınmıştır. Tüplerden alınan örnekler küvetlere konularak spektrofotometrede okuma yapılmıştır (Çizelge 4. 1-4.2).

Deneylerde *C. vulgaris* ve *C.minutissima* türlerinin farklı kültür ortamlarında büyüme özellikleri saptanmıştır. 540 nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluklarına göre büyüme fazları tespit edilmiştir (Şekil 4.1-4.2). Buna göre çalışma 15 gün boyunca devam etmiştir.

Çizelge 4. 1 İroko ağaç özütünde yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima* için tarihlere göre ölçülen OD değerleri

Ölçüm Tarihi	<i>C. vulgaris</i>	<i>C.minutissima</i>
11.05.16	0,041 A	0,075 A
12.05.16	0,134 A	0,193 A
16.05.16	0,410 A	0,470 A
17.05.16	0,522 A	0,507 A
18.05.16	0,590 A	0,527 A
20.05.16	0,600 A	0,578 A
23.05.16	0.720 A	0,630 A
24.05.16	0.770 A	0,833 A
25.05.16	0.805 A	0,859 A

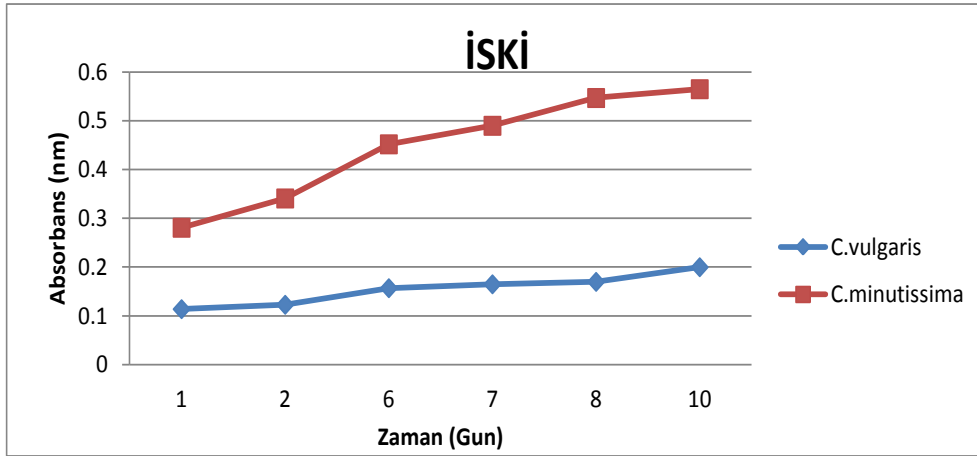


Şekil 4. 1 İroko ağaç özütünde yetişen *C.vulgaris* ve *C.minutissima*'nın büyüme grafiği

Şekil 4.1'e göre, İroko ağaç suyunda yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg türlerinin benzer büyüme gösterdikleri tespit edilmiştir. *C. vulgaris* 0.805 absorbans değerine ulaşırken *C.minutissima* 'nın 0,859 absorbans değerine ulaştığı görülmüştür.

Çizelge 4. 2 İSKİ atık suyunda yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima* için tarihlere göre ölçülen OD değerleri

Ölçüm Tarihi	<i>C. vulgaris</i>	<i>C.minutissima</i>
11.05.16	0,114 A	0,281 A
12.05.16	0,123 A	0,341 A
16.05.16	0,157 A	0,452 A
17.05.16	0,165 A	0,490 A
18.05.16	0,170 A	0,546 A
20.05.16	0,200 A	0,565 A
23.05.16	0.210 A	0,730 A
24.05.16	0.214 A	0,801 A
25.05.16	0.205 A	0,814 A



Şekil 4. 2 İSKİ atık suyunda yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima*'nın büyüme grafiği

İSKİ atık suyu ile yapılan çalışmada, Şekil 4.2'ye göre, İSKİ atık suyunda yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg türlerinden *C.minutissima*'nın *C. vulgaris*'e göre daha fazla büyüme gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak *C. vulgaris* 0.205 A değerine ulaşırken *C.minutissima*'nın 0,814 A absorbans değerine ulaştığı görülmüştür.

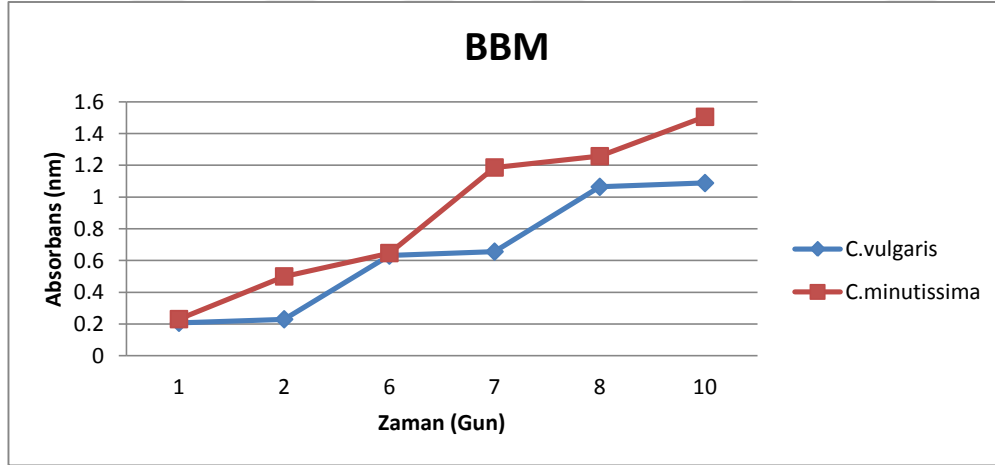
Chinnasamy, S., ve ark., (2010); % 85-90 sanayi ve % 10-15 belediye kanalizasyon atık suları içeren atık su kullanarak biyodizel üretiminde değerlendirmek için alg yetiştirmeciliği yapmışlardır. Çalışma sonucunda *C.vulgaris* BG-11 besin ortamında atık su ortamından daha yüksek büyüme gösterdiği görülmüştür. Wang ve ark., (2010); *Chlorella* türünü on gün boyunca dört tür atıksu ortamında büyümesini ölçülmüştür ve yetiştirme süresinin 3. gününden sonra sabit faza ulaştığı gözlenmiştir ve bu durum sonraki altı gün sürmüştür. Chinnasamy, S. ve ark. tarafından; *Chlorella vulgaris*'in karbon dioksit (%0.036 - %20 arasında) ve sıcaklığın (30, 40 ve 50 °C arasında) değişen konsantrasyonlarda gelişme tepkisi çalışılmıştır. En yüksek klorofil (11 µg/ml) ve biyokütle (210 µg/ml) konsantrasyonu *Chlorella vulgaris*'in % 6 CO₂ ortamında, %0.036 CO₂'li ortamından 60 - 20 kat daha fazla kaydedilmiştir. Sonuç olarak, biyokütle üretimi için yükseltilmiş CO₂ (% 6) varlığında optimum sıcaklığın 30 ° C olduğu gösterilmiştir.

İSKİ atık suyunda *Chlorella vulgaris* yetiştirdiğimiz tez çalışmasında karbon dioksit (CO₂) eklemesi yapmadığımız ve 30 °C'dan daha yüksek sıcaklıklarda (33-35°C) *Chlorella vulgaris* yetiştirdiğimiz için daha düşük konsantrasyonlarda büyüme elde edilmiştir. *Chlorella vulgaris*'in aksine *Chlorella minutissima* daha yüksek sıcaklıklarda

yetişebildiği ve büyümesi için karbon dioksit (CO₂)'e ihtiyaç duymadığı için daha yüksek konsantrasyonlarda büyüme göstermiştir.

Çizelge 4. 3 BBM ortamında yetişen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* için tarihlere göre  l len OD değerleri

Ölüm Tarihi	<i>C. vulgaris</i>	<i>C.minutissima</i>
25.04.16	0,208 A	0,231 A
26.04.16	0,231 A	0,500 A
28.04.16	0,631 A	0,647 A
29.04.16	0,656 A	1,186 A
02.05.16	1,064 A	1,258 A
03.05.16	1,088 A	1,504 A
04.05.16	1.100 A	1,510 A
05.05.16	1.254 A	1,514 A
06.05.16	1.360 A	1,520 A



şekil 4. 3 BBM ortamında yetişen *C.vulgaris* ve *C. minutissima*'nın büyüme grafiği

Çizelge 4.3 ve şekil 4.3'e göre, BBM ortamında yetişen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg türlerinin benzer büyüme gösterdikleri tespit edilmiştir. *C.vulgaris* 1.360 A değerine ulaşırken *C.minutissima*'nın 1,520 A değerine ulaştığı g r lm şt r.

Sonuç olarak en iyi büyüme BBM ve iroko ağaç özütü ortamlarında elde edilmiştir. En düşük konsantrasyon ise *C. vulgaris* ile İSK  atık suyunda elde edilmiştir. Sonuçlardan

da anlaşılabacağı gibi *C.minutissima* mikroalg türü her üç kültür ortamında yüksek konsantrasyonlara ulaşmış ve *C. vulgaris* 'ten daha yüksek büyüme göstermiştir.

BBM özel olarak tatlı su mikroalglerinin ihtiyaç duyduğu makrobesinleri, mikrobeseinleri ve vitaminleri gerekli konsantrasyonlarda içerdığı için mikroalgler bu ortamda daha yüksek büyüme göstermiştir.

Aynı şekilde iroko ağaç özütü içeriğinde; hormonlar, mineral maddeler, organik asitler ve amino asitler bulunduğı için mikroalglerin ağaç suyuyla beslenmesi durumunda büyümesi hızlanmıştır.

Ancak İSKİ atık suyu mikroalglerin büyümesi için ihtiyaç duyduğu besinleri ve vitaminleri gerekli konsantrasyonlarda içermediğı için mikroalgler bu ortamda daha düşük büyüme göstermiştir. *C. vulgaris* 0.205 A değeri ile en düşük büyümeyi atık suda göstermiştir.

4.2 Toplam Karoten ve Klorofil-a Tayini

Toplam karoten ve klorofil-a tayini spektrofotometrik yöntemle göre yapılmıştır. Kurutulmuş *Ulva lactuca* makroalg türünden 1 gr alınarak 50 ml aseton ile muamele edildikten sonra 4 saat +4°C'da bekletilmiştir. Farklı kültür ortamında yetişen *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* mikroalg kültürlerinden 5 ml alınarak santrifüj ile ayrılmış ve supernatant kısmı uzaklaştırılmış ve mikroalg kalıntısı 5 ml aseton ile muamele edilmesinin ardından makro ve mikroalg hücreleri homojenizatör ile 5 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Daha sonra 10 dakika 70°C'de ultrasonik banyoya tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstrakt madde 10 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj ile ayrılmıştır. Örneklerin spektrofotometrede 475 nm ve 666 nm dalga boylarında absorbansları okunmuştur[62,65].

Aşağıda verilen formüller ile makro ve mikroalg türlerinin toplam karoten ve klorofil-a miktarları tespit edilmiştir.

$$C_{\text{Karoten}} (\text{mg g}^{-1}) = 4,5 \times A_{475} \quad (3)$$

A₄₇₅, 475 nm okunan absorbans değeri,

$$C_{\text{Klorofil-a}} (\text{mg g}^{-1}) = 13,9 \times A_{666} \quad (4)$$

A₆₆₆, 666 nm okunan absorbans değeri.

Çizelge 4. 4 *Ulva lactuca* ve farklı kültür ortamında yetişen *C. vulgaris* ve *C.minutissima* için Karoten ve Klorofil-a değerleri

Ulva lactuca					
Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1				
3684	909				
Chlorella vulgaris					
BBM		İSKİ		İroko ağaç özütü	
Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1	Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1	Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1
7839	2822	4226	1597	17030	5949
Chlorella minutissima					
BBM		İSKİ		İroko ağaç özütü	
Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1	Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1	Klorofil a µg g-1	Karoten µg g-1
7895	2781	11356	3897	11550	4063

N. Vishnu ve R. Sumathi (2014), yaptıkları bir çalışmada; *Chlorella* türlerini Bold basal medium, CFTRI medium, Bangladesh M3 ve Zarrouk's medium gibi farklı kültür ortamlarında yetiştirerek *Chlorella* türünün etanolik ekstraktının Klorofil a ve b içeriğini ve bakterilere olan direncini karşılaştırmışlardır. BBM'da yetiştirilen *C.vulgaris* türünün en yüksek klorofil a ve b içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir.

Dere ve diğ., (2003), Marmara Denizinin ve Gemlik-Karacaali kıyılarından topladıkları *U. rigida* ve *U. lactuca* makroalg türleri ile yaptıkları çalışmada sırasıyla, klorofil a içeriğini, 140-180 µg g-1 yaş ağırlık (fw) ve 220-390 µg g-1 fw, karoten içeriğini ise 50-80 µg g-1 fw ve 50-170 µg g-1 fw değerleri arasında tespit etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında ise İstanbul Büyükçekmece sahil kıyısından alınan *Ulva lactuca* örneğindeki toplam karoten ve toplam klorofil a düzeyleri sırasıyla 909 µg g-1 dw ve 3684 µg g-1 dw olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Hesaplanan bu değerler arasındaki farklılık türlerin çeşitliliği, bölge iklim şartlarının ve denizlerin farklı sıcaklıklarda olmasından kaynaklanabilmektedir.

BBM’da yetişen *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* mikroalg türleri ile gerçekleştirilen çalışmada ise sırasıyla klorofil a içeriği 7839 µg g-1 fw ve 7895 µg g-1 fw, karoten içeriği ise 2822 µg g-1 fw ve 2781 µg g-1 fw değerleri arasında tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mikroalg türlerinin klorofil a ve karoten içeriklerinin birbirine oldukça yakın olduğu belirlenmiştir.

İSKİ atık suyunda yetişen *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* mikroalg türlerinde ise sırasıyla, klorofil a içeriği, 4226 µg g-1 fw ve 11356 µg g-1 fw, karoten içeriği ise 1597 µg g-1 fw ve 3897 µg g-1 fw değerleri arasında tespit edilmiştir. Sonuçlardan görüldüğü gibi klorofil a ve karoten içeriği *Chlorella minutissima* mikroalg türünde daha yüksek bulunmuştur. İSKİ atık suyunda yetişen *Chlorella vulgaris* mikroalg türü daha az büyüme gösterdiği için ve klorofil a içeriği büyüme ile orantılı olduğu için, İSKİ atık suyunda yetişen *Chlorella vulgaris* mikroalg türünün klorofil a içeriği daha düşük elde edilmiştir.

Iroko ağaç özütünde yetişen *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* mikroalg türlerinde ise sırasıyla, klorofil a içeriği, 17030 µg g-1 fw ve 11550 µg g-1 fw, karoten içeriği ise 5949 µg g-1 fw ve 4063 µg g-1 fw değerleri arasında tespit edilmiştir. Sonuçlara göre klorofil a ve karoten içeriği *Chlorella vulgaris* mikroalg türünde daha yüksek bulunmuştur.

4.3 In-vitro Koşullarda Değişik Makro ve Mikroalg Ekstraktların Fumigasyon Uygulamalarının Fungal Etmenlerine Karşı Etkileri

Çalışmada; *C.minutissima*, *C.vulgaris*, *C.protothecoides* ve *Ulva lactuca* ekstraktlarının antifungal aktiviteleri, fumigasyon uygulama yöntemi kullanılarak; *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria mali* Roberts, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum* Link fungal etmenlerine karşı belirlenmiştir.

4.3.1 *In vitro*'da *Aspergillus niger*'e karşı BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 5 BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü*

Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)						
Inkübasyon süresi	Alg Konsantrasyonu	Disklere Emdirilen Alg Dozu	<i>C.vulgaris</i>	<i>C.minutissim a</i>	<i>C.protothecoid es</i>	<i>U.lactuca</i>
3gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	61±0.0 ^{A,a}	61±0.0 ^{A,a}	61±0.0 ^{A,a}	61±0.0 ^{A,a}
		20 µl/petri	59.75±4.59 ^{B,a}	61.5±0.7 ^{A,a}	62.25±1.76 ^{A,a}	59.25±1.06 ^{B,a}
		40 µl/petri	54±9.89 ^{C,a}	54±2.72 ^{B,a}	51.5±4.24 ^{CD,b}	54±11.31 ^{C,a}
		60 µl/petri	47±5.65 ^{E,b}	50±5.65 ^{C,a}	47.5±10.6 ^{E,b}	47±0.7 ^{E,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	63.5±0.7 ^{A,a}	51.5±9.19 ^{C,c}	59.25±3.18 ^{AB,b}	62.25±0.35 ^{A,a}
		40 µl/petri	49.5±4.94 ^{D,b}	44.5±0.7 ^{DE,c}	52.5±2.12 ^{CD,a}	53±15.5 ^{C,a}
		60 µl/petri	50±7.07 ^{D,a}	43.5±4.94 ^{EF,c}	49±2.82 ^{DE,a}	46.5±3.53 ^{E,b}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	46.5±0.7 ^{E,c}	61.5±0.7 ^{A,a}	58±2.82 ^{AB,b}	60±5.65 ^{A,a}
		40 µl/petri	47.5±2.12 ^{E,c}	45.5±0.7 ^{D,d}	54.5±7.77 ^{BC,a}	50±0.0 ^{D,b}
		60 µl/petri	42±7.07 ^{F,c}	42.5±0.7 ^{F,c}	47±2.82 ^{E,a}	46±1.41 ^{E,b}
	4gün	Kontrol	80±0.0 ^{A,a}	80±0.0 ^{A,a}	80±0.0 ^{A,a}	80±0.0 ^{A,a}
	%1 (10 mg/mL)	20 µl/petri	68.3±16.6 ^{C,c}	74±6.3 ^{B,a}	66±7.07 ^{B,d}	73±2.82 ^{B,b}
		40 µl/petri	54±9.89 ^{D,c}	59±14.14 ^{D,a}	51.5±4.24 ^{D,d}	57.5±14.84 ^{D,b}
		60 µl/petri	47±5.65 ^{F,b}	50±5.65 ^{E,a}	47.5±10.6 ^{E,b}	47±0.7 ^{G,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	71±1.41 ^{B,b}	51.5±9.19 ^{E,d}	63±9.19 ^{BC,c}	80±0.0 ^{A,a}
		40 µl/petri	49.5±4.94 ^{E,b}	44.5±0.7 ^{F,c}	52.5±2.12 ^{D,a}	53±15.5 ^{E,a}
		60 µl/petri	50±7.07 ^{E,a}	43.5±4.94 ^{F,d}	49±2.82 ^{E,b}	46.5±3.53 ^{G,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	46.5±0.7 ^{F,c}	64±2.82 ^{C,a}	62±8.48 ^{C,b}	62±8.48 ^{C,b}
		40 µl/petri	47.5±2.12 ^{F,d}	45.5±0.7 ^{F,c}	54.5±7.77 ^{D,a}	50±0.0 ^{F,b}
		60 µl/petri	42±7.07 ^{G,c}	42.5±0.7 ^{F,c}	47±2.82 ^{E,a}	46±1.41 ^{G,b}
	5gün	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}
	%1 (10 mg/mL)	20 µl/petri	68.3±16.6 ^{C,c}	74±6.3 ^{B,b}	66±7.07 ^{B,d}	76.75±2.47 ^{C,a}
		40 µl/petri	54±9.89 ^{D,c}	59±14.14 ^{D,a}	51.5±4.24 ^{D,d}	57.5±14.84 ^{E,b}
		60 µl/petri	47±5.65 ^{F,b}	50±5.65 ^{E,a}	47.5±10.6 ^{E,b}	47±0.7 ^{G,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	71±1.41 ^B	51.5±9.19 ^E	63±9.19 ^{BC}	80±0.0 ^B
		40 µl/petri	49.5±4.94 ^{E,b}	44.5±0.7 ^{F,c}	52.5±2.12 ^{D,a}	53±15.5 ^{F,a}
		60 µl/petri	50±7.07 ^{E,a}	43.5±4.94 ^{F,d}	49±2.82 ^{E,b}	46.5±3.53 ^{G,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	46.5±0.7 ^{F,c}	64±2.82 ^{C,a}	62±8.48 ^{C,b}	62±8.48 ^{D,b}
		40 µl/petri	47.5±2.12 ^{F,c}	45.5±0.7 ^{F,d}	54.5±7.77 ^{D,a}	50±0.0 ^{F,b}
		60 µl/petri	42±7.07 ^{G,c}	42.5±0.7 ^{F,c}	47±2.82 ^{E,a}	46±1.41 ^{G,b}
	6gün	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}	90±0.0 ^{A,a}
	%1 (10 mg/mL)	20 µl/petri	73.26±9.54 ^{B,b}	74±6.3 ^{B,b}	66±7.07 ^{B,c}	76.75±2.47 ^{C,a}
		40 µl/petri	54±9.89 ^{D,c}	59±14.14 ^{D,a}	51.5±4.24 ^{D,d}	57.5±14.84 ^{E,b}
		60 µl/petri	47±5.65 ^{F,b}	50±5.65 ^{E,a}	47.5±10.6 ^{E,b}	47±0.7 ^{G,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	71±1.41 ^{B,b}	51.5±9.19 ^{E,d}	63±9.19 ^{BC,c}	80±0.0 ^{B,a}
		40 µl/petri	49.5±4.94 ^{E,b}	44.5±0.7 ^{F,c}	52.5±2.12 ^{D,a}	53±15.5 ^{F,a}
		60 µl/petri	50±7.07 ^{E,a}	43.5±4.94 ^{F,d}	49±2.82 ^{E,b}	46.5±3.53 ^{G,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	46.5±0.7 ^{F,c}	64±2.82 ^{C,a}	62±8.48 ^{C,b}	62±8.48 ^{D,b}
		40 µl/petri	47.5±2.12 ^{F,c}	45.5±0.7 ^{F,d}	54.5±7.77 ^{D,a}	50±0.0 ^{F,b}
		60 µl/petri	42±7.07 ^{G,c}	42.5±0.7 ^{F,c}	47±2.82 ^{E,a}	46±1.41 ^{G,b}

*Sayılar; ortalama koloni çapı $\pm$ SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=3). Örneklerle ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda ($P<0.05$) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

*A-G: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir ($P<0.05$).

