

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EGE DENİZİ KIYILARINDA BULUNAN BAZI MAKRO ALG
TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI**

DOKTORA TEZİ

Zerrin ÇAKI

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 04.05.2009

Tezin Savunulduğu Tarih : 18.05.2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Atakan SUKATAR (EÜ)
Doç. Dr. Güven ÖZDEMİR (EÜ)
Prof. Dr. Tuncer Katağan
Prof. Dr. Özdemir Egemen

MANİSA 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL LİSTESİ	V
TABLO LİSTESİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	IX
TEŞEKKÜR	X
TÜRKÇE ÖZET	XI
YABANCI DİLDE ÖZET (ABSTRACT)	XII
1.GİRİŞ	1
2.LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1. Bazı Makro Alglerin Antimikrobiyal Aktiviteleri	5
2.2. Bazı Makro Alglerin Antioksidan Aktiviteleri	12
2.3. Alglerin Ekonomik Önemi	14
2.4. Antimikrobiyal Maddeler Ve Önemi	15
2.5. Oksidan ve Antioksidan Maddeler.....	16
2.6. Oksidatif Stress ve Antioksidan Sistem	21
2.6.1. Antioksidan Enzim Sistemleri	21
2.6.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	21
2.6.1.2. Katalaz (CAT)	22
2.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX).....	23
2.6.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri	25
2.6.2.1. Lipit Peroksidasyonu	25
2.6.2.2. Lipid Peroksidasyonu Ölçümü için; HPLC Cihazı Ve Tekniği	27
2.6.2.3. Enzim Etkinliği Ölçümü için Spektrofotometrik Yöntem.....	28
2.7. Çalışılan Alglerin Taksonomisi ve Genel Özellikleri	29
2.7.1. Kahverengi Algler (Ochrophyta) Genel Özellikleri, Yayılış Alanları.....	31
2.7.1.1. <i>Cystoseira barbata</i> (Stackhouse) C. Agardh Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	32
2.7.1.2. <i>Sargassum acinarium</i> (Linnaeus) Setchell Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	33
2.7.1.3. <i>Cystoseira compressa</i> (Esper) Gerloff & Nizamuddin Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	34
2.7.1.4. <i>Padina pavonica</i> (Thivy) Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	35

2.7.2. Yeşil algler (Chlorophyta) Genel Özellikler, Yayılış Alanları.....	35
2.7.2.1. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Sınıflandırması ve Genel Özellikleri.....	36
2.7.2.2. <i>Enteromorpha linza</i> var. <i>lanceolata</i> (Linnaeus) J. Agardh Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	37
2.7.2.3. <i>Caulerpa racemosa</i> (Forsskål) J. Agardh Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	38
2.7.3. Kırmızı algler (Rhodophyta) Genel Özellikleri, Yayılış Alanları.....	38
2.7.3.1. <i>Jania longifurca</i> Zanardini Sınıflandırması ve Genel Özellikleri.....	39
2.7.3.2. <i>Laurencia obtusa</i> (Hudson) Lamouroux Sınıflandırması ve Genel Özellikleri	40
2.8. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	41
 3. ÖZDEK VE YÖNTEM	
3.1. Çalışmada Kullanılan Alg Örneklerinin Toplandığı İstasyonlar	46
3.1.1. Örneklem	52
3.1.2. Alet ve Ekipmanlar	52
3.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi için Ekstrelerin Hazırlanması.....	55
3.2.1. <i>Cystoseira compressa</i> (Esper) Gerloff & Nizamuddin Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	56
3.2.2. <i>Cystoseira barbata</i> (Stackhouse) C.Agardh Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	57
3.2.3. <i>Sargassum acinarium</i> (Linnaeus) Setchell Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	58
3.2.4. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	59
3.2.5. <i>Enteromorpha linza</i> var. <i>lanceolata</i> (Linnaeus) J. Agardh Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	60
3.2.6. <i>Jania longifurca</i> Zanardini Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması.....	60
3.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması	61
3.3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Aktivasyonu.....	61
3.3.2. Mac Farland Yöntemi ile Bakteri Yoğunluğunun Belirlenmesi.....	64
3.3.3. Kuyu - Difüzyon Tekniğine Göre Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması.....	66
3.3.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonun (MİK) Belirlenmesi.....	67
3.4. Antioksidan Aktivite İçin Kullanılan Alg Örnekleri ve Ekstrelerin Hazırlanması.....	69