*a-d: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki alg türleri arasındaki farklar gösterilmektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.5'te BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında farklı doz ve konsantrasyonlardaki ekstraktların fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranlarının 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri verilmiştir.

Çizelge 4.5'te *Aspergillus niger* koloni çapına inkübasyon süresinin etkisi incelendiğinde, fungal koloni çaplarında inkübasyon süresine bağlı olarak 4. günden sonra herhangi bir değişme olmadığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.5'e göre *C.vulgaris*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 59.25 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 61 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 68.3 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 80 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 68.3 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 90 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 73.25 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 90 mm olduğu gözlenmiştir.

C.vulgaris ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.5'e göre *C.minutissima* 'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.minutissima* 'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 61.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 61 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.minutissima* 'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 74 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 80 mm olduğu gözlenmiştir.

5. ve 6. inkübasyon gününde ise *C.minutissima* 'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 42.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 74 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 90 mm olduğu gözlenmiştir.

C.minutissima 'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.5'e göre *C.protothecoides* 'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.protothecoides* 'in fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 47 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 61.25 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 61 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.protothecoides* 'in fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 47 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 66 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 80 mm olduğu gözlenmiştir.

5. ve 6. inkübasyon gününde ise *C.protothecoides* 'in fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 47 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 66 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 90 mm olduğu gözlenmiştir.

C.protothecoides'in fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.5'e göre *U.lactuca*'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *U.lactuca*'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 46 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 62.25 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 61 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *U.lactuca*'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 46 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 80 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 80 mm olduğu gözlenmiştir.

5. ve 6. inkübasyon gününde ise *U.lactuca*'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 46 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 80 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 90 mm olduğu gözlenmiştir.

U.lactuca'nın fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Sonuç olarak, algal ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*'in misel gelişimini en yüksek engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve en yüksek engelleme oranını *C.vulgaris* gösterirken, *C.protothecoides* ve *C.minutissima* birbirine yakın engelleme oranları gösterirken, *U.lactuca*'nın en düşük engelleme oranını gösterdiği gözlemlenmiştir.

Aspergillus niger'in misel gelişimine en yüksek engelleme oranını *C.vulgaris*'in göstermesinin *C.vulgaris*'te yoğun olarak bulunan terpenlere bağlı olduğu düşünülmektedir (Çizelge 2.2). Antifungal aktiviteye sahip olan terpenler, *Aspergillus* türüne karşı etkilidir [89].

Çizelge 4.5'te Alg dozunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Aspergillus niger*'in disklere uygulanan alg dozu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.5'te Alg konsantrasyonunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Aspergillus niger*'in alg konsantrasyonu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir.

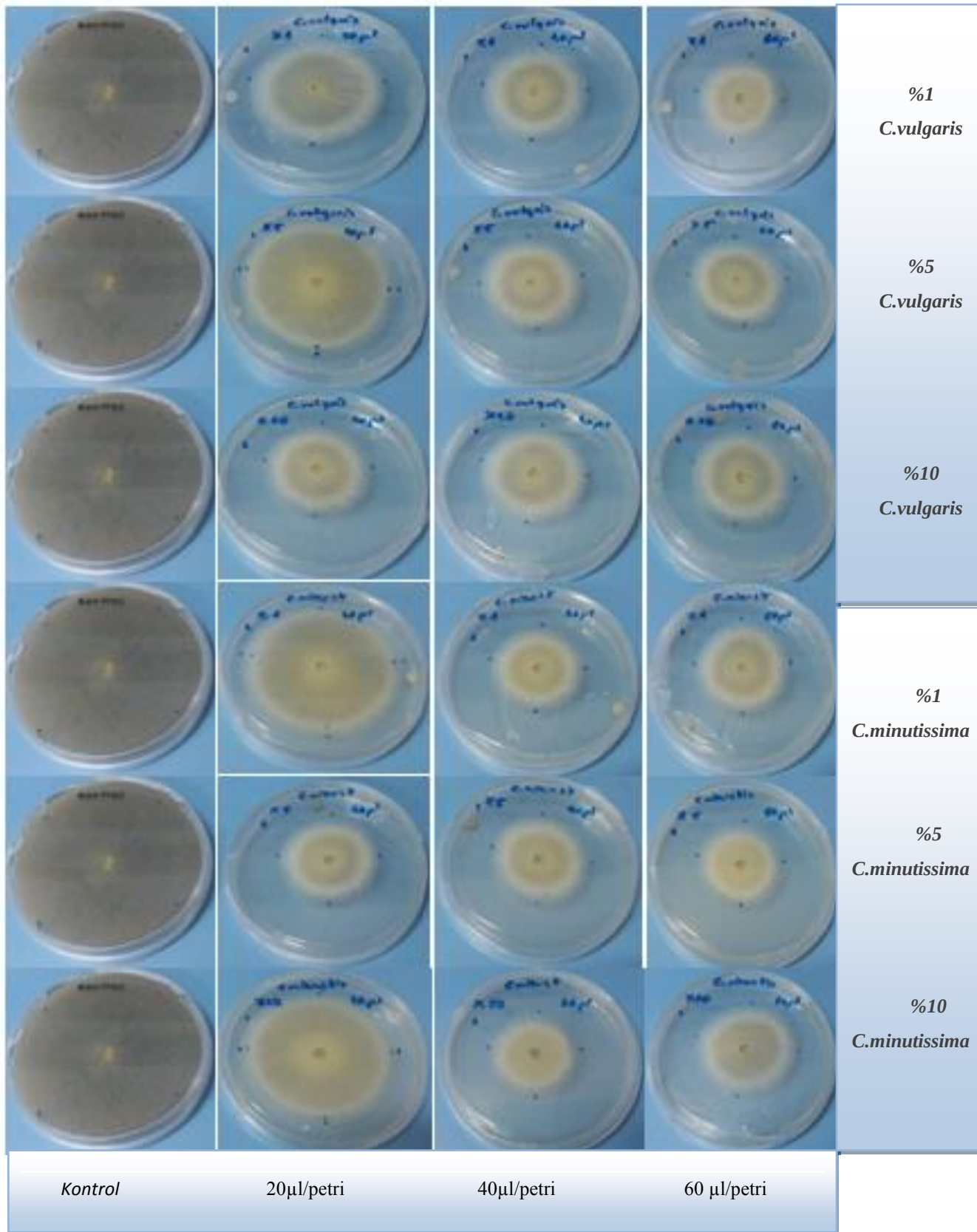
Çizelge 4. 6 One-way ANOVA ile BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi*

Varyans Analizi		SS	df	MS	F	P-değeri
C.vulgaris	3 gün	462.75	7	66.10	528.86	<0.0019
	4 gün	1471.65	6	245.27	1177.32	<0.0001
	5 gün	1471.65	6	245.27	1177.32	<0.0001
	6 gün	1471.65	6	245.27	1177.32	<0.0001
C.minutissima	3 gün	528.55	7	75.50	906.1	<0.0011
	4 gün	1604.10	6	267.35	256.65	<0.0004
	5 gün	1604.10	6	267.35	256.65	<0.0004
	6 gün	1604.10	6	267.35	256.65	<0.0004
C.protothecoides	3 gün	283.98	5	56.79	98.13	<0.0003
	4 gün	1229.97	7	175.71	562.27	<0.0018
	5 gün	1229.97	7	175.71	562.27	<0.0018
	6 gün	1229.97	7	175.71	562.27	<0.0018
U.lactuca	3 gün	366.43	5	73.28	170.93	<0.0001
	4 gün	1672.5	6	278.75	1672.5	<0.0001
	5 gün	2255.6	7	322.22	1288.9	<0.0008
	6 gün	2255.6	7	322.22	1288.9	<0.0008

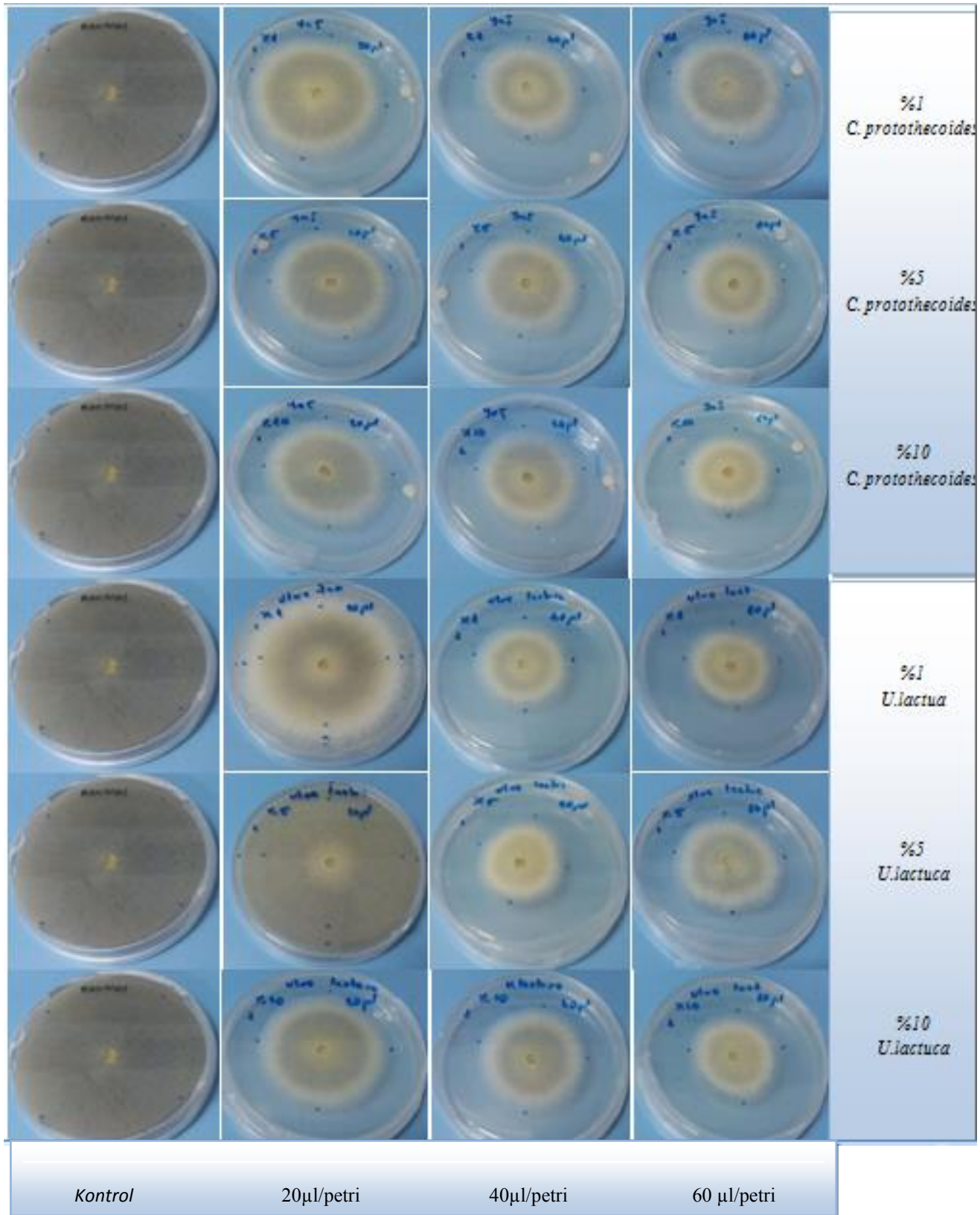
*P<0.01 değerinde istatistiksel olarak önemlidir.

*Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.01'den küçük olduğunda (P<0.01) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'da *Aspergillus niger*'e karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünüşleri verilmiştir.



Şekil 4. 4 BBM’da üretilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* ekstraktlarının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* koloni gelişimine etkileri



Şekil 4. 5 *C. protothecoides* yağının ve *U. lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* koloni gelişimine etkileri

4.3.5 In vitro’da *Alternaria mali*’ye karşı karşı BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 7 BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Alternaria mali* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü*

Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)						
Inkübasyon süresi	Alg Konsantrasyonu	Disklere Emdirilen Alg Dozu	<i>C.vulgaris</i>	<i>C.minutissim a</i>	<i>C.protothecoides</i>	<i>U.lactuca</i>
3gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	24±0.0 ^{A,a}	24±0.0 ^{B,a}	24±0.0 ^{A,a}	24±0.0 ^{A,a}
		20 µl/petri	21.5±0.0 ^{B,c}	25.5±0.7 ^{A,a}	22.5±0.0 ^{A,b}	21±2.12 ^{BC,c}
		40 µl/petri	21±0.0 ^{B,b}	23.5±0.7 ^{C,a}	20±0.0 ^{B,c}	20±0.0 ^{C,c}
		60 µl/petri	21±0.0 ^{B,b}	23.5±2.12 ^{C,a}	19.5±0.7 ^{B,c}	21±1.41 ^{BC,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	21±0.0 ^{C,c}	25.75±1.06 ^{A,a}	23.5±0.7 ^{A,b}	21±0.0 ^{BC,c}
		40 µl/petri	20±0.0 ^{C,b}	23.5±2.12 ^{C,a}	23.5±0.7 ^{A,a}	20±0.0 ^{C,b}
		60 µl/petri	20±1.41 ^{B,c}	23.5±1.41 ^{C,b}	24±0.35 ^{A,a}	21±1.41 ^{BC,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	17.5±0.7 ^{D,c}	25.5±0.7 ^{A,a}	22.5±2.12 ^{B,b}	22.5±0.7 ^{B,b}
		40 µl/petri	18±0.7 ^{D,d}	24±0.4 ^{B,a}	22.5±2.12 ^{B,b}	20.5±0.7 ^{C,c}
		60 µl/petri	19±1.41 ^{C,c}	24±0.0 ^{B,a}	22.5±0.7 ^{B,b}	20.5±0.7 ^{C,c}
4gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	27.5±0.7 ^{A,a}	27.5±0.7 ^{C,a}	27.5±0.7 ^{A,a}	27.5±0.7 ^{A,a}
		20 µl/petri	23.5±0.35 ^{B,c}	30±4.24 ^{A,a}	26.5±0.7 ^{A,b}	24.5±2.12 ^{C,c}
		40 µl/petri	23±0.0 ^{B,b}	29±0.0 ^{B,a}	23±0.0 ^{B,b}	23.5±0.7 ^{C,b}
		60 µl/petri	24±0.0 ^{B,b}	27.5±2.12 ^{C,a}	23±1.41 ^{B,c}	24±1.41 ^{BC,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	22±0.0 ^{C,c}	30±0.0 ^{A,a}	28.5±0.7 ^{A,b}	23.5±0.0 ^{C,c}
		40 µl/petri	21±1.41 ^{C,b}	28.5±2.12 ^{B,a}	25±0.0 ^{B,b}	23±0.7 ^{C,c}
		60 µl/petri	24.5±0.7 ^{B,a}	28±2.82 ^{B,a}	26±0.0 ^{A,b}	23±1.41 ^{C,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	21.5±0.7 ^{C,c}	30±0.0 ^{A,a}	26±2.82 ^{A,b}	26.5±3.53 ^{A,b}
		40 µl/petri	21±0.0 ^{C,d}	30±0.0 ^{A,a}	25.5±2.12 ^{B,b}	23.5±0.7 ^{C,b}
		60 µl/petri	24±4.24 ^{B,c}	28±4.24 ^{B,a}	25.5±0.7 ^{B,b}	26±1.41 ^{AB,b}
5gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	35±0.0 ^{A,a}	35±0.0 ^{A,a}	35±0.0 ^{A,a}	35±0.0 ^{A,a}
		20 µl/petri	29±0.7 ^{B,c}	34±1.41 ^{A,a}	32±2.82 ^{B,b}	29±4.24 ^{B,c}
		40 µl/petri	28.5±0.7 ^{B,b}	34±0.7 ^{A,a}	25±0.35 ^{C,c}	26.5±0.0 ^{C,c}
		60 µl/petri	28±4.2 ^{B,b}	30.5±4.94 ^{C,a}	25.5±0.7 ^{C,c}	25.5±0.7 ^{C,c}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	28.5±0.7 ^{B,bc}	34±1.41 ^{A,a}	33±0.0 ^{B,ab}	29±0.0 ^{B,b}
		40 µl/petri	28±1.41 ^{B,b}	34.5±2.12 ^{A,a}	25.5±0.7 ^{C,c}	26.25±1.76 ^{C,c}
		60 µl/petri	28.5±2.12 ^{B,ab}	29±4.24 ^{C,a}	26.5±0.7 ^{C,bc}	27.5±0.7 ^{C,b}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	24±2.82 ^{C,d}	34±0.0 ^{A,a}	32±4.24 ^{C,b}	30±7.07 ^{B,b}
		40 µl/petri	24±2.82 ^{C,c}	32.5±0.7 ^{B,a}	26±1.41 ^{C,b}	26±1.41 ^{C,b}
		60 µl/petri	25±2.82 ^{C,c}	29±0.7 ^{C,a}	25.75±0.35 ^{C,c}	27±1.41 ^{C,b}
6gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	43.5±0.7 ^{A,a}	43.5±0.7 ^{A,a}	43.5±0.7 ^{A,a}	43.5±0.7 ^{A,a}
		20 µl/petri	32.5±0.7 ^{B,c}	38±4.24 ^{B,a}	35.5±3.53 ^{B,b}	31±1.41 ^{B,c}
		40 µl/petri	30±2.82 ^{B,b}	36±2.82 ^{B,a}	27±0.35 ^{C,c}	27.75±1.76 ^{B,c}
		60 µl/petri	29±4.24 ^{B,b}	32±4.24 ^{C,a}	27±1.41 ^{C,c}	28±.41 ^{B,c}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	31±1.41 ^{B,c}	39±1.41 ^{B,a}	34.5±0.7 ^{B,b}	30.75±1.06 ^{B,c}
		40 µl/petri	30±0.0 ^{B,b}	36±0.0 ^{B,a}	26.5±0.7 ^{C,c}	27±1.41 ^{B,c}
		60 µl/petri	28.5±2.12 ^{B,b}	31.5±0.7 ^{C,a}	26.5±0.7 ^{C,c}	27.5±0.7 ^{B,bc}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	25.5±0.7 ^{C,d}	39±4.24 ^{B,a}	33.5±3.53 ^{B,b}	30.5±6.36 ^{B,c}
		40 µl/petri	25±1.41 ^{C,b}	36.5±2.12 ^{B,a}	26.5±2.12 ^{C,b}	27±1.41 ^{B,b}
		60 µl/petri	25.5±3.53 ^{C,bc}	30.5±0.35 ^{C,a}	26.26±1.06 ^{C,b}	27±1.41 ^{B,ab}

*Sayılar; ortalama koloni çapı $\pm$ SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=3). Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda ($P < 0.05$) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

*A-D: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

*a-d: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki alg türleri arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.7'de BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında farklı doz ve konsantrasyonlardaki ekstraktların fumigasyon uygulamasının *Alternaria mali* misel gelişimini engelleme oranlarının 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri verilmiştir.

Çizelge 4.7'ye göre *C.vulgaris*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 17.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 21.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 24 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 21-24.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 27.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 24 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 29 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 35 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.vulgaris* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 25 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 32.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 43.5 mm olduğu gözlenmiştir.

C.vulgaris ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği ve algal konsantrasyon artışının misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7'ye göre *C.minutissima* 'nin fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.minutissima* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 23.5-25.75 mm arasında ve kontrolden daha yüksek elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişiminin 24 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.minutissima* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 27.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 30 mm ve kontrolden daha yüksek elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişiminin 27.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.minutissima* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 29 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 34.5 mm ve kontrole yakın değerler elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 35 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.minutissima* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 30 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 38 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 43.5 mm olduğu gözlenmiştir.

C.minutissima ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini 3., 4., ve 5. inkübasyon gününde kontrole yakın ve kontrolden yüksek değerler elde edilmiştir, ancak 6. inkübasyon gününde *Alternaria mali*'nin misel gelişimini kontrole göre daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir. Sonuç olarak, *C.minutissima* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini kontrol ile benzer oranda engellediği ve diğer alg ekstraktlarına göre daha düşük etki gösterdiği gözlenmiştir. Buna ek olarak, algal konsantrasyon artışının misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7'ye göre *C.protothecoides* 'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.protothecoides* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 19.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 24 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 24 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.protothecoides* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 23 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 28.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 27.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.protothecoides* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 25 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 32 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 35 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.protothecoides* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 26.26 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 35.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 43.5 mm olduğu gözlenmiştir.

C.protothecoides ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini kontrole göre yüksek oranda engellediği ve algal konsantrasyon artışının misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir. Buna ek olarak, *C.protothecoides* yağının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini *C.vulgaris*'ten daha düşük, ancak *C.minutissima*'dan daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7'ye göre *U.lactuca*'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 20-22.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 24 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 23-26.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 27.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 25.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 30 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 35 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 27 mm'de gösterirken en

yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 31 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 43.5 mm olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, algal ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Alternaria mali*'nin misel gelişimini en yüksek engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve *U.lactuca*, *C.protothecoides* ve *C.vulgaris* benzer ve yüksek etki gösterdiği, ancak *C.minutissima*'nın en düşük engelleme oranı gösterdiği tespit edilmiştir. *C.minutissima*'nın en düşük engelleme oranına sahip olmasının nedeninin lutein ve astaksantin gibi tetraterpen bileşikler içermemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Çizelge 2. 2).

Çizelge 4.7'de Alg dozunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Alternaria mali*'nin disklerle uygulanan alg dozu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, alg konsantrasyonunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Alternaria mali*'nin alg konsantrasyonu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir.