3.4.1. Antioksidan Aktivitenin Saptanması için Ekstrelerin Hazırlanması ve Homojenizasyon.....	70
3.4.2. Glutasyon peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi (GPX).....	71
3.4.3. HPLC Yöntemi ile Malondialdehit Tayini (MDA).....	73
3.4.4. Örneklerin Toplam Protein İçeriğinin Saptanması (BCA Yöntemi).....	74
 4. BULGULAR	
4.1. <i>Cystoseira barbata</i> (Stackhouse) C.Agardh Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	76
4.2. <i>Sargassum acinarium</i> (Linnaeus) Setchell Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	77
4.3. <i>Cystoseira compressa</i> (Esper) Gerloff & Nizamuddin Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	78
4.4. <i>Enteromorpha linza</i> var. <i>lanceolata</i> (Linnaeus) J. Agardh Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	79
4.5. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	81
4.6. <i>Jania longifurca</i> Zanardini Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği.....	83
4.7. Glutasyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi Sonuçları.....	85
4.8. Malondialdehid Ölçümü Sonuçları	86
4.9. Toplam Protein Miktarı Ölçüm Sonuçları	88
 5. TARTIŞMA	91
6. ÖNERİLER.....	102
7. KAYNAKLAR.....	104
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.5.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşum şeması.....	19
Şekil 2.6.1.1. Süperoksit dismutaz molekülünün üç boyutlu görünümü.....	22
Şekil 2.6.1.2. Katalaz molekülünün üç boyutlu görünümü.....	22
Şekil 2.6.1.3. Glutasyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü.....	23
Şekil 2.6.1.4. Antioksidan metabolit glutasyonun üç boyutlu görüntüsü.....	24
Şekil 2.6.1.5. Antioksidan Enzim Sistemleri.....	24
Şekil 2.6.2.1. Lipid Peroksidasyonu Oluşum Basamakları.....	27
Şekil 2.6.2.3. Spektrofotometrede ışığın emilimi ve iletimi.....	29
Şekil 2.7. Özdek olarak seçilen türlerin alg gruplarına göre dağılımları.....	29
Şekil 2.7.1.1. <i>Cystoseira barbata</i> türünün genel görünümü.....	33
Şekil 2.7.1.2. <i>Sargassum acinarium</i> türünün genel görünümü.....	33
Şekil 2.7.1.3. <i>Cystoseira compressa</i> türünün genel görünümü.....	34
Şekil 2.7.1.4. <i>Padina pavonica</i> türünün genel görünümü.....	35
Şekil 2.7.2.1. <i>Codium fragile</i> türünün genel görünümü.....	37
Şekil 2.7.2.2. <i>Enteromorpha linza var lanceolata</i> türünün genel görünümü.....	37
Şekil 2.7.2.3. <i>Caulerpa racemosa var. cylindracea</i> türünün genel görünümü.....	38
Şekil 2.7.3.1. <i>Jania longifurca</i> türünün genel görünümü.....	40
Şekil 2.7.3.2. <i>Laurencia obtusa</i> türünün genel görünümü.....	41
Şekil 3.1. Cunda adası kıyı şeridi haritası.....	47
Şekil 3.2. Cunda adası örneklerin toplandığı kıyı şeridi.....	47
Şekil 3.3. Dikili kıyı şeridi haritası.....	48
Şekil 3.4. Dikili örneklerin toplandığı kıyı şeridi.....	48
Şekil 3.5. Çeşme kıyı şeridi haritası.....	49
Şekil 3.6. Çeşme örneklerin toplandığı kıyı şeridi.....	50
Şekil 3.7. Kuşadası kıyı şeridi Haritası.....	51
Şekil 3.8. Kuşadası örneklerin toplandığı kıyı şeridi.....	51
Şekil 3.1.2.1. Spektrofotometre Cihazı.....	54
Şekil 3.1.2.2. Soksile Cihazı.....	54
Şekil 3.1.2.3. Santrifüj.....	54
Şekil 3.1.2.4. Rotary evaporator	54
Şekil 3.1.2.4. HPLC Cihazı.....	54
Şekil 3.1.2.5. Biyogüvenlik Kabini.....	54

Şekil 3.2.1. Alg örneklerinin kurutulma işlemi (1) ve (2).....	56
Şekil 3.2.2. Alg örneklerinin toz haline getirilmesi.....	56
Şekil 3.3.1. <i>Escherichia coli</i>	62
Şekil 3.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	62
Şekil 3.3.3. <i>Bacillus cereus</i>	62
Şekil 3.3.4. <i>Bacillus subtilis</i>	62
Şekil 3.3.5. <i>Enterobacter cloacea</i>	63
Şekil 3.3.6. <i>Proteus vulgaris</i>	63
Şekil 3.3.7. <i>Salmonella typhimurium</i>	63
Şekil 3.3.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	63
Şekil 3.3.9. <i>Candida albicans</i>	63
Şekil 3.3.10. <i>Enterococcus faecalis</i>	63
Şekil 3.3.2.1. Mac farland standardı.....	65
Şekil 3.3.2.2. Mac Farland No:1 ve No:0,5 Standartları.....	65
Şekil 3.3.2.3. Mac Farland 0,5 'in karşılaştırılması.....	65
Şekil 3.3.3 Kuyu difüzyon Yöntemi.....	66
Şekil 3.3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi İçin İki Yöntem.....	68
Şekil 3.3.5. MİK Testi sonuçları (1)	68
Şekil 3.3.6. MİK Testi Sonuçları(2)	69
Şekil 3.4.1. Tampon çözelti ile homojenize edilmiş örnekler.....	70
Şekil 3.4.2. Kuru buz üzerinde homojenatlar.....	70
Şekil 3.4.3. Santrifüj edilecek örnekler.....	71
Şekil 3.4.4. Santrifüj sonrası kuru buz üzerinde örnekler.....	71
Şekil 3.4.4.1. BCA Protein Ekstraksiyon Kiti.....	74
Şekil 3.4.4.2. Spektrofotometrik ölçüm	75
Şekil 3.4.4.3. Mikroplaka sonuçları.....	75
Şekil 4.1.1. <i>C. barbata</i> Metanol(S) ekstresi, <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı.....	77
Şekil 4.2.1. <i>S. acinarium</i> Metanol(Ç) ekstresi, <i>Bacillus subtilis</i> 'e karşı.....	78
Şekil 4.2.2. <i>S. acinarium</i> Metanol(Ç) ekstresi, <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı,.....	78
Şekil 4.3.1. <i>C. compressa</i> Metanol(S) ekstresi, <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı,.....	79
Şekil 4.4.1. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(Ç) ekstresi <i>Bacillus subtilis</i> 'e karşı.....	80
Şekil 4.4.2. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(S) ekstresi, <i>Enterobacter cloacea</i> 'e karşı.....	80
Şekil 4.4.3. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(S) ekstresi <i>Bacillus subtilis</i> 'e karşı.....	81

Şekil 4.4.4. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(S) ektresi, <i>E.coli</i> 'ye karşı.....	81
Şekil 4.4.5. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(Ç-S), <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı.....	81
Şekil 4.4.6. <i>Codium fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i> Metanol(S) ektresi, <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı,.....	81
Şekil 4.5.1. Methanol (S) ektresi <i>Proteus vulgaris</i> 'e karşı.....	82
Şekil 4.5.2. Metanol(Ç) ektresi, <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı.....	82
Şekil 4.5.3. Metanol(Ç) ektresi, <i>Proteus vulgaris</i> 'e karşı.....	83
Şekil 4.6.1. Metanol(Ç) ektresi, <i>Bacillus subtilis</i> 'e karşı.....	84
Şekil 4.6.2. Metanol(S) ektresi, <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı,.....	84
Şekil 4.7. <i>P. pavonica</i> GPx spektrofotometrik Ölçüm Sonucu.....	86
Şekil 4.8. HPLC Cihazında Bileşenlerin Alıkonma Zamanları.....	88
Şekil 4.9. Toplam protein miktarının spektrofotometrede ölçüm sonuçları (1) ve (2).....	89
Şekil 4.10. Standart eğri grafiği.....	90

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.1. Alglerin antimikrobiyal aktiviteleri	8
Tablo 2.1.2. Dünyanın farklı bölgelerinden bazı denizel alglerin antimikrobiyal aktiviteleri.....	10
Tablo 2.1.3. Türkiye'den antimikrobiyal aktivite için rapor edilen çalışmalar ve türler.....	11
Tablo 2.5.1. Bitkilerde ROS oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması.....	18
Tablo 2.5.2. Doğal veya farmakolojik yapıdaki enzim, önleyici , süpürücü (zincir kıran) özellikte antioksidanlar.....	20
Tablo 2.7. Özdek olarak seçilen alg türleri ve örnekleme bölgeleri.....	30
Tablo 3.1.2. Kullanılan alet ve ekipmanlar.....	53
Tablo 3.3.2. Mac Farland Standart Tablosu.....	64
Tablo 3.4.4. Standartların (BSA) Hazırlanması.....	75
Tablo 4.1. <i>Cystoseira barbata</i> ekstrelerine ait inhibisyon zon çapları.....	76
Tablo 4.2. <i>Sargassum acinarium</i> ekstrelerinin inhibisyon zon çapları.....	78
Tablo 4.3. <i>Cystoseira compressa</i> ekstrelerinin inhibisyon zon çapları.....	79
Tablo 4.4. <i>Codium fragile</i> ekstrelerinin inhibisyon zon çapları.....	80
Tablo 4.5. <i>Enteromorpha linza</i> ekstrelerinin inhibisyon zon çapları.....	82
Tablo 4.6. <i>Jania longifurca</i> ekstrelerinin inhibisyon zon çapları.....	83
Tablo 4.7. Mikroorganizmaların standart antibiyotiğe karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (µg/disk).....	84
Tablo 4.8. Glutasyon peroksidaz aktivite sonuçları(U/L).....	85
Tablo 4.9. Malondialdehid ölçümü sonuçları.....	87
Tablo 4.10. HPLC cihazında tanımlanan MDA Kalibrasyon eğrisi.....	87
Tablo 4.11. Protein miktarı (mg/ml) Sonuçları.....	88
Tablo 4.12. Malondialdehid miktarının protein miktarına oranını gösteren sonuçlar...	90