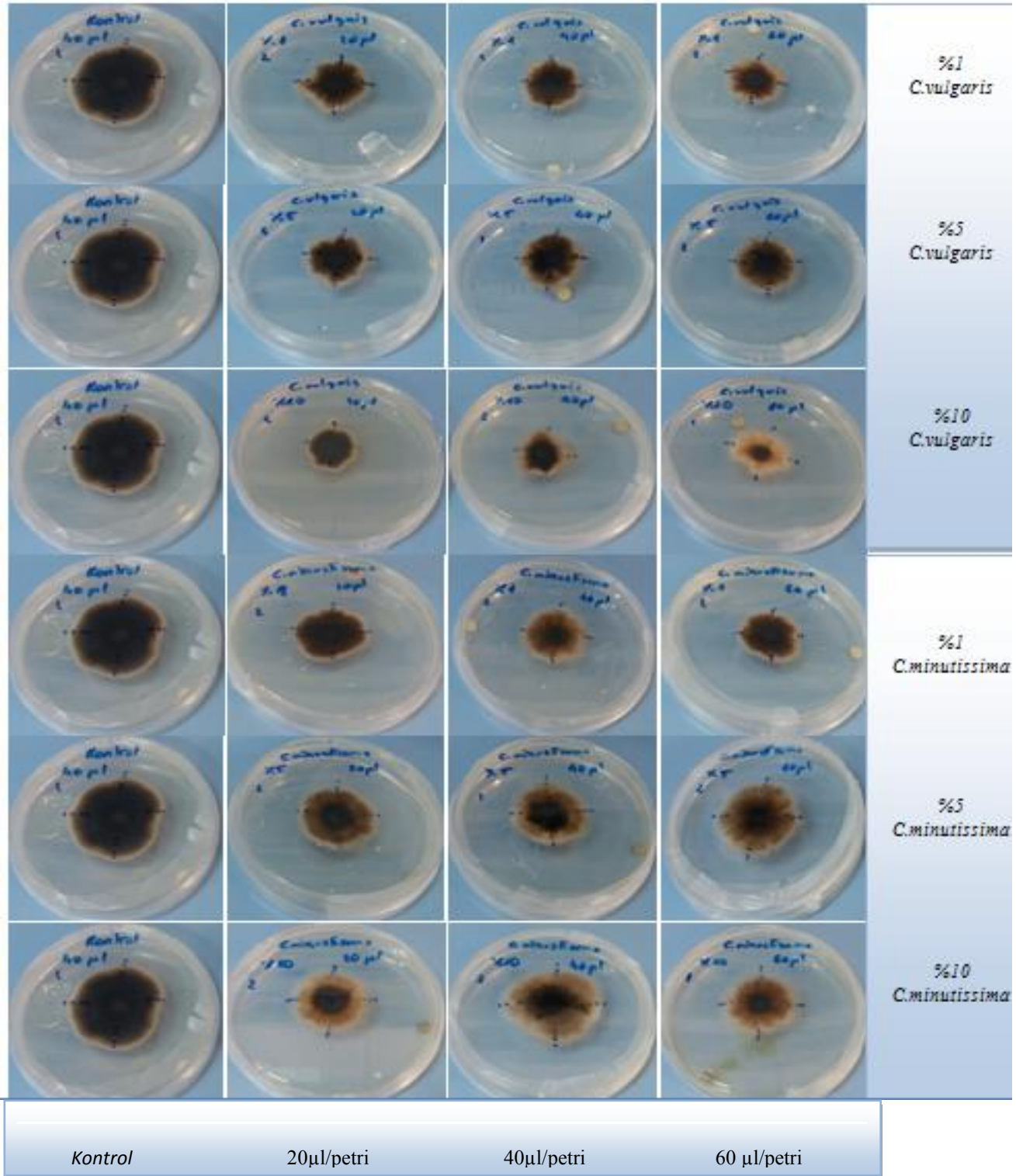
Çizelge 4. 8 One-way ANOVA ile BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının *Alternaria mali* misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi*

Varyans Analizi		SS	df	MS	F	P-değeri
C.vulgaris	3 gün	31.41	5	6.28	134.02	<0.00002
	4 gün	35.14	4	8.78	95.84	<0.0001
	5 gün	91.10	5	18.22	-	<00000
	6 gün	244.83	6	40.80	734.5	<0.0001
C.minutissima	3 gün	7.76	2	3.88	652.2	<0.0001
	4 gün	10.52	4	2.63	-	<00000
	5 gün	45.90	4	11.47	-	<00000
	6 gün	143.49	6	23.9	298.95	<0.00003
C.protothecoides	3 gün	21.71	4	5.42	144.75	<0.0001
	4 gün	24.06	4	6.01	90.25	<0.0001
	5 gün	134.48	4	33.62	398.47	<0.0001
	6 gün	309.12	5	61.82	5724.5	<0.0001
U.lactuca	3 gün	13.27	3	4.42	106.2	<0.0001
	4 gün	21.97	3	7.32	103.4	<0.0001
	5 gün	74.34	5	14.86	236.3	<0.0001
	6 gün	226.92	4	56.73	945.5	<0.0001

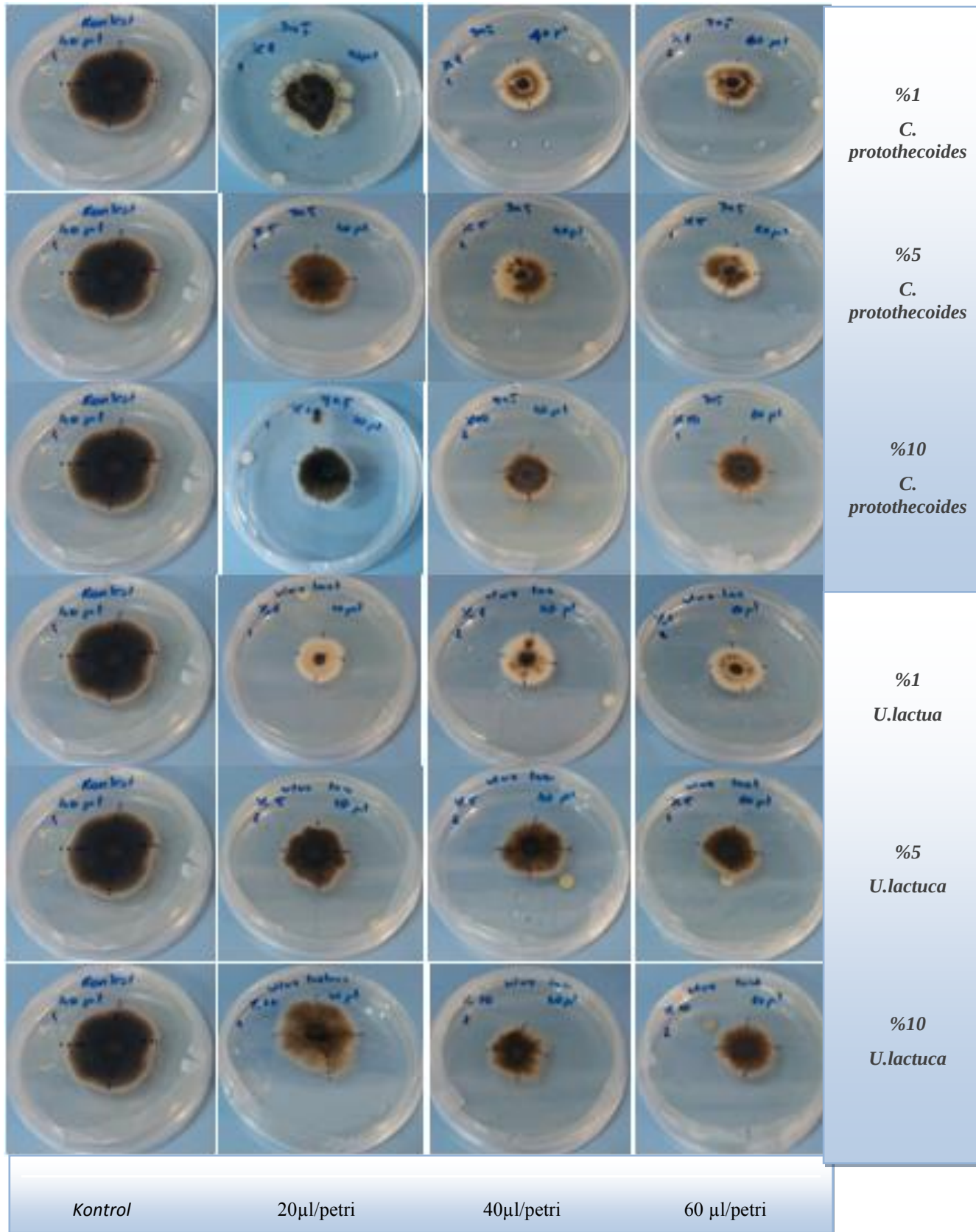
*P<0.01 değerinde istatistiksel olarak önemlidir.

*Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.01'den küçük olduğunda (P<0.01) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’te *Alternaria mali*’ye karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünüşleri verilmiştir.



Şekil 4. 6 BBM’da üretilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* ekstraktlarının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Alternaria mali* koloni gelişimine etkileri



Şekil 4. 7 *C. protothecoides* yağının ve *U. lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Alternaria mali* koloni gelişimine etkileri

4.3.9 In vitro’da *Fusarium oxysporum*’a karşı BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 9 BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü*

Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)						
Inkübasyon süresi	Alg Konsantrasyonu	Disklere Emdirilen Alg Dozu	<i>C.vulgaris</i>	<i>C.minutissima</i>	<i>C.protothecoides</i>	<i>U.lactuca</i>
3gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	41.25±0.35 ^{A,a}	41.25±0.35 ^{A,a}	41.25±0.35 ^{A,a}	41.25±0.35 ^{A,a}
		20 µl/petri	38.5±1.06 ^{B,b}	40±0.0 ^{B,a}	34.5±0.7 ^{D,c}	34.5±2.12 ^{D,c}
		40 µl/petri	35.5±3.53 ^{D,c}	38.5±2.12 ^{C,a}	33.25±0.35 ^{E,d}	36±1.41 ^{B,b}
		60 µl/petri	34.5±2.12 ^{D,b}	36±0.0 ^{D,a}	34±1.41 ^{D,c}	33±0.0 ^{E,d}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	38.5±1.41 ^{B,b}	38.7±1.06 ^{C,a}	34.5±0.7 ^{D,c}	33±1.41 ^{E,d}
		40 µl/petri	37.5±0.7 ^{C,a}	35.5±0.7 ^{D,c}	37±2.82 ^{C,b}	32±0.0 ^{F,d}
		60 µl/petri	37.25±0.35 ^{C,a}	36.5±2.12 ^{D,b}	34.5±2.12 ^{D,c}	32±1.41 ^{F,d}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	35±0.0 ^{D,c}	40±2.82 ^{B,a}	36.5±3.53 ^{C,b}	34.5±3.53 ^{D,d}
		40 µl/petri	38±2.82 ^{B,b}	38±0.0 ^{C,b}	39±0.0 ^{B,a}	34.5±1.41 ^{D,c}
		60 µl/petri	37±1.41 ^{C,b}	38±0.0 ^{B,a}	36.75±3.18 ^{C,c}	35.5±4.94 ^{C,d}
	4gün	Kontrol	49.5±0.7 ^{A,a}	49.5±0.7 ^{A,a}	49.5±0.7 ^{A,a}	49.5±0.7 ^{A,a}
		20 µl/petri	44±4.24 ^{B,b}	49.5±2.12 ^{A,a}	42.25±1.76 ^{B,c}	40.5±6.36 ^{B,d}
		40 µl/petri	37±1.41 ^{F,b}	44±7.07 ^{D,a}	35.75±0.35 ^{E,b}	37.5±0.0 ^{C,b}
		60 µl/petri	40.5±6.36 ^{D,b}	43±0.0 ^{E,a}	36.75±1.06 ^{E,c}	36±0.0 ^{D,c}
		20 µl/petri	44.4±2.12 ^{B,b}	45.5±7.77 ^{C,a}	43±1.41 ^{B,c}	35±1.41 ^{E,d}
		40 µl/petri	40±0.0 ^{D,a}	37.5±0.7 ^{G,c}	39.5±2.12 ^{D,b}	34.5±0.7 ^{E,d}
		60 µl/petri	40±0.0 ^{D,a}	39.5±2.12 ^{F,b}	38.5±3.53 ^{D,c}	35.6±2.12 ^{E,d}
		20 µl/petri	39±0.0 ^{E,c}	47.5±4.94 ^{B,a}	41±2.82 ^{C,b}	36.5±4.94 ^{D,d}
		40 µl/petri	41±1.41 ^{C,b}	42.5±6.36 ^{E,a}	42.25±0.35 ^{B,a}	36.5±0.7 ^{D,c}
		60 µl/petri	40±1.41 ^{D,b}	43±1.41 ^{E,a}	39±2.82 ^{D,c}	38.5±6.36 ^{C,d}
	5gün	Kontrol	64.5±2.12 ^{A,a}	64.5±2.12 ^{A,a}	64.5±2.12 ^{A,a}	64.5±2.12 ^{A,a}
		20 µl/petri	51±4.59 ^{B,b}	54±4.24 ^{B,a}	48.75±6.71 ^{B,c}	44.5±6.36 ^{B,d}
		40 µl/petri	43±1.41 ^{F,b}	49±5.65 ^{D,a}	39.5±0.7 ^{F,c}	42±1.41 ^{C,b}
		60 µl/petri	44±4.24 ^{D,b}	48±0.0 ^{D,a}	42.5±0.7 ^{E,c}	39±0.0 ^{D,d}
		20 µl/petri	51±2.82 ^{B,a}	51.5±7.77 ^{C,a}	47.5±0.7 ^{B,b}	39.5±2.12 ^{D,c}
		40 µl/petri	44±1.41 ^{D,a}	42±1.41 ^{F,c}	43.5±2.12 ^{DE,b}	38.5±0.7 ^{D,d}
		60 µl/petri	45±0.0 ^{C,a}	43±0.0 ^{F,b}	42±2.82 ^{E,c}	39.5±2.12 ^{D,d}
		20 µl/petri	43±1.41 ^{E,c}	50±5.65 ^{C,a}	44.5±3.53 ^{CD,b}	39±4.24 ^{D,d}
		40 µl/petri	43±1.41 ^{E,b}	45±7.07 ^{E,a}	45.25±0.35 ^{C,a}	40.5±0.7 ^{D,c}
		60 µl/petri	43.5±0.7 ^{E,b}	46±0.7 ^{E,a}	42±2.82 ^{E,c}	42±7.07 ^{C,c}
	6gün	Kontrol	76.5±2.12 ^{A,a}	76.5±2.12 ^{A,a}	76.5±2.12 ^{A,a}	76.5±2.12 ^{A,a}
		20 µl/petri	53±7.07 ^{B,c}	59±2.82 ^{B,a}	54.5±10.6 ^{B,b}	48±5.65 ^{B,d}
		40 µl/petri	44±1.41 ^{E,c}	53±2.82 ^{D,a}	43.75±1.76 ^{F,d}	46±1.41 ^{C,b}
		60 µl/petri	44±1.41 ^{E,c}	53±0.0 ^{D,a}	45±1.41 ^{E,b}	44±0.0 ^{D,c}
		20 µl/petri	51.5±2.12 ^{C,b}	56.5±7.77 ^{C,a}	51±1.41 ^{C,b}	44±1.41 ^{D,c}
		40 µl/petri	44.75±1.06 ^{E,b}	48.5±2.12 ^{E,a}	43.5±2.12 ^{F,c}	44±0.0 ^{D,b}
		60 µl/petri	45.5±0.7 ^{D,b}	48.5±0.7 ^{E,a}	43.5±0.7 ^{F,c}	43.2±50.35 ^{E,c}
		20 µl/petri	45±0.0 ^{D,c}	55.5±3.53 ^{C,a}	47±4.24 ^{D,b}	44±2.82 ^{D,d}
		40 µl/petri	44±1.41 ^{E,c}	49±7.77 ^{E,a}	46.5±0.7 ^{D,b}	44±0.0 ^{D,c}
		60 µl/petri	43.3±0.7 ^{E,c}	49±1.41 ^{E,a}	44.25±0.35 ^{E,b}	44.5±3.53 ^{D,b}

*Sayılar; ortalama koloni çapı $\pm$ SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=3). Örneklerle ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda ($P < 0.05$) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

*A-G: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

*a-d: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki alg türleri arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.9'da BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında farklı doz ve konsantrasyonlardaki ekstraktların 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri verilmiştir.

Çizelge 4.9'a göre *C.vulgaris*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 35-38.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 41.25 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 37-44.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 49.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 43 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 51 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 64.5 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 43 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 53 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 76.5 mm olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.9'a göre *C.minutissima*'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 35.5 mm'de

gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 40 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 41.25 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 37.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 49.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 49.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 42 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 54 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 64.5 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 48 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 54 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 76.5 mm olduğu gözlenmiştir.

C.minutissima'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'a karşı en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.9'a göre *C.protothecoides*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 33-39 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 41.25 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 37-44.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 49.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 43-51 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 64.5 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 43.5-53 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 76.5 mm olduğu gözlenmiştir.

C.minutissima'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'a karşı alg konsantrasyon artışının önemli bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.9'a göre *U.lactuca*'nin fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 32-35.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 24 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 34 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 40.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 27.5 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 38.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 44.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 35 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda 43.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 48 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 43.5 mm olduğu gözlenmiştir.

U.lactuca'nın fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'a karşı en düşük misel gelişimini %5'lik konsantrasyonda gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, algal ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Fusarium oxysporum*'un misel gelişimini en yüksek engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve *U.lactuca*, *C.protothecoides* ve *C.vulgaris* benzer ve yüksek etki gösterdiği, ancak *C.minutissima*'nın en düşük engelleme oranı gösterdiği tespit edilmiştir.

C.vulgaris, *C.protothecoides* ve *U.lactuca*, *C.minutissima*'da bulunmayan trepenoid gibi biyoaktif bileşikleri içerdiğinden dolayı *C.minutissima*'ya göre *Fusarium oxysporum*'a karşı daha yüksek antifungal etki gösterdiği düşünülmektedir (Çizelge 2.2).

Olfat M.A. Salem ve diğ., (2014)'e göre, *Chlorella vulgaris* ve *Scenedesmus* sp. 2 mikroalg türünün aseton ve metanol ekstraktlarının antifungal aktivitelerini *Fusarium*

solani, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Asperigillus niger* ve *Candida albicans* türlerine karşı test etmiş ve *C. vulgaris* ekstraktının *F. oxysporum* türüne karşı daha yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Nagwa E. Awad (2000); *Ulva lactuca* makroalg türünün; *Bacillus subtilis*, *Streptococcus lactus*, *Pseudomonas putidu* ve *E. coli* bakteri türlerine, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium turricum* ve *Penicillium digitatum* fungal mikroorganizmalara ve *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluveromyces lactus* maya türlerine karşı etkisini incelemiştir. 100 ve 200 µg/disc 3-O-b-D-glucopyranosyl clerosterol *Fusarium oxysporum* (fungi) ve *Saccharomyces cerevisiae* (maya) türlerinin büyümesini inhibe etmiştir.

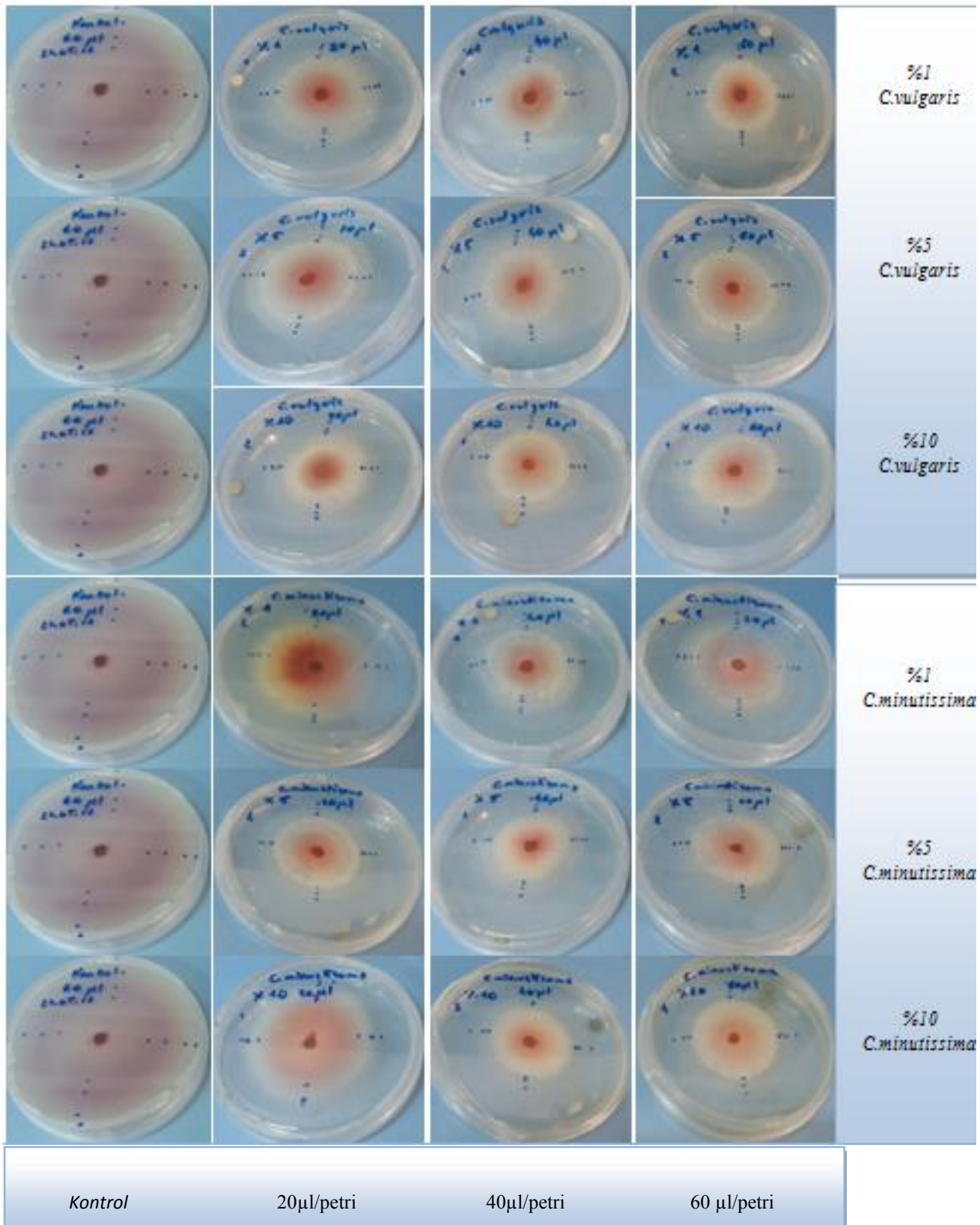
Çizelge 4. 10 One-way ANOVA ile BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi*

Varyans Analizi		SS	df	MS	F	P-değeri
C.vulgaris	3 gün	35.05	4	8.76	115.8	<0.0001
	4 gün	113.41	5	22.68	290.3	<0.0001
	5 gün	426.9	5	86.38	1613.5	<0.0001
	6 gün	932.01	5	186.4	1513.9	<0.0001
C.minutissima	3 gün	33.43	4	8.35	108.56	00000
	4 gün	141.3	6	23.55	424	<0.0001
	5 gün	379.9	5	75.99	115.8	<0.0001
	6 gün	644.5	5	128.9	1031.2	<0.0001
C.protothecoides	3 gün	56.48	5	11.29	217.8	<0.0001
	4 gün	137.63	6	22.9	152.36	<0.0008
	5 gün	447.1	7	63.8	766.48	<0.0013
	6 gün	924.1	6	154	1700.8	<0.0001
U.lactuca	3 gün	66.32	5	13.26	-	<0.0001
	4 gün	174.7	6	29.11	299.5	<0.0003
	5 gün	551.77	5	110.35	1765.6	<0.0001
	6 gün	931	4	232.7	5586	<0.0001

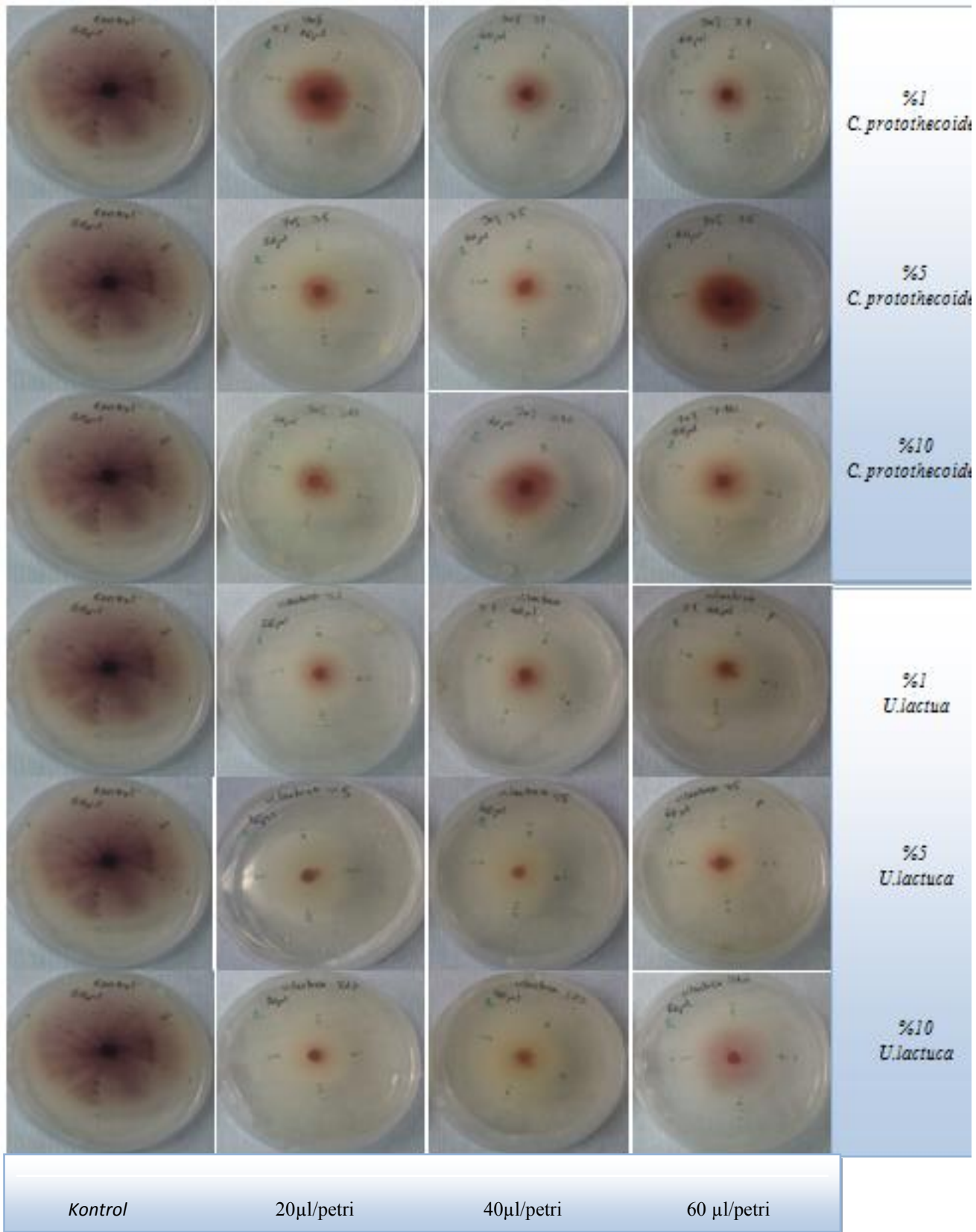
*P<0.01 değerinde istatistiksel olarak önemlidir.

*Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.01’den küçük olduğunda (P<0.01) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir

Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’de *Fusarium oxysporum*’e karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünümleri verilmiştir.



Şekil 4. 8 BBM’da üretilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporium* koloni gelişimine etkileri



Şekil 4. 9 *C. protothecoides* yağının ve *U. lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporium* koloni gelişimine etkileri

4.3.13 In vitro’da *Penicillum expansum*’a karşı BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 11 BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Penicillum expansum* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü*

Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)						
Inkübasyon süresi	Alg Konsantrasyonu	Disklere Emdirilen Alg Dozu	<i>C.vulgaris</i>	<i>C.minutissima</i>	<i>C.protothecoides</i>	<i>U.lactuca</i>
3gün	%1 (10 mg/mL)	Kontrol	12±0.0 ^{A,a}	12±0.0 ^{A,a}	12±0.0 ^{A,a}	12±0.0 ^{A,a}
		20 µl/petri	11±0.7 ^{B,a}	10±0.0 ^{C,b}	11.5±0.7 ^{B,a}	10±0.0 ^{D,b}
		40 µl/petri	9.25±1.06 ^{D,b}	10±0.7 ^{C,a}	10.5±0.7 ^{D,a}	9.75±1.06 ^{F,c}
		60 µl/petri	9±0.7 ^{D,c}	10±0.0 ^{C,b}	11±0.0 ^{C,a}	10±1.41 ^{D,b}
	%5 (50 mg/mL)	20 µl/petri	10±0.0 ^{C,b}	11±0.0 ^{B,a}	11.5±0.7 ^{B,a}	10.5±0.35 ^{C,b}
		40 µl/petri	9.5±1.41 ^{D,c}	10±0.7 ^{C,b}	10.75±1.06 ^{D,a}	10.75±0.35 ^{C,a}
		60 µl/petri	9±1.41 ^{D,d}	10±0.0 ^{C,b}	10.75±1.06 ^{D,a}	9.75±1.06 ^{E,c}
	%10 (100 mg/mL)	20 µl/petri	10±0.0 ^{C,b}	11±0.0 ^{B,a}	9.75±1.76 ^{E,c}	10±0.0 ^{D,b}
		40 µl/petri	9±0.7 ^{D,c}	10.25±0.35 ^{C,b}	9.75±0.35 ^{E,c}	11±0.0 ^{B,a}
		60 µl/petri	10±0.0 ^{C,c}	10±0.7 ^{C,c}	10.5±0.7 ^{D,b}	11±0.0 ^{B,a}
	4gün	Kontrol	16±0.7 ^{A,a}	16±0.7 ^{A,a}	16±0.7 ^{A,a}	16±0.7 ^{A,a}
		20 µl/petri	12.5±0.0 ^{B,c}	12.25±1.06 ^{C,c}	13.75±1.06 ^{B,a}	13±0.7 ^{C,b}
		40 µl/petri	12±0.0 ^{C,b}	12±1.41 ^{C,b}	13±0.7 ^{C,a}	12±1.41 ^{D,b}
		60 µl/petri	11.25±0.35 ^{D,d}	12±0.0 ^{C,c}	13±0.7 ^{C,a}	12.75±1.76 ^{C,b}
		20 µl/petri	12.25±0.35 ^{C,b}	12.25±1.06 ^{C,b}	13.75±1.06 ^{B,a}	13.75±1.06 ^{B,a}
		40 µl/petri	12.25±1.06 ^{C,b}	11.25±2.12 ^{D,c}	13±0.7 ^{C,a}	13±0.7 ^{C,a}
		60 µl/petri	11±1.41 ^{D,d}	12.75±0.35 ^{B,a}	11.75±0.35 ^{E,c}	12.25±0.35 ^{D,b}
		20 µl/petri	11.75±1.06 ^{C,c}	12.5±1.41 ^{B,a}	12.25±2.47 ^{D,b}	12.5±0.7 ^{C,a}
		40 µl/petri	12.5±0.0 ^{B,a}	12±1.41 ^{C,b}	11.5±0.0 ^{E,d}	11.75±1.06 ^{D,c}
		60 µl/petri	12±0.0 ^{C,a}	12.25±1.06 ^{C,b}	11.75±1.06 ^{E,c}	12±1.41 ^{D,a}
	5gün	Kontrol	18.75±1.06 ^{A,a}	18.75±1.06 ^{A,a}	18.75±1.06 ^{A,a}	18.75±1.06 ^{A,a}
		20 µl/petri	15±0.7 ^{B,b}	14.25±1.06 ^{D,c}	16.25±0.35 ^{B,a}	16±0.0 ^{B,a}
		40 µl/petri	13.75±0.35 ^{C,d}	14±0.7 ^{D,c}	15.25±1.06 ^{C,a}	14.25±0.35 ^{D,b}
		60 µl/petri	13.7±0.7 ^{C,d}	14±0.0 ^{D,c}	15.5±0.7 ^{C,a}	14.75±1.06 ^{CD,b}
		20 µl/petri	15±0.0 ^{B,c}	15.25±0.35 ^{C,b}	15.25±1.06 ^{C,b}	15.5±0.7 ^{C,a}
		40 µl/petri	14.75±0.35 ^{B,c}	16±1.41 ^{B,a}	14.5±2.12 ^{D,d}	15±0.7 ^{C,b}
		60 µl/petri	13±0.7 ^{D,c}	14.25±1.06 ^{D,a}	14±0.7 ^{D,b}	14.25±0.35 ^{D,a}
		20 µl/petri	14±1.41 ^{C,b}	14.25±1.06 ^{D,a}	13.75±3.18 ^{E,c}	14±0.7 ^{D,b}
		40 µl/petri	13.75±1.06 ^{C,c}	15±0.7 ^{C,a}	13.5±0.0 ^{E,d}	14±0.0 ^{D,b}
		60 µl/petri	13±0.35 ^{D,a}	14±1.76 ^{D,a}	14±0.0 ^{D,a}	14±1.41 ^{D,a}
	6gün	Kontrol	22.25±1.76 ^{A,a}	22.25±1.76 ^{A,a}	22.25±1.76 ^{A,a}	22.25±1.76 ^{A,a}
		20 µl/petri	18.5±0.7 ^{B,c}	18.75±1.76 ^{B,b}	19.75±0.35 ^{B,a}	18.75±0.35 ^{B,b}
		40 µl/petri	16±1.41 ^{C,d}	17.25±1.06 ^{C,a}	16.75±0.35 ^{D,b}	16.25±1.06 ^{D,c}
		60 µl/petri	15.75±1.06 ^{C,b}	16.75±1.76 ^{D,a}	15.5±0.7 ^{E,d}	15.5±0.7 ^{E,c}
		20 µl/petri	18.25±0.35 ^{B,b}	17.5±0.7 ^{C,c}	18.75±1.76 ^{C,a}	18.25±1.06 ^{B,b}
		40 µl/petri	16±0.0 ^{C,c}	16.5±2.12 ^{D,b}	16.75±1.06 ^{D,a}	15.25±0.35 ^{E,d}
		60 µl/petri	14.75±1.76 ^{D,c}	16±2.82 ^{E,a}	14±0.7 ^{F,d}	15±0.0 ^{E,b}
		20 µl/petri	18±1.41 ^{B,a}	17.25±3.88 ^{C,c}	15.5±0.7 ^{E,d}	17.75±0.35 ^{C,b}
		40 µl/petri	16±1.41 ^{C,b}	16.25±1.06 ^{E,a}	15.25±1.06 ^{E,c}	14.5±0.7 ^{F,d}
		60 µl/petri	14.5±1.41 ^{D,b}	15.75±1.76 ^{E,a}	14±0.0 ^{F,c}	14.5±0.7 ^{F,b}

*Sayılar; ortalama koloni çapı $\pm$ SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=3). Örneklerle ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda ($P < 0.05$) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

*A-F: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

*a-d: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki alg türleri arasındaki farklar gösterilmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.11'de BBM'da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında farklı doz ve konsantrasyonlardaki ekstraktların 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri verilmiştir.

Çizelge 4.11'e göre *C.vulgaris*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 9 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 11 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 12 mm olduğu gözlenmiştir.
4. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 11-12.5 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 16 mm olduğu gözlenmiştir.
5. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 13 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 15 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 18.75 mm olduğu gözlenmiştir.
6. inkübasyon gününde *C.vulgaris*'in ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 14.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 18.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 22.25 mm olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.11'e göre *C.minutissima*'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 10-11 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 12 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 11.25-12.75 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 16 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 14-16 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 18.75 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.minutissima*'nın ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 15.75 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 18.75 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 22.25 mm olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.11'e göre *C.protothecoides*'in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 9.75 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 11.5 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 12 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 11.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 13.75 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 16 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 13.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 15 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 16.25 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *C.protothecoides*'in ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillum expansum*'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 14 mm'de

gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 19.75 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 22.25 mm olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.11'e göre *U.lactuca* 'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde;

3. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 9.75-11 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 12 mm olduğu gözlenmiştir.

4. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un en düşük misel gelişimini bütün konsantrasyonda benzer 11.75-13.75 mm arasında elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 16 mm olduğu gözlenmiştir.

5. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 14 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 16 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 18.75 mm olduğu gözlenmiştir.

6. inkübasyon gününde *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un en düşük misel gelişimini %10'luk konsantrasyonda 14.5 mm'de gösterirken en yüksek misel gelişimini %1'lik konsantrasyonda 18.75 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise 22.25 mm olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, algal ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un misel gelişimini oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve dört alg türünün de benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Antifungal aktiviteye sahip sekonder metabolitler misel büyümesinin gelişimini durdurarak veya inhibe ederek, çimlenmeyi önleyerek veya fungal patojenlerin sporülasyonunu azaltarak etki etmektedirler. Örneğin, mikroorganizmalardaki polifenollerin toksisitesi, bileşiklerin oksidasyonu ile enzim inhibisyonuna atfedilir [89]. Fumigasyon uygulamasında *Penicillium expansum* 'un misel gelişimini durduran veya inhibe eden, kullandığımız alglerde bulunan fenolik ve terpenoid bileşiklerin olduğu düşünülmektedir (Çizelge 2.2).

Çizelge 4.11'de Alg dozunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Penicillium expansum* 'un disklere uygulanan alg dozu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, alg konsantrasyonunun fungal koloni çapı değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, *Penicillium expansum* 'un alg konsantrasyonu arttıkça gösterdiği direncin azaldığı gözlemlenmiştir.

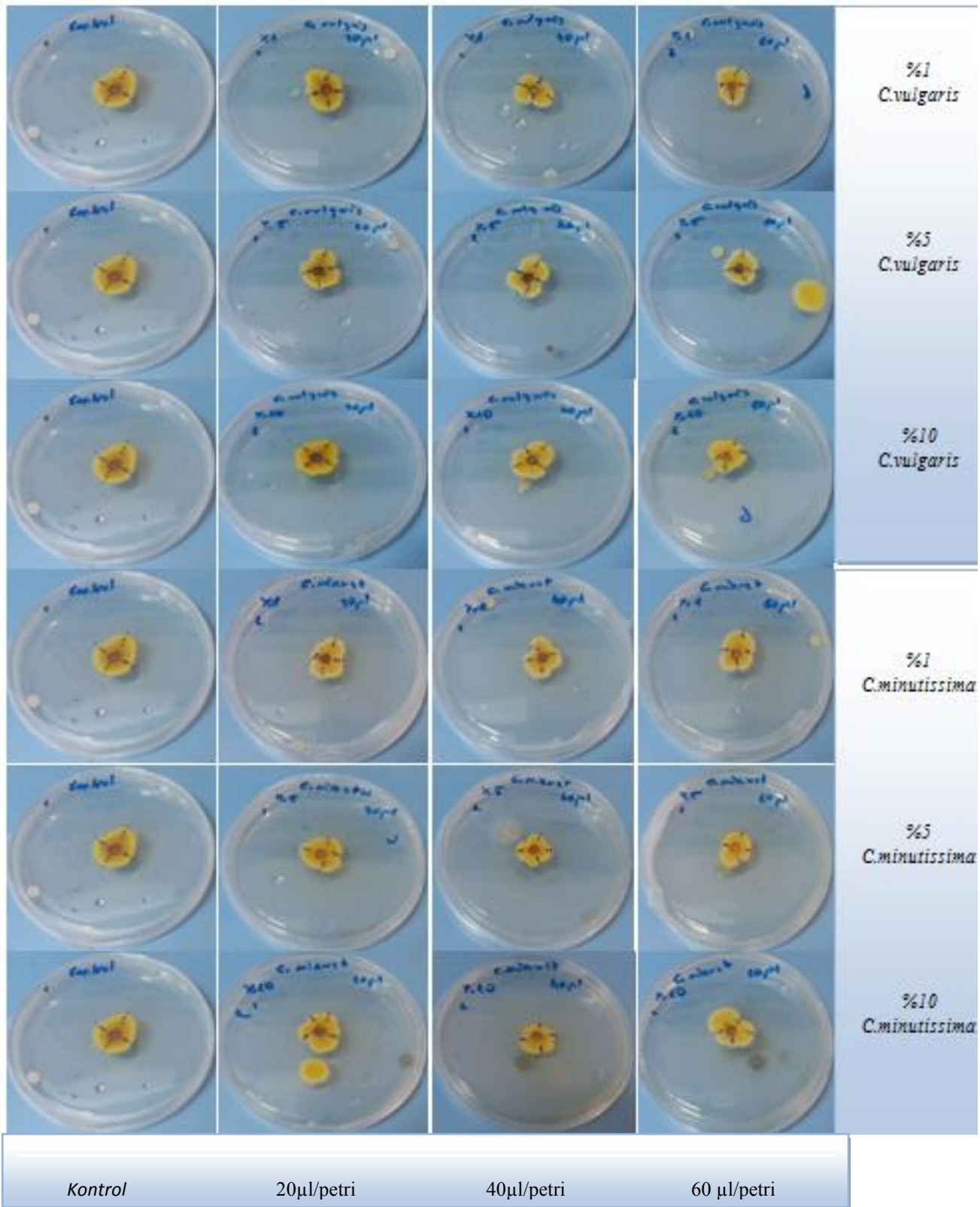
Çizelge 4. 12 One-way ANOVA ile BBM’da üretilen *C.minutissima* ve *C.vulgaris* ekstraktlarının, *C.protothecoides* yağının ve *U.lactuca* ekstraktının fumigasyon uygulamasının *Penicillium expansum* misel gelişiminin 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde varyans analizi*

Varyans Analizi		SS	df	MS	F	P-değeri
C.vulgaris	3 gün	7.68	3	2.56	61.02	<0.0001
	4 gün	16.93	4	4.23	225.7	<0.0001
	5 gün	23.09	5	4.61	332.6	<0.0003
	6 gün	48.04	3	16.01	473.07	<0.0001
C.minutissima	3 gün	4.25	3	1.41	-	00000
	4 gün	14.68	3	4.89	234.9	<0.0001
	5 gün	19.68	3	6.56	314.9	<0.0001
	6 gün	32.52	5	6.60	249.8	<0.0001
C.protothecoides	3 gün	4.78	4	1.19	95.75	<0.0001
	4 gün	16.01	4	4.00	480.43	<0.0001
	5 gün	21.76	4	5.44	113.56	<0.0001
	6 gün	66.35	5	13.27	884.6	<0.0001
U.lactuca	3 gün	7.20	5	1.44	288.1	<0.0001
	4 gün	13.6	4	3.4	98.91	<0.0001
	5 gün	18.7	4	4.68	100.6	<0.0001
	6 gün	54.7	5	10.94	211.8	<0.0001