KISALTMALAR LİSTESİ

GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
MDA	: Malondialdehid
HPLC	: High Performance Liquid Chromotography
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (İndirgenmiş)
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid (İndirgenmiş)
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
OH	: Hidroksil radikali
MRSA	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	: Vankomisine dirençli Enterococcus
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
α-TO	: α- tokoferol
K₂HPO₄	: dipotasyum fosfat
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TEP	: 1,1,3,3 tetraethoxy propane

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde bilimsel bakış açısı, bilgi ve tecrübesi ile beni yönlendiren hocam, tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK' e,

Çalışmamın her aşamasında beni destekleyen, değerli bilgilerinden yararlandığım Tez İzleme Komitesi Üyeleri'ne,

Teknik olarak laboratuvar koşullarından faydalandığım Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ARLAB Merkezi sorumlusu Doç. Dr. Halil Resmi'ye ve çalışanlarına (Memduh abi ve Ebru'ya) ,

Yöntem konusunda tartıştığımız, fikirleri ve önerileri ile bu çalışma ve yaptığımız ek çalışmalarda bana yardımcı olan İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarı sorumlusu Doç. Dr. Oğuz Bayraktar ve Dane'ye,

Yaşam boyu sevgi ve güvenini hissettiğim, her zaman yanımda olan aileme,

Tezimin yazım aşamasında minik kalbi ile yanımda olan oğluma ve yaşamı her anı ile paylaştığım, en büyük desteğim eşime,

Sonsuz teşekkürler,

Bilime katkı sağlaması dileğiyle...

"Ege Denizi Kıyılarında Bulunan Bazı Makro Alg Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Saptanması "

Hazırlayan: Zerrin ÇAKI

Danışman : Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

ÖZET:

Bu çalışmada; birinci bölümünde, Ayvalık, Çandarlı, Çeşme ve Kuşadası bölgelerinden toplanan 6 farklı makro alg türünün (*Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Sargassum acinarium*, *Codium fragile subsp. tomentosoides*, *Enteromorpha linza var. lanceolata*, *Jania longifurca*.) antimikrobiyal (antibakteriyal ve antifungal) aktiviteleri incelenmiştir. İki farklı ekstraksiyon yöntemine göre kloroform ve metanol çözümleri kullanılarak elde edilen ekstraktlar, kuyu-difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etki yönünden incelenmiştir. İnhibisyon etki, 10 farklı test mikroorganizmasına karşı saptanmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Salmonella typhimurium* CCM 583, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047D, *Escherichia coli* , *Candida albicans* ATCC 10231, *Proteus vulgaris* ATCC 6897 'dir. Her bir ekstraktın verim hesabı yapılarak, uygun dilüsyonlardan sonra test mikroorganizmalarına karşı denenmiş ve inhibisyon etkisi zon çapları olarak ölçülmüştür. Sonuçlarda tüm alg türlerinin bazı ekstraktlarında belirgin inhibisyon zonları elde edilmiştir, en yüksek inhibisyon etki ise *Codium fragile* ve *Enteromorpha linza* türlerinde gözlenmiştir. Bu türlerde antimikrobiyal etki daha çok *Bacillus* türleri, *E.coli*, ve *Enterococcus faecalis*'e karşı gözlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde, yine aynı bölgelerden toplanan 6 makro alg türü (*Padina pavonica*, *Sargassum acinarium*, *Cystoseira barbata*, *Jania longifurca*, *Caulerpa racemosa* , *Laurencia obtusa*) antioksidan etkinliği yönünden incelenmiştir. Antioksidan kapasite spektrofotometrik olarak ve HPLC cihazının kullanılması ile kromatografik olarak ölçülmüştür. Antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi, canlı sistemlerde reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan hasar etkilerinin giderilmesinde önemli roller oynamaktadır. Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi ve hücre membran hasarının göstergesi olan lipid peroksidasyon (LPO) düzeyleri, alg türlerinde ölçülmüştür. Lipid peroksidasyon düzeylerinde anlamlı korelasyon saptanması için, örneklerin toplam protein içeriği de spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. GSH-Px etkinliği bakımından en yüksek düzey *Padina pavonica* (13,775 U/L) türünde elde edilirken, en yüksek lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) değeri ise *Sargassum acinarium* (2,228 mmol/mgr) türünden elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deniz algleri, antimikrobiyal etki, antioksidan etki, kuyu-difüzyon yöntemi, HPLC tekniği, spektrofotometrik yöntem, enzim aktivitesi, glutatyon peroksidaz, malondialdehid

" Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Macro Algae from Aegean Sea"

Prepared by Zerrin ÇAKI

Ph.D Thesis, Department of Biology, Celal Bayar University

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

ABSTRACT:

In the first part of this study, six different macro algae species (*Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Sargassum acinarium*, *Codium fragile tomentosoides*, *Enteromorpha linza*, *Jania longifurca*,) were investigated for their antimicrobial (antibacterial and antifungal) activity. Two different extraction method were used for chloroform and methanol extraction and then well diffusion method was used for measure the activity inhibition zones. The microorganisms that were used are; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Salmonella typhimurium* CCM 583, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047D, *Escherichia coli* , *Candida albicans* ATCC 10231, *Proteus vulgaris* ATCC 6897. *Codium fragile* and *Enteromorpha linza* extracts showed the highest inhibitory effect on some strains.

Second part of this study, six different macro algae species (*Padina pavonica*, *Sargassum acinarium*, *Cystoseira barbata* , *Jania longifurca*, *Caulerpa racemosa*, *Laurencia obtusa*) which were collected from the Aegean Sea were investigated for their antioxidant activity. Antioxidant enzyme glutathione peroxidase (GPx), in vivo play important roles for removal of damaging effects caused by reactive oxygen species in living organisms. The activity of this enzyme and lipid peroxidation (LPO) levels of as a membrane damage marker were investigated in these algae. Tests are performed by two methods; spectrophotometrically and high pure liquid chromatography technique. The total protein contents of the algal samples were measured by BCA method. Highest antioxidant activity according to GPX was measured from *Padina pavonica* (13,775 U/L), it was followed by *Sargassum acinarium*, *Jania longifurca*, *Caulerpa racemosa*, *Laurencia obtusa* and *Cystoseira barbata*. While highest protein content was measured in *L. obtusa*, the lowest protein was measured in *S. acinarum*. As the results of MDA/protein (mg) contents were compared, *S. acinarum* had the highest activity.

Key words: Seaweed, antimicrobial activity, antioxidant activity, well-diffusion method, HPLC method, spectrophotometric method, enzyme activity, glutathione peroxidase, malondialdehyde

1.GİRİŞ

Birçok hastalığa iyi gelebilen doğal aktif maddelerin insanlıktan önce var olduğu düşünülürse, bu konudaki bilimsel sürecin de ne kadar eskiye dayandığı tahmin edilebilir. Bu konudaki çalışmaları kapsayan tıp tarihini bilimsel süreç içerisinde değerlendirirken bundan önceki dönem yani deney öncesi dönemi de deneme – yanılma, kısaca deneyim dönemi olarak nitelendirebiliriz. İnsanların ilk duyarlılıkları ve vücutsal tepkileri ağrılarla başlamıştır, böylece dikkatler bu yönde yoğunlaşmıştır.

Deney öncesi dönemde bilim; dinin, büyülerin ve geleneklerin egemenliğinde, hastalıkların kötü ruhlardan ileri geldiğine ve kötü ruhların bedenden dinsel törenlerle kovularak hastalıkların iyileşebileceğine inanılan bir dönemi kapsamaktadır. Bu nedendir ki, hekimlerin ilk öncüleri dini liderler ya da büyücülerdir.