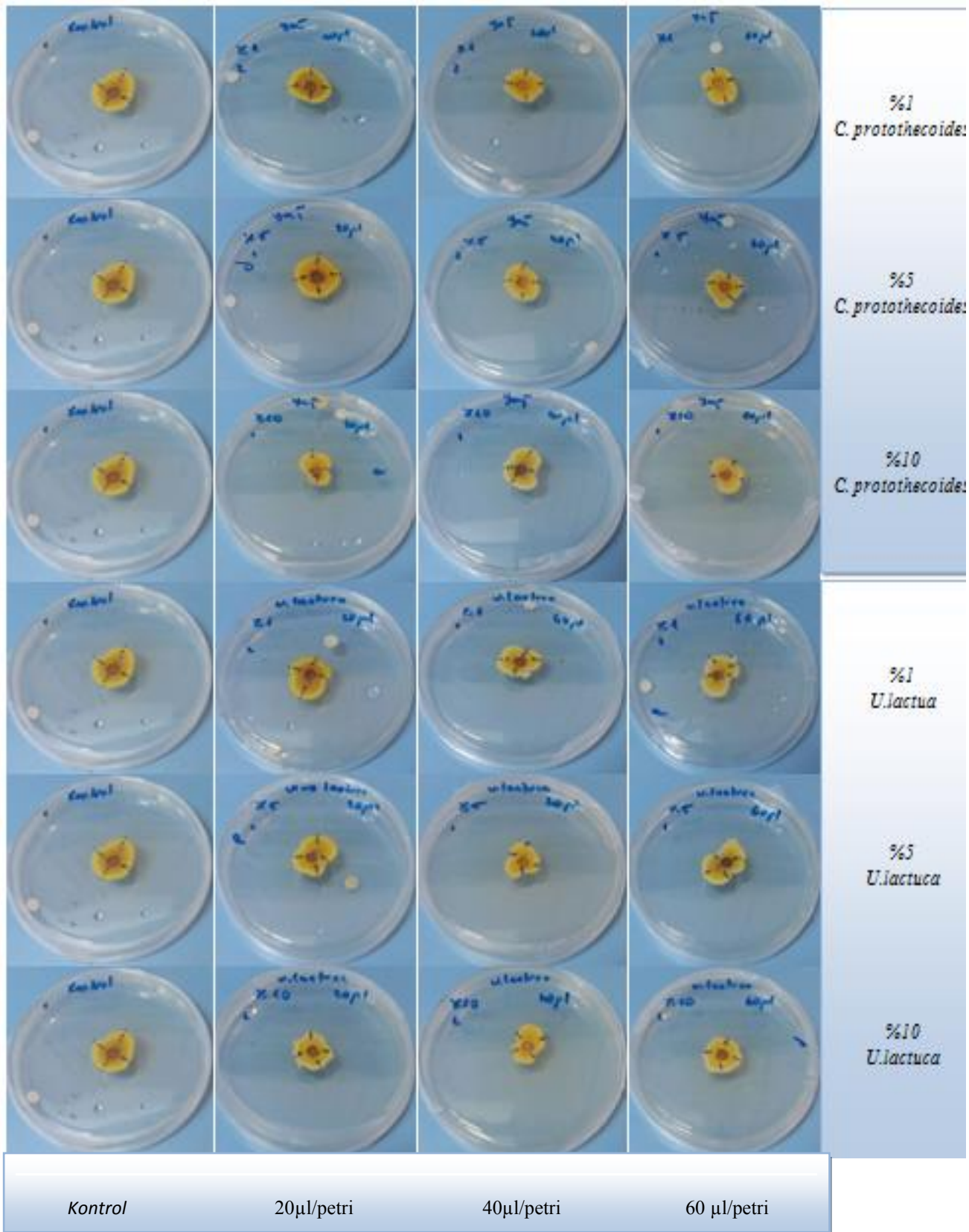
*P<0.01 değerinde istatistiksel olarak önemlidir.

*Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen P değerleri 0.01’den küçük olduğunda (P<0.01) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de *Penicillium expansum*’a karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünimleri verilmiştir.



Şekil 4. 10 BBM’da üretilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Penicillium expansum* koloni gelişimine etkileri



Şekil 4. 11 *C. protothecoides* yağının ve *U. lactuca* ekstraktının farklı doz ve konsantrasyonlardaki fumigasyon uygulamasının *Penicillium expansum* koloni gelişimine etkileri

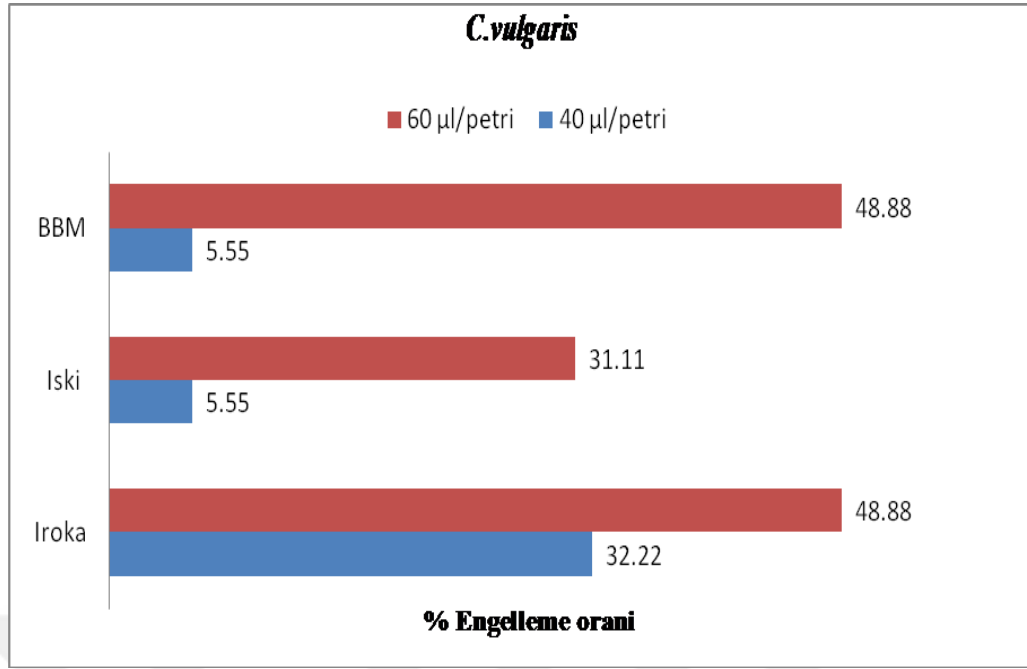
4.4 In vitro koşullarda farklı kùltùr ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamalarının fungal etmenlerine karşı etkileri

4.4.1 In vitro’da *Aspergillus niger*’e karşı *C.vulgaris* mikroalg ekstrakt fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 13 Değişik kùltùr ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü

Mikroalg		<i>Aspergillus niger</i>				
Kùltùr Ortamı		Mikroalg dozları	3. gün(mm)	4. gün(mm)	5. gün(mm)	6.gün(mm)
<i>C.vulgaris</i>	BBM	40 µl/petri	64	83	85	85
		60 µl/petri	46	46	46	46
	İSKİ	40 µl/petri	67.5	82	85	85
		60 µl/petri	62	62	62	62
	İroko	40 µl/petri	61	61	61	61
		60 µl/petri	46	46	46	46

Çizelge 4.13’e göre, *C.vulgaris* mikroalg ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*’in misel gelişimini engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve İroko ağaç özütü suyunda yetişen *C.minutissima*’nın en yüksek ardından sırasıyla BBM ve İSKİ kùltùr ortamında yetişen *C.vulgaris*’in daha düşük etki gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. 12 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranları

Çizelge 4.13'te *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasında farklı kültür ortamlarında yetişen mikroalg ekstraktlarının 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri ve Şekil 4.12'de 6. inkübasyon gününde *Aspergillus niger*'in misel gelişimini engelleme oranları (1no'lu formüle göre hesaplanmıştır) verilmiştir.

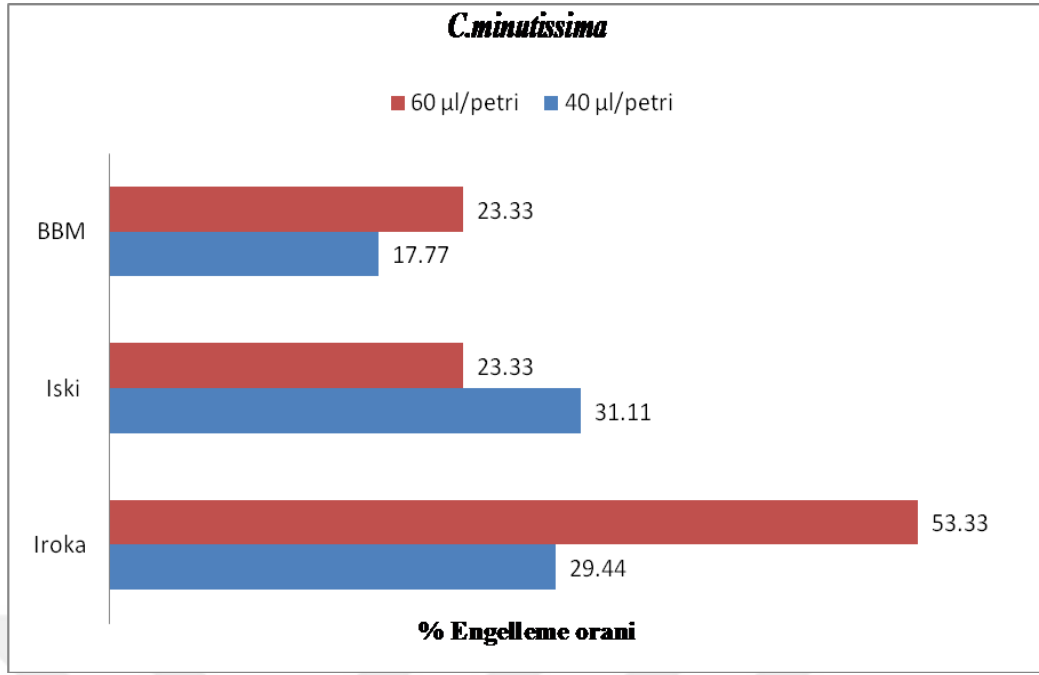
Şekil 4.12'e bakıldığında farklı kültür ortamlarında yetişen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktının farklı dozlarda uygulandığında fungusun misel gelişimini farklı oranda engellediği görülmektedir. 60 µl/petri dozunda uygulamasının *C.vulgaris* mikroalg ekstraktının fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir. Buna ek olarak BBM ve iroko kültür ortamında yetişen ekstraktların fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir.

4.4.2 In vitro’da *Aspergillus niger*’e karşı *C.minutissima* mikroalg ekstrakt fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 14 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü

Mikroalg		<i>Aspergillus niger</i>				
Kültür Ortamı		Mikroalg dozları	3. gün(sm)	4. gün(sm)	5. gün(sm)	6. gün(sm)
<i>C.minutissima</i>	BBM	40 µl/petri	67	74	74	74
		60 µl/petri	65	69	69	69
	İSKİ	40 µl/petri	62	62	62	62
		60 µl/petri	69	69	69	69
	İroko	40 µl/petri	63.5	63.5	63.5	63.5
		60 µl/petri	42.5	42.5	42.5	42.5

Çizelge 4.14’e göre, *C.minutissima* mikroalg ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Aspergillus niger*’in misel gelişimini engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve İroko ağaç özütü suyunda yetişen *C.minutissima*’nın daha yüksek etki gösterdiği BBM ve İSKİ kültür ortamında yetişen *C.minutissima*’nın benzer ve daha düşük gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. 13 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranları

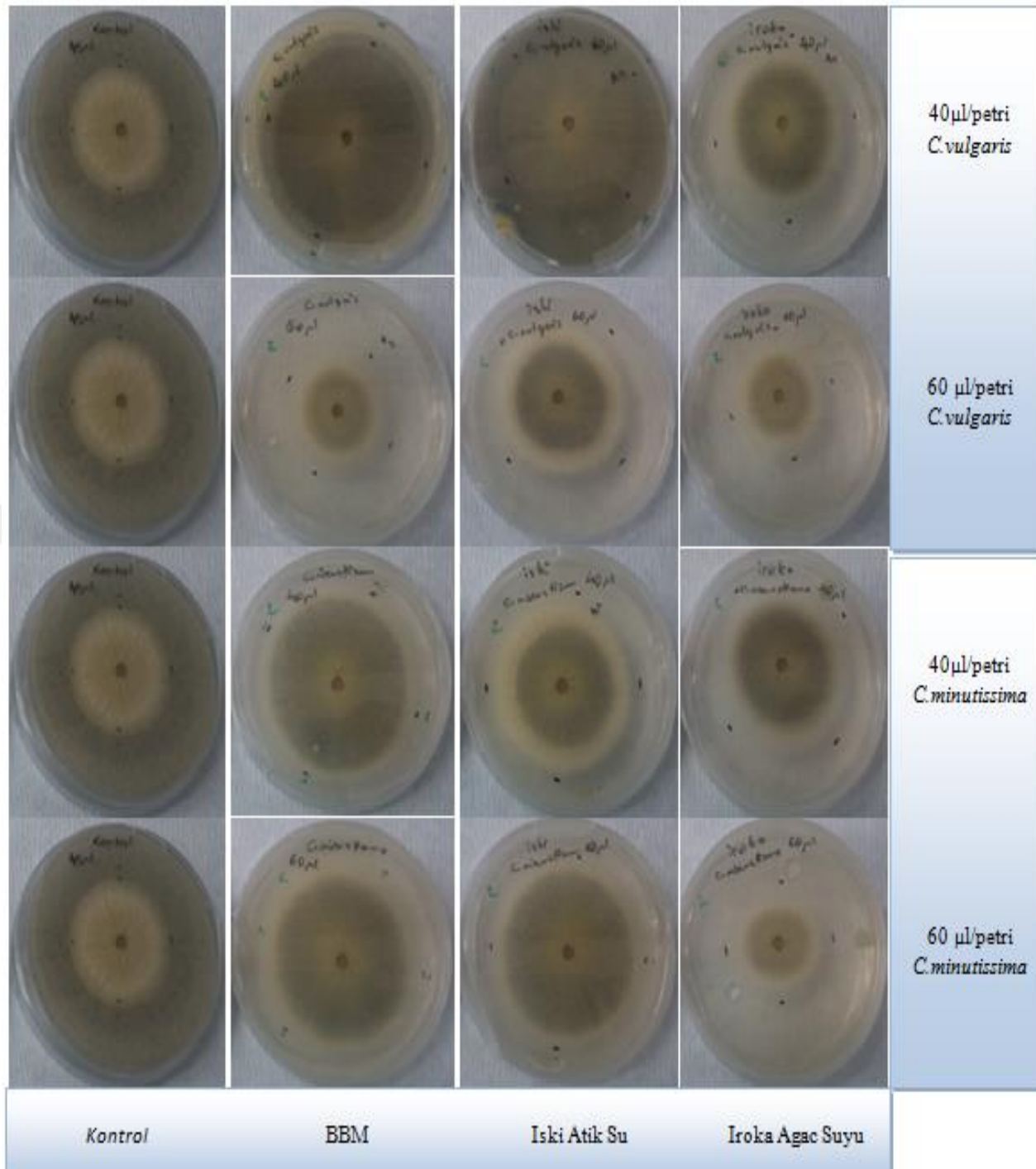
Çizelge 4.14'te *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasında farklı kültür ortamlarında yetişen mikroalg ekstraktların 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri ve Şekil 4.13'te 6. inkübasyon gününde *Aspergillusniger*'in misel gelişimini engelleme oranları (1no'lu formüle göre hesaplanmıştır) verilmiştir.

Şekil 4.13'e bakıldığında BBM ve Iroko kültür ortamında yetişen *C.minutissima* mikroalginin 60 µl/petri dozunda uygulamasının fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir.

İroko kültür ortamında yetişen ekstraktların ise fungusun misel gelişimini en yüksek oranda engellediği görülmektedir.

İroko kültür ortamında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Aspergillusniger* misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir.

Şekil 4.14'te *Aspergillus niger*'e karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünüşleri verilmiştir.



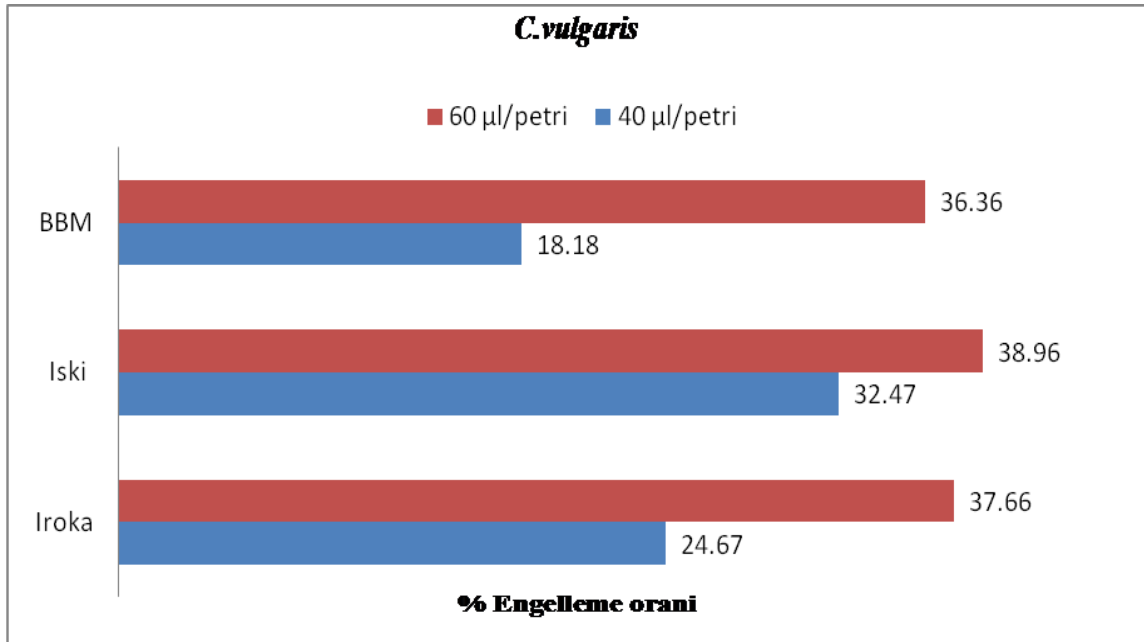
Şekil 4. 14 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* fumigasyon uygulamasının *Aspergillus niger* koloni gelişimine etkileri

4.4.3 In vitro’da *Fusarium oxysporum*’a karşı *C.vulgaris* mikroalg ekstrakt fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 15 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü

Mikroalg		<i>Fusarium oxysporum</i>				
Kültür Ortamı		Mikroalg dozları	3. gün(mm)	4. gün(mm)	5. gün(mm)	6. gün(mm)
<i>C.vulgaris</i>	BBM	40 µl/petri	41	54.5	60	63
		60 µl/petri	38.5	41	44	49
	İSKİ	40 µl/petri	39	45	47	52
		60 µl/petri	36	40	42.5	47
	İroko	40 µl/petri	40	48	54	58
		60 µl/petri	36.5	40	44	48

Çizelge 4.15’e göre, *C.vulgaris* mikroalg ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Aspergillusniger*’in misel gelişimini engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve BBM, İSKİ ve İroko ağaç özütü kültür ortamında yetişen *C.vulgaris*’in benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. 15 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini engelleme oranları

Çizelge 4.15'te *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasında farklı kültür ortamlarında yetişen mikroalg ekstraktlarının 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri ve Şekil 4.15'te 6. inkübasyon gününde *Fusarium oxysporum*'un misel gelişimini engelleme oranları (1no'lu formüle göre hesaplanmıştır) verilmiştir.

Şekil 4.15'e bakıldığında farklı kültür ortamlarında yetişen *C.vulgaris* mikroalginin ekstraktının farklı dozlarda uygulandığında fungusun misel gelişimini farklı oranda engellediği görülmektedir.

60 µl/petri dozunda uygulanan *C.vulgaris* mikroalg ekstraktların fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği ve her üç kültür ortamında da benzer etki gösterdiği görülmektedir.

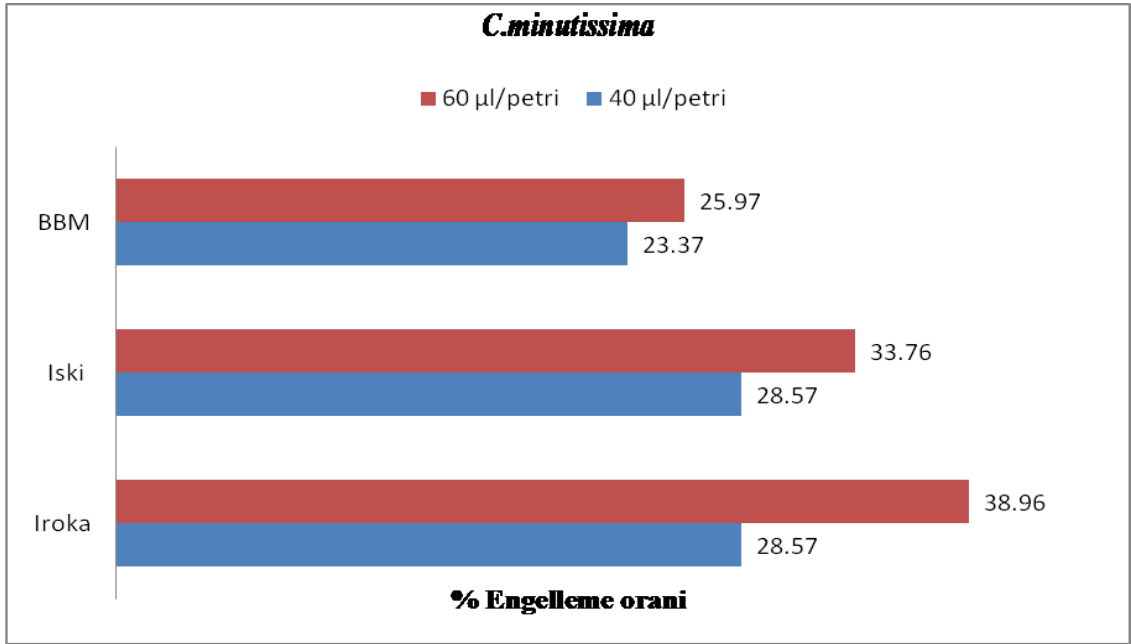
40 µl/petri dozunda uygulanan *C.vulgaris* mikroalg ekstraktların fungusun misel gelişimini daha düşük oranda engellediği ve üç kültür ortamından en yüksek engelleme oranını İSKİ kültür ortamında gösterdiği görülmektedir.

4.4.4 In vitro’da *Fusarium oxysporum*’a karşı *C.minutissima* mikroalg ekstrakt fumigasyon uygulamasının etkisi

Çizelge 4. 16 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümü

Mikroalg		<i>Fusarium oxysporum</i>				
Kültür Ortamı		Mikroalg dozları	3. gün(sm)	4. gün(sm)	5. gün(sm)	6. gün(sm)
<i>C.minutissima</i>	BBM	40 µl/petri	40	53	54	59
		60 µl/petri	42	52	54.5	57
	İSKİ	40 µl/petri	41	49	52	55
		60 µl/petri	39	44	46	51
	İroko	40 µl/petri	41	47.5	50.5	55
		60 µl/petri	37.5	42	44	47

Çizelge 4.16’ya göre, *C.minutissima* mikroalg ekstraktların fumigasyon uygulamasında *Aspergillusniger*’in misel gelişimini engelleme oranları varyans analiz JMP paket programı kullanılarak belirlenmiş ve BBM, İSKİ ve İroko ağaç özütü kültür ortamında yetişen *C.minutissima*’nın benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini engelleme oranları

Çizelge 4.16'da *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasında farklı kültür ortamlarında yetişen ekstraktların 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde ölçümleri ve Şekil 4.16'da 6. inkübasyon gününde *Fusarium oxysporum*'un misel gelişimini engelleme oranları (1no'lu formüle göre hesaplanmıştır) verilmiştir.

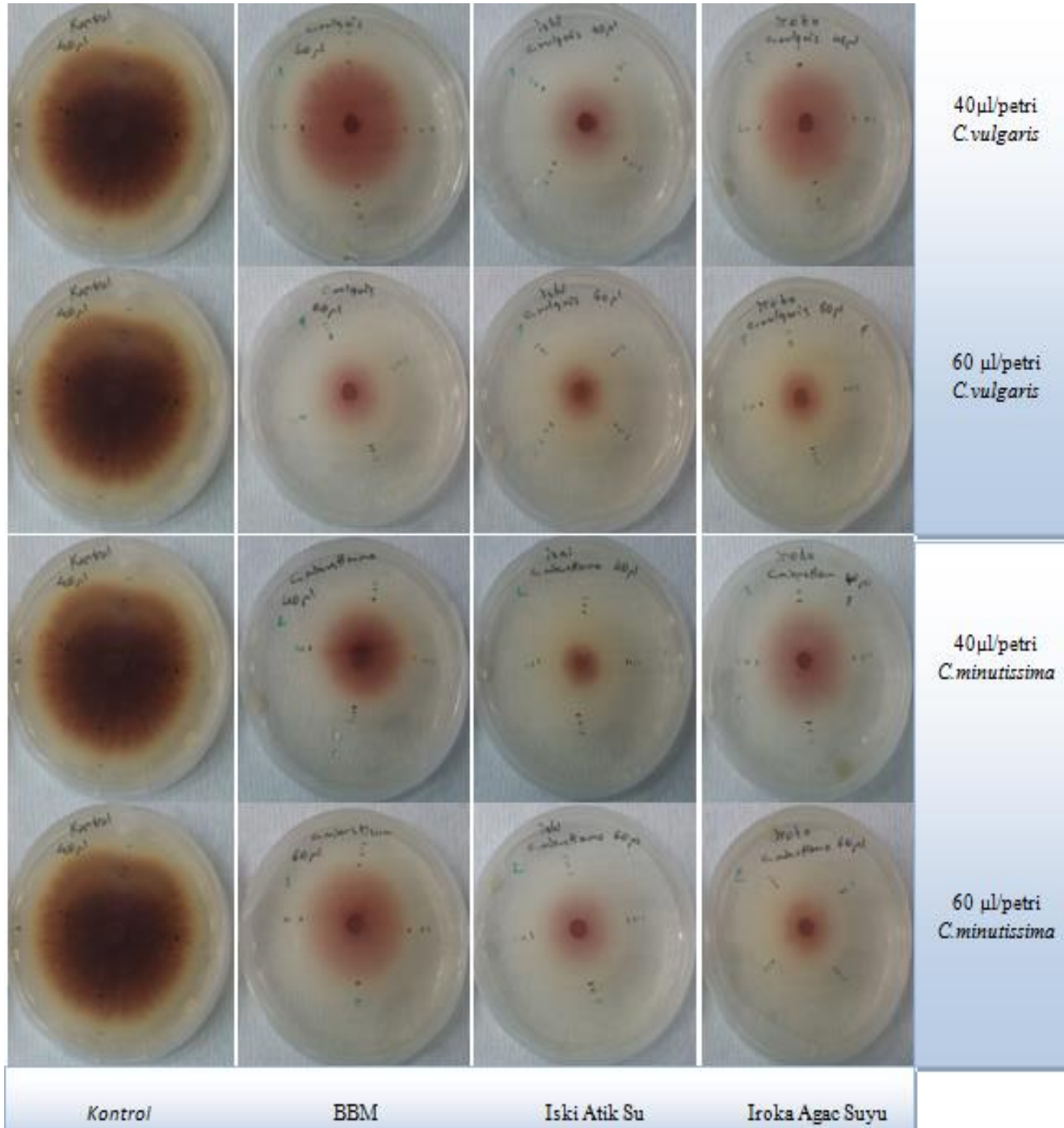
Şekil 4.16'ya bakıldığında farklı kültür ortamlarında yetişen *C.minutissima* mikroalginin ekstraktının farklı dozlarda uygulandığında fungusun misel gelişimini farklı oranda engellediği görülmektedir.

60 µl/petri dozunda uygulanan *C.minutissima* mikroalg ekstraktların fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir.

Ayrıca İSKİ ve iroko kültür ortamında yetişen ekstraktların benzer ve BBM kültür ortamından daha yüksek etki gösterdiği görülmektedir.

İSKİ ve iroko kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir.

Şekil 4.17'de *Fusarium oxysporum*'a karşı gösterdikleri antifungal etkilerin besiyeri ortamındaki görünüşleri verilmiştir.



Şekil 4. 17 Değişik kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* koloni gelişimine etkileri

Sonuç olarak İroko kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir. İroko kültür ortamlarında yetiştirilen ekstraktlarının fungusun misel gelişimini daha yüksek oranda engellemesinin, iroko ağacının algal biyokütle içeriğindeki değerli metabolitleri arttırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tez çalışmasında kullanılan tüm makro ve mikroalg türlerinin antifungal aktivite sonuçlarına bakıldığında fungal mikroorganizmalara karşı potansiyel engelleyici bir aktivite oluşturduğu gözlenmektedir.

Çözücü olarak kullanılan DMSO'nun test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivitesi yoktur.

Yapılan literatür incelemelerinde çalışmada kullanılan makro ve mikroalg türlerinin antifungal aktivite gösterdiği *Alternaria mali* ve *Penicillium expansum* fungal mikroorganizmalar ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yalnızca *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır.

Fumigasyon çalışmasında 10, 50, 100 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan makro ve mikroalg ekstraktlarından 20µl/petri, 40µl/petri, 60 µl/petri dozlarında otomatik pipetlerle disk kâğıtlarına uygulanmıştır. Yapılan literatür incelemelerinde makro ve mikroalg türlerinin konsantrasyon veya emdirilen doz miktarlarının karşılaştırılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

İSKİ atık su ve iroko ağaç özütünde yetiştirilen mikroalg türleri ile yapılan bu çalışmada bu kültür ortamlarında yetişen mikroalglerin büyüme kinetiği ve fumigasyon uygulaması ile antifungal aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Literatürde ise mikroalglerin fumigasyon uygulamasında kullanımları amacıyla İSKİ atık su ve iroko ağaç özütünde yetiştirilmeleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.5. Disk Difüzyon Yöntemiyle Antibakteriyal Aktivitenin Belirlenmesi

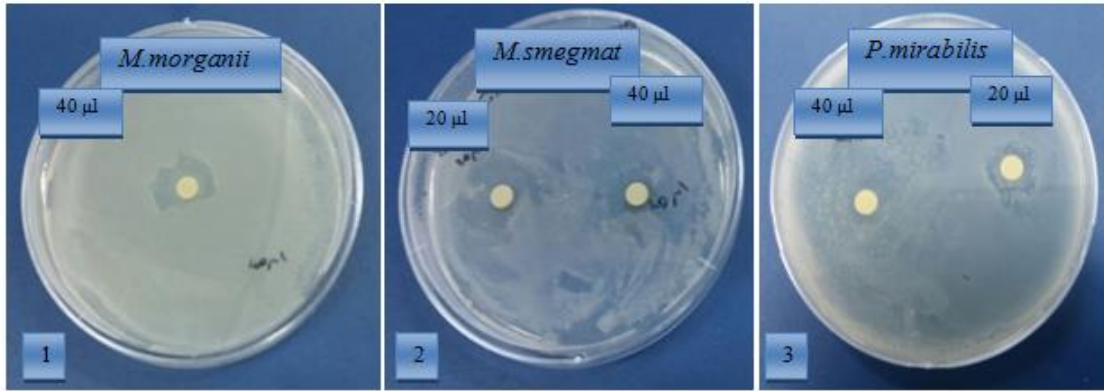
Tez çalışmasında *C.minutissima* (BBM), *C.vulgaris* (BBM), *C.protothecoides* ve *Ulva lactuca* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri, disk difüzyon yöntemi kullanılarak; Gram pozitif; *Mycobacterium smegmatis* RUT ve Gram negatif; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* BC 6624, *Aeromonas hidrofila* ATCC 7965 bakterileri ile belirlenmiştir.

Ekstraktların oluşturdukları zon çapları 14 mm'den küçük ise mikroorganizma dirençli, 14-17 mm arasında ise az duyarlı, 17 mm'den büyük ise duyarlı olarak kabul edilmiştir [63].

4.5.1. BBM ortamında yetişen *C.minutissima*'nın Antibakteriyel Aktivitesi

Çizelge 4. 17 *C.minutissima* mikroalg ekstraktının NA besiyerinde değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi, D:denenmedi

Mikroalg	Mikroalg dozları	<i>Morganella morganii</i> (mm)	<i>Proteus mirabilis</i> (mm)	<i>Aeromonas hidrofila</i> (mm)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (mm)
<i>C.minutissima</i>	20 µl/petri	11.66±1.52	14.16±1.44	D	13.16±3.61
	40 µl/petri	15±3	17.66±4.04	D	15±2



Şekil 4. 18 *C.minutissima* ekstraktının NA besiyerinde 1. *Morganella morganii*, 2. *Mycobacterium smegmatis*, 3. *Proteus mirabilis* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi

C.minutissima mikroalg ekstraktının antibakteriyel aktiviteleri, NA besiyerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

C.minutissima mikroalginin ekstraktının *Morganella morganii* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 11.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli, 40 µl/petri dozunda 15 mm inhibisyon zon çapı ile az duyarlı olarak belirlenmiştir.

Proteus mirabilis bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 14.16 mm inhibisyon zon çapı ile az duyarlı ve 40 µl/petri dozunda 17.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma duyarlı olarak belirlenmiştir.

Mycobacterium smegmatis bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi ise; 20 µl/petri dozunda 13.16 mm inhibisyon zon çapı ile dirençli ve 40 µl/petri dozunda 15 mm inhibisyon zon çapı ile az duyarlı olarak belirlenmiştir.

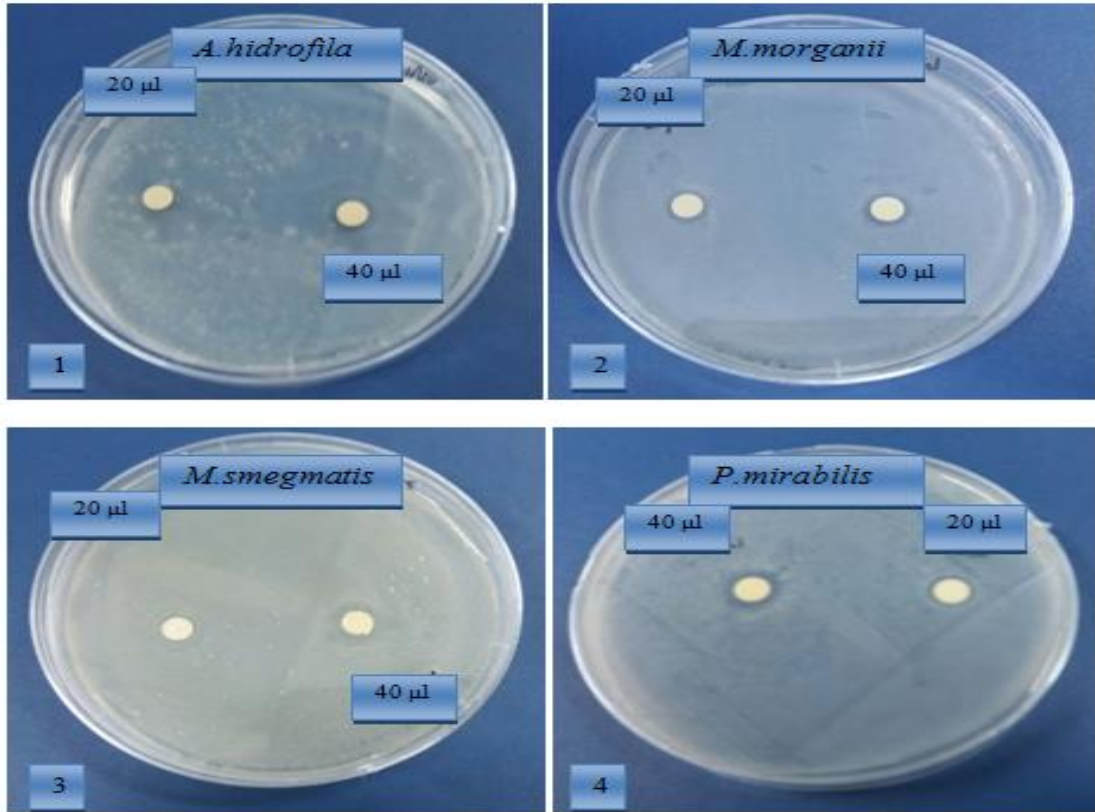
C.minutissima mikroalginin ekstraktına az duyarlı bakteri *Proteus mirabilis* iken, en dirençli bakteri *Morganella morganii* olarak saptanmıştır.

Makridis ve ark.; *Tetraselmis chuii* ve *Chlorella minutissima* mikroalglerinin seçilmiş gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını gözlemlemişler.

4.5.2. BBM ortamında yetişen *C.vulgaris*'in Antibakteriyel Aktivitesi

Çizelge 4. 18 *C.vulgaris* mikroalg ekstraktlarının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi

Mikroalg	Mikroalg dozları	<i>Morganella morganii</i> (mm)	<i>Proteus mirabilis</i> (mm)	<i>Aeromonas hidrofila</i> (mm)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (mm)
<i>C.vulgaris</i>	20 µl/petri	9±1	9.33±1.52	18±4.35	8±1.73
	40 µl/petri	10±1	10.66±1.15	21.66±5.77	11.66±3.51



Şekil 4. 19 *C.vulgaris* ekstraktının NA besi yerinde 1. *Aeromonas hidrofila*, 2. *Morganella morganii*, 3. *Mycobacterium smegmatis*, 4. *Proteus mirabilis* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi

C.vulgaris mikroalg ekstraktının antibakteriyel aktiviteleri, NA besi yerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Aeromonas hidrofila* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile belirlenmiştir.

C.vulgaris mikroalg ekstraktının *Morganella morganii* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 8 mm ve 40 µl/petri dozunda 9 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

Proteus mirabilis bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 9.33 mm ve 40 µl/petri dozunda 10.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak, *Aeromonas hidrofila* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 18 mm ve 40 µl/petri dozunda 21.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma duyarlı olarak belirlenmiştir.

Mycobacterium smegmatis bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi ise; 20 µl/petri dozunda 8 mm ve 40 µl/petri dozunda 11.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

C.vulgaris mikroalg ekstraktına *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Mycobacterium smegmatis* dirençli bakteriler iken, *Aeromonashidrofila* duyarlı bakteri olarak saptanmıştır.

Pratt ve ark.; *Chlorella* mikroalginden antibakteriyel bileşikleri izole etmiş ve yağ asitleri karışımının Gram+ ve Gram- bakterilere karşı inhibe edici aktivitesi olduğunu bildirmişler.

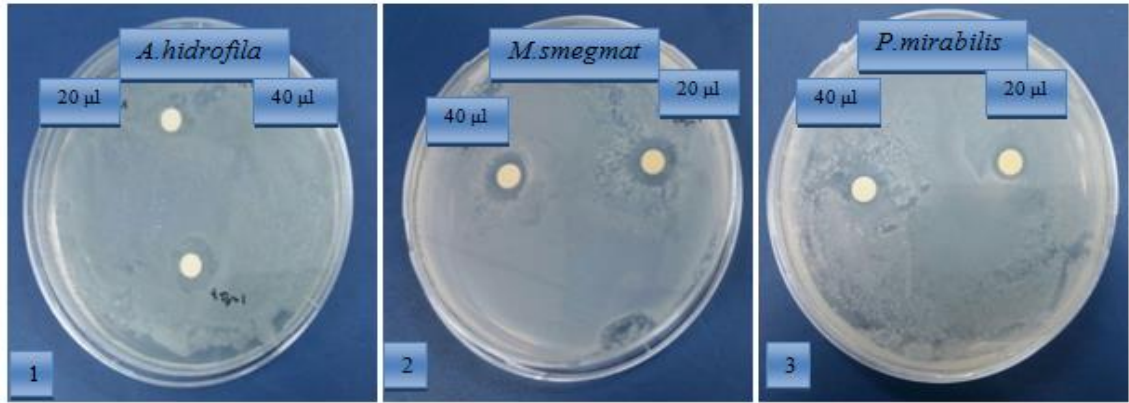
Danielli M.M. Dantas ve ark. yaptıkları bir çalışmaya göre; *C.vulgaris*'in etanol, metanol, butanol, aseton, DMSO ve sulu ekstraktlarını, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteretidis*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* türlerine karşı disk diffüzyon ve broth seyreltme yöntemleri kullanılarak test edilmişler. *C.vulgaris*'in etanol, metanol, butanol, aseton ve DMSO ekstraktlarının *P.mirabilis*'e karşı etkili olmadıklarını ve hiç inhibisyon zonu elde etmediklerini bildirmiştir. Sadece *C.vulgaris*'in sulu ekstraktı 11 mm inhibisyon zonu ile *P.mirabilis*'e karşı etkili olmuştur.

Demiriz, T., (2008); yaptığı çalışmada kullandığı *Oscillatoria limosa*, *Oscillatoria limnetica*, *Phormidium tenue*, *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina major* alg türlerinin, *Staphylococcus aureus* (ATCC 19213), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (O157: H7), *Salmonella enteretidis* (ATCC 13076) test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerini belirlemiştir. Çalışma sonucunda, *Chlorella vulgaris*'ten metanol ile elde edilen ekstrakt test bakterilerini hiçbirine karşı antibakteriyel aktivite göstermediği belirlemiştir. Tez çalışmasında ise *C.vulgaris* ekstraktının bütün test bakterilerine karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

4.5.3. *C.protothecoides*'in Antibakteriyel Aktivitesi

Çizelge 4. 19 *C.protothecoides* mikroalg yağının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi, D:denenmedi

Mikroalg	Mikroalg dozları	<i>Morganellamo rganii</i> (mm)	<i>Proteusmirabil is</i> (mm)	<i>Aeromonashi drofila</i> (mm)	<i>Mycobacteriums megmatis</i> (mm)
<i>C.protothecoid es</i>	20 µl/petri	D	9.5±3.04	10.66±1.52	10.33±2.08
	40µl/petri	D	10±1	13.66±1.52	10.66±2.08



Şekil 4. 20 *C.protothecoides* yağının NA besiyerinde 1. *Aeromonas hidrofila*, 2. *Mycobacterium smegmatis*, 3. *Proteus mirabilis* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi

C.protothecoides mikroalg yağının antibakteriyel aktiviteleri, NA besiyerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak; *Proteus mirabilis*, *Aeromonas hidrofila* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile belirlenmiştir.