Deneysel dönem ise, 1789 Fransız Devrimi ile ivme kazanmıştır ve sorgulayıcı, akılcı pozitivist yaklaşımların hızla başladığı dönemi kapsamaktadır. Ancak bu dönemde hekimler klinik tanı ve gözlemde başarılı olurken, tedavide yetersiz kalmışlardır ve farmakolojiye olan ilgi artmış, iyileştirmeye yönelik çalışmalara başlanmıştır. Farmakolojik yaklaşımla süregelen bilimsel süreçte sentetik maddelerle uğraşmak yerine, doğal bitkisel kaynakların içeriği ve etki mekanizması anlaşılmaya çalışılmıştır. Kimyadaki gelişmeler de bitkilerdeki aktif maddelerin içeriğinin anlaşılmasında oldukça yarar sağlamıştır. Friedrich Wilhelm Sertürner 1805 yılında afyondan morfini ayırmış ve bunu diğerleri izlemiştir, izleyen çalışmalarla da bitki ekstraktlarının büyü ya da yaşam güçlerini simgeleyen maddeler olmadığı, yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerden asıl sorumlu maddeler olduğu anlaşılmıştır. 20. Yüzyılın başlarında sentetik kimyanın başlangıcı ve yeni araştırmalar ile farmasotik endüstri ve sentetik ajanlar gündeme gelmiştir, 1909' da Paul Ehrlich'in sifilize etkili ilk arsenik sentetik bileşikler bulması ile antimikrobiyal kemoterapinin önü açılmıştır. Antimikrobiyal kemoterapinin modern çağı 1936'da sülfonamid'in klinikte kullanılmasıyla başlamıştır. Antibiyotiklerin altın çağı ise, 1941 yılında Penisilinlerin klinik denemeler için kısıtlı miktarda üretimi ile başlamıştır ve günümüzde hastanede yatan hastaların yaklaşık %30'una antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır ve milyonlarca kişinin ölümcül olabilen hastalıkları iyileştirilmiştir. Ancak bu ajanlar aynı zamanda hekimlerin çoğunlukla yanlış kullandıkları ve yaygın kullanımları nedeni ile de antibiyotiklere dirençli patojenlerin gelişimi ile sonuçlanmıştır. Bu durum yeni antibiyotiklere gereksinimi arttırmıştır.

Antibiyotikler, bakteri veya mantarlardan sentez edilen, diğer mikroorganizmaların gelişimini engelleyen bileşiklerdir, son yıllarda antibiyotik terimi içerisine mikroorganizma ürünü olmayan sentetik antimikrobik maddeler de eklenmiştir. Bakteriyal, viral, fungal replikasyon

mekanizmalarının moleküler düzeyde aydınlatılması ile bu mikroorganizmaların yaşam döngülerini bozabilecek yeni maddeler üzerinde sürekli çalışılmaktadır. Ancak bu çalışmalar sürekli ek maliyetler getirmekte ve ekonomik boyutu düşünüldüğünde tedavi giderlerinde hızlı bir artış izlenmektedir.

Bir enfeksiyonun tedavisinde önemli olan, enfeksiyonu inhibe edecek miktarda antibiyotiğin hedef bölgeye bağlanmasıdır. Eğer konakçının savunma sisteminin etkinliği oldukça yüksek düzeyde ise, bu durumda mikrobiyal protein sentezini yavaşlatabilen veya hücre bölünmesini engelleyen inhibitör bir maddenin bakteriyostatik etkisinin ortaya çıkarılabilmesi gerekmektedir. Eğer konakçı savunma sistemi iyi çalışmıyorsa tam etkili öldürmeyi temel alan bakterisid etki oluşturulabilir. Antimikrobik bir ajanın kullanımında önemli olan, insanda toksik etki oluşturmayacak konsantrasyon ile, mikroorganizma gelişimini engelleyen madde konsantrasyonunu doğru belirlemek ve bu doğrultuda düzgün ilaç kullanımını sağlayabilmektir. Bir enfeksiyonun tedavisinde seçilecek doğru antimikrobiyal ajana karar verebilmek, farmakolojik ve mikrobiyolojik faktörler hakkında ayrıntılı bilgiye ve analiz gücüne sahip olmayı gerektirmektedir. Antimikrobik ajanların kullanımına karar verilmesinden sonra, klinik tablo da dikkate alınarak birçok test yapılması öngörülebilir. Bu testler arasında sıklıkla kullanılan, antimikrobiyal ajanlara karşı mikrobiyal duyarlılık testidir. Bu testler disk-difüzyon testi ve agar dilüsyon testlerini kapsamaktadırlar. Disk difüzyon testi basit ve ucuz bir yöntemdir, belirli bir mikroorganizmaya karşı gösterilen antimikrobiyal duyarlılığın nitel ve yarı nicel olarak ölçülmesine olanak verir. Antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi istenen maddeler belirli miktarlarda önceden mikroorganizma emdirilmiş steril plakalar üzerine inokule edilerek, 18-24 saatlik inkübasyon sonrası disklerin veya mikro kuyucukların etrafındaki temiz inhibisyon bölgesinin ölçülmesi ile belirlenebilmektedir. Bununla birlikte 18-24 saatlik inkübasyon süresi içinde bakteriyal gelişimi belirgin düzeyde inhibe eden en düşük madde konsantrasyonu da 'minimum inhibitör konsantrasyon' olarak tanımlanmaktadır.

Antimikrobiklere dirençli suşların ortaya çıkması, sentetik kaynaklı ilaçlarda görülen yan etkilerin çok olması, antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı ve ekonomik boyutu düşünüldüğünde, bu durum bilimi doğal hammadde arayışına yönlendirmiştir. Doğal hammadde arayışı ile ilgili araştırmalar en çok bitkiler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bitkilerin bağışıklık sistemi olmadığı halde doğada bulunan diğer organizmaların zararlı etkilerine karşı direnç göstermeleri ve bir savunma mekanizması oluşturmaları oldukça ilginçtir, örneğin 2004 yılında çay ve antibiyotiklerin ortak antimikrobiyal etkisi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Çay yapraklarından elde edilen özütler, inhibe edici antibiyotik etkisi için kullanılan miktarın altındaki dozda antibiyotik ve elde edilen özütlerin belli miktarının karıştırılması ile belli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak, mikroorganizma gelişimini engelleyen konsantrasyonlara

bakıldığında, yeşil çay ekstralarının, siyah çaya göre daha düşük konsantrasyonda etki gösterdiği saptanmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu saptanan ekstraktın gentamisin gibi bazı antibiyotiklerle birlikte ortak etkisi *Shigella dysenteriae*'ye karşı denenmiş ve antibiyotik etkinin arttığı gözlenmiştir. Diğer mikroorganizmalara karşı da benzer sonuçlar elde edilmiş ve özellikle enteropatojenlere karşı ilaç dirençliliği problemine karşı etkin olabileceği sonucuna varılmıştır (Tiwari ve ark., 2005). Bitki ekstrallerinden olduğu gibi alg türlerinin birçoğu da antibiyotik etkinliği yönünden incelenmiştir. Alglerin geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanıma sahip olmaları (Fitton, 2006), bunun yanı sıra bazı deniz alglerinden bakteriyostatik ve bakterisidal aktiviteye sahip bileşenlerin belirlenmiş olması gibi nedenlerden dolayı dünyanın birçok bölgesinde algler üzerinde antimikrobiyal yönden farmakolojik olarak çalışmalar yapılmaktadır (Hornsey ve Hide ,1985; Ehresmann ve ark,1997; Vlachos ve ark.,1999; Özdemir ve ark, 2006; Karabay-Yavaşoğlu ve ark, 2007).

Yüzümüzü hangi yana çevirsek, bir canlı türünü, yaşamını sürdürebilmek için çok yoğun şekilde uğraşırken bulabiliriz. Bir avuç toprakta veya suda, her yükseklikte ve derinlikte, sıcak su kaynaklarında, okyanusta veya havada, kupkuru çölde veya muson ormanlarında; evrim akla gelebilecek her canlı türüne bir yer bulmuş görünür. Duyularımızla beraber yemek, içmek, üremek, sevmek, korumak ve daha birçok biçimsel ve algısal özelliklerimiz evrimin hizmetindedir. Değişme ve doğal seçim varolma çabamızı açıklayabilir mi? Herşeyin nasıl geliştiğini ayrıntılı olarak tümüyle bilemesek te, prensip olarak değişme ve doğal seçim arasında ki karşılıklı etkileşimin sürekli genişleyen ve büyüyen bir karmaşıklığa yol açabileceğini görebiliriz. Fiziğin temel kurallarından olan tüm sistemler düzensizlik yönünde doğal bir eğilime sahiptir görüşü de bu prensibe dayanmaktadır. Eğer düzensizlik yönünde ki eğilimi arttırmak için enerji harcanmazsa, maddenin daha fazla düzenlilik gösterme olasılığı azalır ve düzensizliğe karşı koyamaz. Bu nedenle, bir hücrede yaşamın sürmesini sağlayan tepkimelerin olması için her evrede enerjiye gereksinim vardır. Aerobik canlılar, yaşamsal açıdan gerekli kimyasal ve ısı enerjisini sağlayabilmek amacıyla, karbon ve hidrojen atomlarınca zengin molekülleri oksitlemek için oksijen molekülünü kullanırlar. Eğer bir madde atomun geri kalanı ile birlikte ya da onsuz, elektronlarını kendisinden daha elektronegatif(genellikle oksijen) bir maddeye kaptırsa oksitlenir ve oksidasyon sonucunda enerji kaçınılmaz olarak serbest kalır (Keeton ve Gould, 1999). Oksijenin kullanımı sırasında toksik etki gösteren bazı ara bileşikler meydana gelebilir. Özellikle hücresel düzeyde toksik etki gösterirler. Bunlara genel olarak reaktif oksijen türleri denir. Reaktif oksijen formlarının üretimi bitki metabolizması içinde önemli bir yere sahiptir (Hippeli ve ark. ,1999) . Fotosentetik canlılar içerisinde yaranma veya anormal sıcaklık gibi çevresel faktörler, reaktif oksijen türlerinin [örneğin, superoksid radikal anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)] artan üretimi ile oksidatif stres yaratırlar (Asada, 1999; Apel & Hirt, 2004). Artan oksidatif stres, antioksidan sistem ile ilgilidir. Antioksidan