C.protothecoides mikroalg yağının *Proteus mirabilis* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 9.5 mm ve 40 µl/petri dozunda 10 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

Aeromonas hidrofila bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 10.66 mm ve 40 µl/petri dozunda 13 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli, *Mycobacterium smegmatis* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 10.33 mm ve 40 µl/petri dozunda 10.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

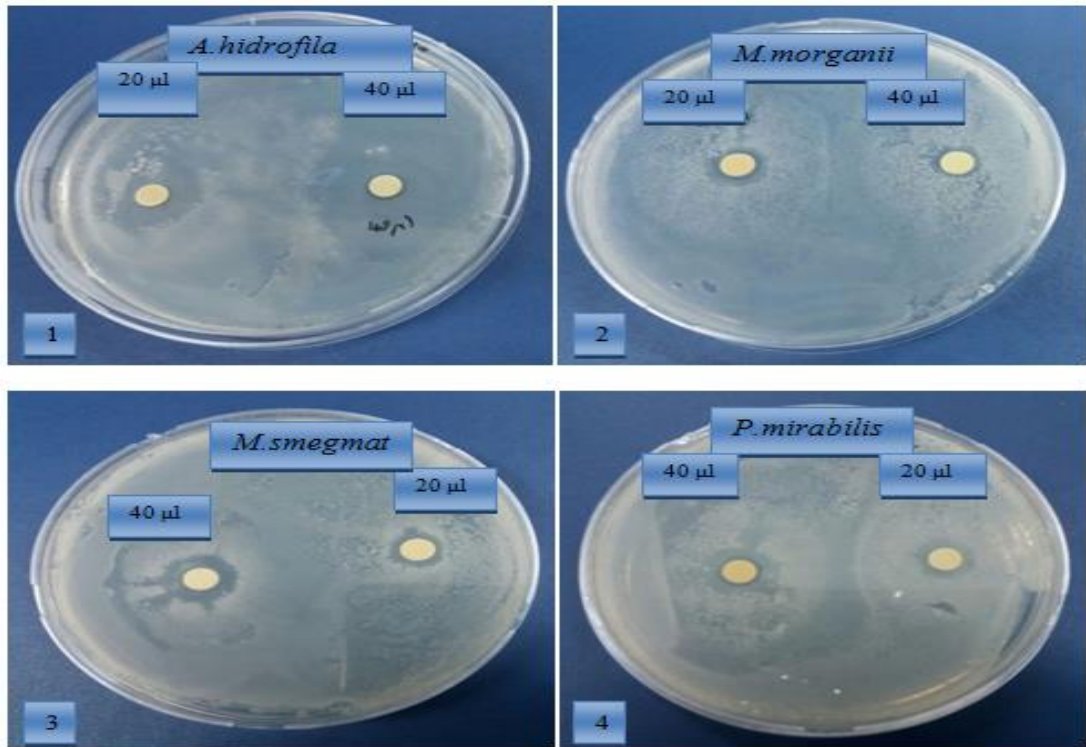
C.protothecoides mikroalg yağına bütün bakterilerin dirençli olduğu saptanmıştır.

Prashant ve ark., (2006); mavi yeşil alglerin ve yeşil alglerin metanolik ekstraktının çok güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişler.

4.5.4. *U.lactuca*'nın Antibakteriyel Aktivitesi

Çizelge 4. 20 *Ulva lactuca* makroalg ekstraktlarının değişik patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi

Makroalg	Makroalg dozları	<i>Morganella morganii</i> (mm)	<i>Proteus mirabilis</i> (mm)	<i>Aeromonas hidrofila</i> (mm)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (mm)
<i>U.lactuca</i>	20 µl/petri	10±1	12.16±2.25	19.33±1.15	9.66±1.52
	40µl/petri	12±1	13±2.08	27±2	11.66±2.3



Şekil 4. 21 *U.lactuca* ekstraktının NA besiyerinde 1. *Aeromonas hidrofila*, 2. *Morganella morganii*, 3. *Mycobacterium smegmatis*, 4. *Proteus mirabilis* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi

Ulva lactuca makroalg ekstraktının antibakteriyel aktiviteleri, NA besiyerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Aeromonas hidrofila* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile belirlenmiştir.

Ulva lactuca makroalg ekstraktının *Morganella morganii* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 10 mm ve 40 µl/petri dozunda 12 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

Proteus mirabilis bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 12.16 mm ve 40 µl/petri dozunda 13 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli,

Aeromonas hidrofila bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi ise; 20 µl/petri dozunda 19.33 mm ve 40 µl/petri dozunda 27 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma duyarlı olarak belirlenmiştir.

Ayrıca *Mycobacterium smegmatis* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi; 20 µl/petri dozunda 9.66 mm ve 40 µl/petri dozunda 11.66 mm inhibisyon zon çapı ile mikroorganizma dirençli olarak belirlenmiştir.

Ulva lactuca makroalg ekstraktına *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, ve *Mycobacterium smegmatis* dirençli bakteriler iken, en duyarlı bakteri *Aeromonas hidrofila* olarak saptanmıştır.

Barbosa ve ark., (2007); *Ulva lactuca* 'nın sahip olduğu yağlar ve yağ asitlerinin diğer biyoaktif bileşiklerin oluşumunda önemli rol oynadıklarını ve bazı yağ asitlerinin antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını bildirmişler.

El Yamany, (2008); *Ulva lactuca* 'nın antimikrobiyal aktivitesinin alg içeriğinde bulunan akrilik asit'e bağlı olduğunu bildirmişler.

Tez çalışmasında kullanılan tüm makro ve mikroalg türlerinin antibakteriyel aktivite sonuçlarına bakıldığında hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı potansiyel engelleyici bir aktivite oluşturduğu gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan tüm makro ve mikroalg türlerinin ekstraktlarına dirençli bakteriler; *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, ve *Mycobacterium smegmatis* iken, duyarlı bakteri *Aeromonas hidrofila* olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak her alg türünün Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı farklı engelleyici aktivite göstermesinin nedeni; her alg türünde farklı oranlarda bulunan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olan sekonder metabolitlerin varlığıyla ve bakteriye olan etki mekanizmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir.

C.vulgaris % 50-60 oranında proteinden oluşmaktadır [4]. Algal peptidler bakteriyel yayılmayı engelleyerek antibakteriyel özellik göstermektedir. Algal serbest yağ asitleri adenozin trifosfat enerji transferini engeller ve bakteriyel enoil-açıl taşıyıcı protein redüktaz gibi enzimleri inhibe eder ve daha sonra hücre lizisi ve peroksidasyonu ve oto-oksidasyon bozunma ürünleri meydana gelir [21]. Buna ek olarak, *C.vulgaris* fenolik bileşikleri içermektedir. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi; mikrobiyal hücrenin geçirgenliğinin değiştirilmesi, iç makromoleküllerin kaybı, zar işlevi ve hücresel bütünlük kaybı ve hücrenin ölümü ile sonuçlanmasından kaynaklanır [51].

C.vulgaris'te bulunan terpen bileşiklerinin bakteriyel büyümeyi inhibe ederek antibakteriyel özellik gösterdiği tespit edilmiştir [21]. Ayrıca *C.vulgaris* içeriğindeki alkaloidler antibakteriyel aktivitesi olan bileşiklerdir (Çizelge 2.2).

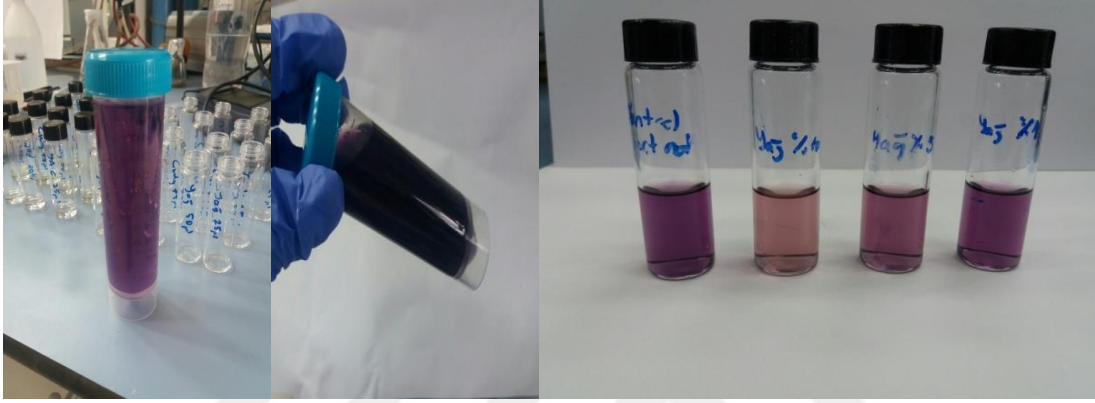
C.minutissima mikroalginin içeriğinde bulunan Eikosapentaenoik asit'in patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır [19]. Ayrıca, *Chlorella minutissima* amino asitler ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir [31]. *Chlorella minutissima*'daki peptidlerin amfipatik konformasyonu bakteriyel sitoplazmik zarı polar ve polar olmayan bölgelere bağlanmayı sağlar, bu şekilde hücresel süreçleri ve yayılmayı engeller. Buna ek olarak, *Chlorella minutissima* yüksek lipid içeriğine (% 57) sahiptir. Algal serbest yağ asitlerinin bakteriyel hücre zarlarında elektron taşıma zincirinin ve normal oksidatif fosforilasyonun inhibitörleri gibi davrandığı bildirilmiştir [21]. *C.protothecoides*; lutein, astaksantin ve zeaksantin gibi antioksidan maddeleri bitki ve alglerde ışık toplayıcı pigmentler gibi işlev görürler. Bunlar antioksidan aktiviteye sahiptirler, aynı zamanda bakterilere karşı da etkilidirler [21].

Ulva lactuca antioksidan ve yaşlanma karşıtı vitaminleri olan A, C ve E vitaminlerini ve çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermektedir [35]. Algal serbest yağ asitlerinin antibakteriyel özellikler sergilediği bilinmektedir[21]. Bütün *Ulva* türleri fotosentez pigmenti (kloroplast) içerirler. Fotosentetik pigmenti olarak sadece klorofil a ve klorofil b ve az miktarda karotenoid bulunmaktadır [36]. Karotenoid'in antimikrobiyal mekanizması; bakteriyel hücre duvarlarının sindirimine neden olan immün enzimi lysozime birikmesidir [51].

Çözücü olarak kullanılan DMSO'nun test bakterileri üzerinde antibakteriyel etkisi yoktur. Yapılan literatür incelemelerinde *C.vulgaris* ve *Ulva lactuca* ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi ile ilgili çalışmalar bulunmakta ancak *C.protothecoides* mikroalginin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ayrıca çalışmada kullanılan makro ve mikroalg türlerinin antibakteriyel aktivite gösterdiği *Morganella morganii*, *Aeromonas hidrofila* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yalnızca *Proteus mirabilis* ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır.

DPPH, radikali doğal antioksidanların serbest radikal giderme aktivitesini ölçmek için kullanılan bir radikaldır. DPPH çözeltisi koyu mor renklidir ve 517 nm’de absorbanı ölçülmektedir. Ortama antioksidan ilave edilmesi halinde DPPH çözeltisinin renginde değişim meydana gelir. Ortamda antioksidan maddenin bulunması halinde absorbansta düşüş, yani mor renkte bir azalma gerçekleşir ve renk sarıya doğru döner. Bu durum ortamda DPPH,radikalinin konsantrasyonunun azaldığını gösterir. Sonuç olarak, absorban ne kadar düşük ise antioksidanın serbest radikali giderme aktivitesi o kadar yüksek demektir.



Şekil 4. 23 Makro ve mikroalg ekstraktlarının DPPH. radikali süpürme aktivitesi ve DPPH çözeltisinin renginde oluşan değişim

Yapılan deneysel çalışmalarda *C.minutissima*, *C.vulgaris*, *C.protothecoides* ve *Ulva lactuca* ekstraktlarının BHT’den daha düşük aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Makro ve mikroalg ekstraktları arasından ise en yüksek aktiviteye *C.protothecoides* ve en düşük aktiviteye *C.vulgaris* ve *Ulva lactuca* ekstraktlarının sahip olduğu gözlenmiştir.

Tez çalışmasında *C.protothecoides* mikroalg türünün saf yağı kullanıldığından dolayı antioksidan aktivitesi diğer makro ve mikroalg ekstraktlarına göre daha yüksek çıkmıştır. Buna ek olarak, *Chlorella protothecoides*’in antioksidan özelliği %4.60 lutein, zeaksantin ve kantaksantin gibi antioksidan bileşikler içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışılan makro ve mikroalg ekstraktlarının ve standart antioksidan maddenin farklı konsantrasyonlardaki (250, 500, 750, 1000 µg/mL) serbest radikal giderme aktiviteleri BHT > *C.protothecoides* > *C.minutissima* > *C.vulgaris* > *Ulva lactuca* şeklinde ifade edilebilir. Makro ve mikroalg ekstraktlarının tümünde konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında artış gözlenmiştir. Standart madde ile karşılaştırıldığında makro

ve mikroalg ekstraktları 250, 500, 750, 1000 µg/mL’lik konsantrasyonlarda radikal giderme aktivitesi yönünden oldukça başarılı sonuçlar göstermiştir.

Li ve ark., (2007); birçok makro ve mikroalgin antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmiştirler. Danielli M.M. Dantas ve ark.; *Chlorella vulgaris*’in etanol, metanol, butanol, aseton, DMSO ve sulu ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikali giderme yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Sonuç olarak etanol ekstraktının %37.2, metanol ekstraktının %35.4, butanol ekstraktının %30.6, aseton ekstraktının %23.5, DMSO ekstraktının %64.6 ve sulu ekstraktının %68.5’lik engelleme oranlarını elde etmişlerdir. *C.vulgaris*’in DMSO ekstraktının %64.6 ve sulu ekstraktının %68.5’lik engelleme oranları ile standart gallik asit %28.7 ve kateçin’in %49.6’lık engelleme oranlarından daha yüksek engelleme oranları elde etmişlerdir.

Benzer şekilde bu tez çalışmasında *C.vulgaris* ekstraktının 250-1000µg/mL’lik konsantrasyonlarda radikal giderme aktivitesi %35.8-37.7 arasında bulunmuştur.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Alglerin büyüme eğrisi incelendiğinde, en iyi büyüme BBM ve iroko ağaç özütü ortamlarında elde edilmiştir. En düşük konsantrasyon ise *C. vulgaris* ile İSKİ atık suyunda elde edilmiştir. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi *C. minutissima* mikroalg türü her üç kültür ortamında yüksek konsantrasyonlara ulaşmış ve *C. vulgaris*’ten daha yüksek büyüme göstermiştir.

BBM özel olarak tatlı su mikroalglerinin ihtiyaç duyduğu makrobesinleri, mikrobeseinleri ve vitaminleri gerekli konsantrasyonlarda içerdiği için mikroalgler bu ortamda daha yüksek büyüme göstermiştir.

Aynı şekilde iroko ağaç özütü içeriğinde; hormonlar, mineral maddeler, organik asitler ve amino asitler bulunduğu için mikroalglerin ağaç suyuyla beslenmesi durumunda büyümesi hızlanmıştır.

Ancak İSKİ atık suyu mikroalglerin büyümesi için ihtiyaç duyduğu besinleri ve vitaminleri gerekli konsantrasyonlarda içermediği için mikroalgler bu ortamda daha düşük büyüme göstermiştir.

- Klorofil-a ve karoten içeriği incelendiğinde, *Chlorella minutissima* mikroalg türünde klorofil-a ve karoten içeriği daha yüksek bulunmuştur. İSKİ atık suyunda yetişen *Chlorella vulgaris* mikroalg türü daha az büyüme gösterdiği için ve klorofil a içeriği büyüme ile orantılı olduğu için, İSKİ atık suyunda yetişen *Chlorella vulgaris* mikroalg türünün klorofil a içeriği daha düşük elde edilmiştir.

- Antifungal aktiviteye sahip sekonder metabolitler misel büyümesinin gelişimini durdurarak veya inhibe ederek, çimlenmeyi önleyerek veya fungal patojenlerin sporülasyonunu azaltarak etki etmektedirler.

C.vulgaris'te bulunan terpenler, alkaloidler ve polipeptitler antifungal aktiviteye sahip başlıca gruplardır. Örneğin, mikroorganizmalardaki polifenollerin toksisitesi, bileşiklerin oksidasyonu ile enzim inhibisyonuna atfedilir [89]. *C.minutissima* mikroalginin içeriğinde bulunan eikosapentaenoik asit ve fenolik bileşiklerin patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır (Çizelge 2.2). *C.protothecoides* lutein ve astaksantin, zeaksantin (Çizelge 2.2) gibi ksantofiller oksijen içeren tetraterpen bileşiklerdir ve trepenler *Aspergillus* türüne karşı etkilidir [89]. *Ulva lactuca* algal serbest yağ asitlerinin antimikrobiyal özellikler sergilediği bilinmektedir [51]. Sonuç olarak her alg türünün her fungal mikroorganizmaya karşı farklı etki göstermesinin nedeni; her alg türünde farklı oranlarda bulunan ve antifungal aktiviteye sahip olan sekonder metabolitlerin varlığıyla ilgili olduğu düşünülmektedir.

- BBM, İSKİ ve iroko kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının fumigasyon uygulamasının *Fusarium oxysporum* ve *Aspergillus niger* koloni gelişimine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda İroko kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının misel gelişimini daha yüksek oranda engellediği görülmektedir. İroko kültür ortamlarında yetiştirilen *C.vulgaris* ve *C.minutissima* mikroalg ekstraktlarının *Fusarium oxysporum* ve *Aspergillus niger* misel gelişimini daha yüksek oranda engellemesinin iroko ağaç özütünün algal biyokütle içeriğini zenginleştirmesinden ve değerli metabolitleri arttırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

- Çalışılan makro ve mikroalg ekstraktlarının ve standart antioksidan maddenin farklı konsantrasyonlardaki (250, 500, 750, 1000 µg/mL) serbest radikal giderme aktiviteleri BHT > *C.protothecoides* > *C.minutissima* > *C.vulgaris* > *Ulva lactuca* şeklinde ifade edilebilir. Makro ve mikroalg ekstraktlarının tümünde konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında artış gözlenmiştir. Standart madde ile karşılaştırıldığında makro ve mikroalg ekstraktları 250, 500, 750, 1000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda radikal giderme aktivitesi yönünden oldukça başarılı sonuçlar göstermiştir.

C.protothecoides mikroalg türünün saf yağı kullanılmasından ve *Chlorella protothecoides*'in %4.60 lutein, zeaksantin ve kantaksantin gibi antioksidan bileşikler içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Lutein ve astaksantin zeaksantin gibi antioksidan maddeleri bitki ve alglerde ışık toplayıcı pigmentler gibi işlev görürler ve antioksidan aktiviteye sahiptirler [21].

- *C.vulgaris* % 50-60 oranında proteinden oluşmaktadır [4]. Algal peptidler bakteriyel yayılmayı engelleyerek antibakteriyel özellik göstermektedir. Algal serbest yağ asitleri adenosin trifosfat enerji transferini engeller ve bakteriyel enoil-açıl taşıyıcı protein redüktaz gibi enzimleri inhibe eder ve daha sonra hücre lizisi ve peroksidasyonu ve oto-oksidasyon bozunma ürünleri meydana gelir [21]. Fenoller, hücre çeperlerini tahrip eden membran toksinleri olarak bilinirler. *C.vulgaris* fenolik bileşikler içerir. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi; mikrobiyal hücrenin geçirgenliğinin değiştirilmesi, iç makromoleküllerin kaybı, zar işlevi ve hücresel bütünlük kaybı ve hücrenin ölümü ile sonuçlanmasından kaynaklanır [51]. *C.vulgaris*'te bulunan terpen bileşiklerinin bakteriyel büyümeyi inhibe ederek antibakteriyel özellik gösterdiği tespit edilmiştir [21]. Ayrıca *C.vulgaris* içeriğindeki alkaloidler antibakteriyel aktivitesi olan bileşiklerdir (Çizelge 2.2).
- *C.minutissima* mikroalginin içeriğinde bulunan Eikosapentaenoik asit'in patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır [19]. *Chlorella minutissima* amino asitler ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir [31], *Chlorella minutissima*'daki peptidlerin amfipatik konformasyonu bakteriyel sitoplazmik zarı polar ve polar olmayan bölgelere bağlanmayı sağlar, bu şekilde hücresel süreçleri ve yayılmayı engeller [21]. *Chlorella minutissima* yüksek lipid içeriğine (% 57) sahiptir. Algal serbest yağ asitlerinin bakteriyel hücre zarlarında elektron taşıma zincirinin ve normal oksidatif fosforilasyonun inhibitörleri gibi davrandığı bildirilmiştir [21].
- *C.protothecoides*, lutein ve astaksantin zeaksantin gibi antioksidan maddeleri bitki ve alglerde ışık toplayıcı pigmentler gibi işlev görürler. Bunlar antioksidan aktiviteye sahiptirler, aynı zamanda bakterilere karşı da etkilidirler [21].
- *Ulva lactuca* antioksidan ve yaşlanma karşıtı vitaminleri olan A, C ve E vitaminlerini ve çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermektedir [35]. Algal serbest yağ asitlerinin antibakteriyel özellikler sergilediği bilinmektedir [21]. Bütün *Ulva* türleri fotosentez pigmenti (kloroplast) içerirler. Fotosentetik pigmenti olarak sadece klorofil a ve klorofil b ve az miktarda karotenoid bulunmaktadır [36]. Karotenlerin hücre içerisinde ışığı absorbe ederek hücreyi yoğun ışıktan korumaktadır. Karotenoid'in antimikrobiyal mekanizması; bakteriyel hücre duvarlarının sindirimine neden olan immün enzimi lyozime birikmesidir [51].

- Kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı durumlarda alglerin sahip olduğu güçlü antioksidan özellikten dolayı kanserin etkilerini azaltmakta ve yaşlanmayı geciktirmede makro ve mikroalg ekstraktları kullanılabilir.
- Dünyada her yıl yaklaşık 23 milyon kg fungusit sebze ve meyveler üzerine uygulanmaktadır. Sebze ve meyvelerin, yüksek oranda sentetik kimyasallarla muamele edilmesi sonucu, karsinogenik, teratojenik, yüksek akut toksijenik etkiler oluşmaktadır. Ayrıca bu kimyasallar çevre kirliliğine de yol açarak bereber gıdalar üzerinde olumsuz etkilere ve insanlar üzerinde yan etkilere neden olmaktadır. Bu gibi sebeplerden dolayı, alglerden elde edilen ve hiçbir yan etkisi bulunmayan fungusitlerin üretimine ve kullanımına başvurulmalıdır.
- Atık sular kullanılarak düşük maliyette üretilebilecek mikroalg türlerinden elde edilen ekstraktlar süs bitkilerin bakteriyel veya fungal mikroorganizmalara karşı korunmasında, ayrıca ekinlerin hastalıklara karşı korunmasında kullanılabilir.
- Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan dört farklı alg türü kullanılarak elde edilen ekstraktların test edilen bakteri ve fungal mikroorganizmalara karşı farklı derecelerde antimikrobiyal etkileri olduğu tespit edilmiş olup enfeksiyonların tedavisinde yardımcı olarak kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Baytaşoğlu, H. ve Başusta, N., (2014). “Deniz Canlılarının Tıp ve Eczacılık Alanlarında Kullanılması”. Yunus Araştırma Bülteni (2):71-80.
- [2] Brady, D., Letebele, B., Duncan, J.R. ve Rose, P.D., (1994). “Bioaccumulation of Metals by *Scenedesmus*, *Selenastrum* and *Chlorella* algae”, Department of Biochemistry and Microbiology, Rhodes University, PO Box 94, Grahamstown 6140. South Africa.
- [3] Göksan T., Durmaz Y. ve Gökpınar Ş., (2003). "Effects Of Light Path Lengths and Initial Culture Density On The Cultivation Of *Chaetoceros* *Muelleri*", *Aquaculture*, 217:431-436.
- [4] Bulut, Y., (2009). *Chlorella*’da (Chlorophyceae) Yağ Miktarını Arttırma Olanaklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [5] Koca, N. ve Karadeniz, F., (2002). “Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri”. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mühendisliği Dergisi.
- [6] Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y., (2006). “Algal Antioksidanlar”. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23 (1): 85-89.
- [7] Öz, Ş. G. ve Kılıçarslan, A., (2012). “Vitaminlerin Yaşamımızdaki Yeri Nedir, Ne Olmalıdır?”, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Dâhiliye Ünitesi, Ankara, İç Hastalıkları Dergisi, 19: 139-143.
- [8] Danielli M.M. Dantas, Romero M.P.B. Costa, Maria G. Carneiro-Da-Cunha, A. O. Galvez, A. R. Drummond ve Ranilson S. Bezerra, (2015). “Bioproduction, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Compounds from *Chlorella* *Vulgaris*”, *Journal of Botanical Sciences*, 2320-0189.
- [9] Eleftheriou A., Anagnostopoulou-Visilia E., Anastasopoulou E., Ates S.A., Bachari N.E.I. ve Cavas L., (2011). "New Mediterranean Biodiversity Records", *Mediterranean Marine Science*, 12:491-508.
- [10] Olfat M.A. Salem, Hoballah E.M., Safia M. Ghazi ve Suzy N. Hanna, (2014). “Antimicrobial Activity of Microalgal Extracts with Special Emphasize on *Nostoc* Sp.”, *Life Science Journal* 2014;11(12):752-758.

- [11] Demorais, M. G., Da Silva Vaz, B., Demorais, E. G. ve Vieira Costa, J. A., (2015). "Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae", Laboratory of Microbiology, BioMed Research International, 835761:15.
- [12] Vishnu, N. ve Sumathi, R., (2014). "Isolation of Fresh Water Microalgae *Chlorella Sp* and It's Antimicrobial Activity on Selected Pathogens", Department of Microbiology, Int.J.Adv. Res.Biol.Sci.2014; 1(3): 36-43.
- [13] Demiriz, T., (2008). Bazı Alglerin Antibakteriyal Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [14] Duan, E., (2013). Bazı Deniz Makroalglerinden (*Ulva Sp.*, *Cystoseira Sp.* ve *Corallina Sp.*) Fermente Sıvı Organik Gübre Üretimi ve Taze Fasülye (*Phaseolus Vulgaris*) Verimine Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- [15] Prashant, P., Angadi, S.B. ve Vidyasagar, G.M., (2006). "Antimicrobial Activity of Blue green and Green Algae", Department of PG studies and Research in Botany, Gulbarga University, Gulbarga, 68(5):647-648.
- [16] Moghimi Azar, E., (2013). Mikroalglerin Lipaz Üretim Potansiyelinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [17] Awad, N. E., (2000). "Biologically Active Steroid from the Green Alga *Ulva lactuca*", Pharmacognosy and Chemistry of Medicinal Plants Department, National Research Center, View issue TOC, 14(8):641-643.
- [18] Ak İ., Cirik S., Göksan T. ve Kuru E., (2012). "Effect Of Salinity On Growth Characteristics And Pigment Composition Of Two Strains Of *Dunaliella Viridis* Teodoresco: Laboratory And Outdoor Studies", Fresenius Environmental Bulletin, 21:337-342.
- [19] Demorais, M. G., Silvavaz, B. D., Morais, E. G. ve Vieira Costa, J. A., (2015). "Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae", Laboratory of Microbiology and Biochemistry, J. Nat. Prod., 75 (3): 311-335
- [20] Pérez, M. J., Falqué, E. ve Domínguez, H., (2016). "Antimicrobial Action of Compounds From Marine Seaweed", Mar. Drugs, 14, 52.
- [21] Shannon, E., ve Abu-Ghannam, N., (2016). "Antibacterial Derivatives of Marine Algae: an Overview of Pharmacological Mechanisms and Applications", Mar. Drugs, 14, 81.
- [22] Thomas, N. V. ve Kim, S.K., (2013). "Beneficial Effects of Marine Algal Compounds in Cosmeceuticals", Mar. Drugs, 11.
- [23] Priyadarshani, I., ve Rath, B., (2012). "Commercial and Industrial Applications of Micro Algae –A Review", J. Algal Biomass Utln., 3 (4): 89-100.
- [24] Ak İ., Öztashtent C., Özudoğru Y. ve Göksan T., (2015). "Effect of Sodium Acetate and Sodium Nitrate on Biochemical Composition of Green Algae *Ulva rigida*", Aquaculture International, 23:1-11.
- [25] Guadalupe-Miroslava Suarez-Jimenez, Armando Burgos-Hernandez ve Josafat-Marina Ezquerro-Brauer, (2012). "Bioactive Peptides and

- Depsipeptides with Anticancer Potential: Sources From Marine Animals- A Review”, Mar. Drugs, 10, 963-986.
- [26] Eom, S.H., Kim, Y.M. ve Kim, S.K., (2012). “Antimicrobial Effect Of Phlorotannins from Marine Brown Algae”, Food Chem. Toxicol. 50, 3251–3255.
- [27] Abou Zeid, A.H., Aboutabl, E.A., Sleem, A.A. ve El-Rafie, H.M., (2014). “Water Soluble Polysaccharides Extracted From Pterocladia Capillacea and Dictyopteris Membranacea and Their Biological Activities”, Carbohydrate Polym., 113, 62–66.
- [28] El Shafay, S.M., Ali, S.S. ve El-Sheekh, M.M., (2016). “Antimicrobial Activity of Some Seaweeds Species from Red Sea, Against Multidrug Resistant Bacteria”, Egypt. J. Aquat. Res., 42, 65–74.
- [29] Makridis, P., Costa, R.A. ve Dinis, M.T., (2006). “Microbial Conditions and Antimicrobial Activity in Cultures of Two Microalgae Species, *Tetraselmis chuii* and *Chlorella minutissima* and Effect on Bacterial Load of Enriched *Artemia metanauplii*”, Aquaculture. 255:76–81.
- [30] Aydın, S., (2012). Giresun İlinden Toplanan *Flavoparmelia Caperata* (L.) Hale (Parmeliaceae) ve *Rocella Phycopsis* Ach. (Roccellaceae) Likenlerinin Antibakteriyal ve Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun.
- [31] Uslu L., Işık O., Koç K. ve Göksan T., (2011). "The Effects of Nitrogen Deficiencies on the Lipid and Protein Contents of *Spirulina Platensis*", African Journal of Biotechnology, 10:386-389.
- [32] Singh, S. K., Bansal, A., Jha, M. K., ve Jain, R., (2013). “Production of Biodiesel from Wastewater Grown *Chlorella minutissima*, Department of Chemical Engineering”, Indian Journal of Chemical Technology, 20: 341-345
- [33] Xiaoyu, F., (2014). Biomass and Lipid Production of *Chlorella protothecoides* in Heterotrophic Cultivation on a Mixed Waste Substrate of Brewer Fermentation and Crude Glycerol, All Theses.
- [34] Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Uçmak H, Çelen MK, Hoşoğlu S ve Ayaz C., (2002). “Hastane Kaynaklı Gramnegatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Betalaktamazlar”, Enfeksiyon Derg, 16(2):175-8.
- [35] Haug A., (1976). “The Influence of Borate and Calcium on the Gel Formation of a Sulfated Polysaccharide from *Ulva lactuca*”, Organic Chemistry and Biochemistry, 30(6):562-566.
- [36] Kavuk, E. (2013). Bazı Deniz Makro alglerinden (*Ulva Sp.*, *Cystoseira Sp.*, *Corallina Sp.*) Süspanse Organik Gübre Üretimi ve Biyodeneyle Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun.
- [37] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. ve Jiang ,Y., (2007). “Evaluation of Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Different Fractions of Selected Microalgae”, Food Chem 102:771-6.

- [38] Juneja, A., Ceballos, R.M. ve Murthy, G.S., (2013). "Effects Of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production", *Energies*, 6(9): 4607-4638
- [39] Kaçka, A., (2010). *Dunaliella* Türlerinin Boya Giderim ve Biyomas Üretim Kapasitelerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [40] Babela, S., Takizawab, S. ve Ozakic, H., (2002). "Factors Affecting Seasonal Variation of Membrane Filtration Resistance Caused by *Chlorella* Algae", *Water Research*, Volume 36, Issue 5, March 2002, Pages 1193–1202.
- [41] Fernández, M. B., Tossi, V., Lamattina, L. ve Cassia, R., (2016). "A Comprehensive Phylogeny Reveals Functional Conservation of the UV-B Photoreceptor UVR8 from Green Algae to Higher Plants", *Plant Sci.*, 15 November 2016, 7 :1698.
- [42] Teitzel, G., (2016). "Microbial Endurance: In It for the Long Haul", *Trends in Microbiology*, 24(5):317–318.
- [43] Pratt, R., Daniels, T.C., Eiler, J.B., Gunnison ,J.B. ve Kumler, W.D., (1944). "*Chlorellin*, An Antibacterial Substance from *Chlorella*", *Science*. 99:351-352.
- [44] Göksan T., Ak İ. ve Kılıç C., (2011). "Growth Characteristics Of The Alga *Haematococcus Pluvialis* Flotow As Affected By Nitrogen Source, Vitamin, Light And Aeration", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11:377-383.
- [45] Kaplan, H., ve Hutkins, R. W., (2000). "Fermentation of Fructooligosaccharides by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria", *Appl. Environ. Microbiol*, 66(6): 2682-2684.
- [46] Sukatar, A., (2002). "Alg Kültür Yöntemleri", Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, İzmir
- [47] Baylan, O. ve Yılmaz, S., (2004). "İntestinal ve Ekstraintestinal İnfeksiyonların Bir Etkeni: *Aeromonas*", *Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türk Mikrobiyol Cem Derg* 34:262-272.
- [48] Ası, T., (1999). *Tablolarla Biyokimya Cilt II*, Ankara Nobel Tıp Kitapevleri.
- [49] Kumlay, A. M. ve Eryiğit, T., (2011). "Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler:Bitki Hormonları", *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Cilt: 1, Sayı: 2, Sayfa: 47-56.
- [50] Navid R. Moheimani, Mark P. Mchenry, Karne De Boer ve Parisa A. Bahri, (2015). "Biomass and Biofuels From Microalgae", *Advances in Engineering and Biology*, 3.Chapter. 978(3):319.
- [51] Kurhan, S., (2012). *Fulvik ve Humik Asidin Chlorella vulgaris ve Spirulina platensis* Gelisimine Etkisinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

- [52] El Yamany, K.N.M., (2008). Studies on Some Marine Macro Algae Isolated From Red Seashores (Quseir, Marsa Alam), Egypt. M.Sc. Thesis, Faculty of Science Beni-Suef University, Beni-Suef, Egypt.
- [53] Şen, C., (2011). *Hibiscus Sabdariffa* L. Bitkisinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
- [54] Köksal, F. ve Yaman, A., “Farklı Bir Bakteri Topluluğu Mikobakterilerde Hücre Duvarı Yapısı”, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- [55] Barbosa, J.P., B.G. Fleury, B.A.P. da Gama, V.L. Teixeira ve R.C. Pereira, (2007). “Natural products as antifoulants in the Brazilian brown alga *Dictyota paffii* (Phaeophyta, Dictyotales)”, Biochem. Syst. Ecol., 35: 549-553.
- [56] Boyraz, N. ve Özcan, M., (1997). “Bitki patojeni funguslara bazı yerli baharat ekstrat ve uçucu yağlarının antifungal etkileri”, Gıda, 22(6): 457-462.
- [57] Feng, W., Chen J., Zheng, X. ve Liu, Q., (2011). “Tyme Oil to Control *Alternaria alternata* in vitro and In vivo as Fumigant and Contact Treatments”, Food Control 22, 78-81.
- [58] Deans, S.G. ve Soboda K.P., (1990). “The Antimicrobial Properties of Marjoram (*Origanum majorana* L.) Volatile Oil”, Flavour Fragrance Journal, 187-190.
- [59] Yılmaz, A., (2012). Bazı Bitki Uçucu Yağlarının Hasat Sonrası Fungal Meyve Çürüklüğü Etmenlerine Karşı *In vitro* ve *In vivo* Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Konya.
- [60] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. ve Berset, C., (1995). “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity”, Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie - Food Science and Technology 28: 25-30.
- [61] Demirer, B. Ö., (2016). Investigation of Different Medium Additives For Microalgae Growth, Msc. Thesis, Yıldız Technical University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Istanbul.
- [62] Durmaz, Y., Duyar, H. A., Gökpınar, Ş., Öğretmen, Y. Ö. ve Bandarra, N., (2008). “*Ulva Spp.* (Sinop, Karadeniz) Türünün Yağ Asitleri, A-Tokoferol ve Toplam Pigment Miktarının Araştırılması”, Journal of Fisheries Science.com. 2(3): 350-356.
- [63] Albayrak, A., (2006). Ceviz Yaprakları Özütleri ve Juglonun Bazı Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- [64] Erdoğan, O., Çelik, A., Yıldız, Ş. ve Kökten, K., (2014). “Pamukta Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine Karşı Bazı Bitki Ekstrakt ve Uçucu Yağlarının Antifungal Etkisi”, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(3): 398-404.
- [65] Pirinç, P., (2014). Bazı Deniz Mikro alglerinin (*Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii*, *Chlorella sp.* ve *Dunaliella salina*) Kültüründe Işık ve Tuzluluk Konsantrasyonunun Büyüme ve Biyokimyasal Yapısına Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- [66] Najdenski, H. M., Gigova Liliana, G., Iliev Ivan, I., Pilarski Plamen, S., Jaromir, L., Tsvetkova Iva, V., Ninova Mariana, S. ve Kussovski Vesselin, K., (2013). "Antibacterial and Antifungal Activities of Selected Microalgae and Cyanobacteria", International Journal of Food Science and Technology, 48(7):1533–1540
- [67] Sanmukh, S., Bruno, B., Ramakrishnan, U., Khairnar, K., ve Swaminathan, S., (2014). "Bioactive Compounds Derived from Microalgae Showing Antimicrobial Activities", J Aquac Res Development 5:3.
- [68] Beena, B. N. ve Krishnika, A., (2011). "Antibacterial Activity of Freshwater Microalga (*Scenedesmus* sp.) Against Three Bacterial Strains", J. Bio sci. Res.,2:10.
- [69] Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. ve Thomas, J., (2014). "Antioxidant and Antibacterial Activity of Chaetomorpha Antennina Against Shrimp Pathogen *Vibrio parahaemolyticus*", Aquaculture 433: 50–61.
- [70] Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Gopinath, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. ve Thomas, J., (2015). "In vivo and In vitro Antimicrobial Activity of *Azadirachta Indica* (Lin) Against *Citrobacter Freundii* Isolated from Naturally Infected Tilapia (*Oreochromis mossambicus*)", Aquaculture 433:115–118.
- [71] Bazes, S., Silkina, A., Defer, D., Bernede-Bauduin, C., Quemener, E., Braud, J. P. ve Bourgougnon, N., (2006). "Active Substances from *Ceramium Botryocarpum* Used as Antifouling Products in Aquaculture", Aquaculture 433:111–128.
- [72] Bouhlal, R., Riadi, H. ve Bourgougnon, N., (2010). "Antiviral Activity of The Extracts of Rhodophyceae from Morocco", African Journal of Biotechnology, 9(46):7968-7975
- [73] Cox, S., Turley, G. H., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N. ve Jaiswal, A.K., (2014). "Antioxidant Potential and Antimicrobial Efficacy of Seaweed (*H.elongata*) Extract in Model Food Systems", Int. Food Res. J. 2010;17:205–220.
- [74] Krish, S. ve Das, A., (2014). "In-vitro Bioactivity of Marine Seaweed, *Cladophora rupestris*", Int. J. Pharm. Biol. Sci., 5:898–908.
- [75] Puech V. (2000). "Characterization of the In vivo Acceptors of The Mycoloyl Residues Transferred by The Corynebacterial PS1 and The Related Mycobacterial Antigens 85. ", Mol. Microbiol. 35 1026–1041.
- [76] Moorthi, P.V. ve Balasubramanian, C., (2015). "Antimicrobial Properties of Marine Seaweed, *Sargassum muticum* Against Human Pathogens", Journal of Coastal Life Medicine, 3(2): 122-125.
- [77] Cox, S., Abu-Ghannam, N. ve Gupta, S., (2010). "An Assessment of The Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species of Edible Irish Seaweeds", Int. Food Res. J. 2010;17:205–220.

- [78] Boisvert, C., Beaulieu, L., Bonnet, C. ve Pelletier, É., (2015). “Assessment of The Antioxidant and Antibacterial Activities of Three Species of Edible Seaweeds”, *J. Food Biochem*, 39:377–387
- [79] Wang, Y., Xu, Z., Bach, S. ve McAllister, T., (2009). “Sensitivity of *Escherichia coli* to Seaweed (*Ascophyllum nodosum*) Phlorotannins and Terrestrial tannins”, *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 10:2795–2816.
- [80] Lee, K.Y., Jeong, M.-R., Choi, S.M., Na, S.S. ve Cha, J.D., (2013). “Synergistic Effect Of Fucoidan with Antibiotics Against Oral Pathogenic Bacteria”, *Arch. Oral Biol.* 29:47–55.
- [81] Guzmán, Z. D., Macedo, O. K., Almaraz, D. A., Durán, F. N. ve Badillo, C. J., (2016). “Production of Recombinant Proteins in The Chloroplast of The Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*. In *Recombinant Proteins from Plants*”, *Methods Mol Biol.*, 1385:69-85.
- [82] Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Ryan W. Hunt ve Das, K.C., (2010). “Microalgae Cultivation in A Wastewater Dominated by Carpet Mill Effluents for Biofuel Applications”, *Bioresource Technology* 101: 3097–3105.
- [83] Chinnasamy, S., Ramakrishnan, B., Bhatnagar, A. ve Das, K.C., (2009). “Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under Elevated Levels of CO₂ and Temperature”, *Int. J. Mol. Sci.*, 10: 518-532.
- [84] Wang, L., M. Min, Y. Li, P. Chen, Y. Chen, Y. Liu, Y. Wang ve Ruan, R., (2010). “Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant”, *Appl. Biochem. and Biotechnol.*, 162: 1174-1186.
- [85] Kohanski, M. A., Dwyer, D. J. ve Collins, J. J., (2010). “How Antibiotics Kill Bacteria: from Targets to Networks”, *Nat Rev Microbiol.* 2010 Jun; 8(6): 423–435.
- [86] Singla, N., Kaistha, N., Gulati, N. ve Chander, J., (2010). “*Morganella morganii* Could Be An Important Intensive Care Unit Pathogen”, *Indian J Crit Care Med.* 2010 Jul-Sep; 14(3): 154–155.
- [87] Çiftçi, İ. H., Aşık, G., Çalışkan, K., Çetinkaya, Z. ve Aktepe, O. C., (2009). “Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları”, *ANKEM Derg*, 23(3):106-109.
- [88] Xu, H., Miao, X. ve Wu, Q., (2006). “High Quality Biodiesel Production from A Microalga *Chlorella protothecoides* by Heterotrophic Growth in Fermenters”, *Journal of Biotechnology*, 126(4): 499–507.
- [89] F. Castillo, D. Hernández, G. Gallegos, R. Rodríguez ve C. N. Aguilar (2012). “Antifungal Properties of Bioactive Compounds from Plants, Fungicides for Plant and Animal Diseases”, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.), ISBN: 978-953-307-804-5, InTech.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Meyrem VEHAPİ
Doğum Tarihi ve Yeri :08.10.1991 KOSOVA-Prizren
Yabancı Dili :İngilizce, Arnavutça, Boşnakça
E-posta :m_vehapi@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lise	Fen Lisesi	Gjon Buzuku	2010

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2014	ABİ (Süt ürünleri fabrikası)	Stajyer
2013	National Institut of Public Health of KS	Stajyer

YAYINLARI

Bildiri

1. Demirer, B. Ö., Özçimen, D., **Vehapi, M.**, Karakaş, C. Y., İnan, B., Akış, S., Koçer, A. T., & Şerbetçioğlu, B. (2014, Kasım). Effect of Different Growth Parameters on Cell Proliferation of *Chlorella vulgaris*. BIO ENG'14 Bioengineering Conference.
2. Özçimen, D., **Vehapi, M.**, Karakaş, C. Y., Demirer, B. Ö., İnan, B., Akış, S., Koçer, A. T., & Rehim, Z. (2014, Kasım). Investigation of Growth Kinetics of *Nannochloropsis*, *Isochrysis* and *Tetraselmis* sp. BIO ENG'14 Bioengineering Conference.

Proje

1. Makro ve Mikroalglerin Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkisinin İncelenmesi, YTÜ YULAP, 2016, No: 2016-07-04-YL13, Görevi: Araştırmacı