sistem, oluşan serbest radikallere karşı etki göstererek bunların zarar vermesini önler. Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki grupta toplanabilir. Doğal antioksidanlar arasında enzimler (superoksit dismutaz-SOD, katalaz-CAT, glutation peroksidaz - GPx, glutation redüktaz, sitokrom-C-oksidaz, hidroksiperoksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, myogloblin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β -karoten, A-vitamiini, C-vitamiini, E-vitamiini, tokoferoller, thiol içerenler, glutation (GSH), N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiguinon) sayılabilir (Hilmi,1994). Oksidatif strese karşı antioksidan maddelerin tespit edilmesi doğal kaynaklarımızdan olan alg türlerinin oksidatif modifikasyona bağlı birçok hastalığın tedavisinde kullanılabileceklerini düşündürmektedir.

Çalışma konumuzu oluşturan deniz alglerinde antimikrobiyal ve antioksidan etkilerin incelenerek, diğer biyolojik proseslerle ilişkilendirip farmakolojik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Makroalglerin dünyadaki yaygın kullanımı düşünüldüğünde, ekonomik boyutu oldukça büyük bir endüstri olduğu görülmektedir. Alglerin endüstriyel kullanımları, besin olarak kullanılmaları ve diğer yaygın kullanım alanlarının yanında son 40 yıldır sekonder metabolitlerinin etkilerinin incelenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu alışmalar biyolojik olarak etken maddenin tespitine yönelik olarak, alglerin antimikrobiyal, antiviral, antifungal zelikleri (Baslow,1969), sitotoksik anti tümoral etkileri (Gonzalez ve ark.,1982; El-Masry ve ark.,2005) ve antioksidan (Lim ve ark., 1998) etkileri üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Bilimsel alanda, gözlemlerimizi, fikir ve bilgi birikimlerimizi deneysel bir düzleme oturtarak, evrensel olarak kanıtlanabilir ufak ama sağlam bilgi parçaları oluşturmaya çalıştık. Doğaya doğrudan ve açıkça yöneltilen sorulardan, herkesçe kabul edilebilen yalın sonuçlar elde etmek mümkündür ve bizler de doğaya sorular sorduk, denizlerden bilgi aldık, deneyler yaptık; çalışmamızın ileride yapılacak çalışmalara yön vermesini, doğada bütün canlılar için yaşamı daha iyi yapma abasinda olan tüm araştırmacılar için kaynak olmasını diliyoruz.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Bazı Makro Alglerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Tarih boyunca insanlar ile hastalıklara sebep olan çok sayıda mikroorganizma arasında sürekli bir savaş olmuştur. Veba, tüberküloz, sıtma ve son zamanlarda HIV/AIDS hastalıkları insan topluluklarında çok sayıda kişiyi etkileyerek, hastalık ve ölümlere sebep olmuştur. 20. yy ortalarında antibakteriyel ilaçlarla ilgili gelişmeler ve infeksiyon kontrolünde yardımcı olan diğer araçların katkısı ile bu savaş insanların lehine dönmüştür. Bakteriyel infeksiyonlar açısından 1940'ların başlarında penisilinin bulunması durumu düzeltmiştir. Ancak bu iyi hal durumu kısa süreli olmuştur. Antibakteriyel ajanların yaygın kullanılmaya başlanmasından hemen sonra bakteri çeşitli direnç formları ile karşılık vermiştir. Antimikrobiyallerin kullanımı artıkça bakteriyel patojenler tarafından ortaya konan direnç mekanizmaları daha da artmış ve karmaşık bir hal almıştır. Bununla birlikte insanların infeksiyonlara karşı üstün gelme çabası bu güne kadar devam etmiştir (Kuyucu, 2007).

Günümüzde sentetik antimikrobiyal maddeleri tanımlama ve geliştirme aşamalarının yüksek maliyetler gerektirmesi ve zamanın verimli kullanımı gerekliliğinden, çalışmalar doğal aktif bileşenleri bulma ve geliştirme alanına doğru yön değiştirmiştir. Eğer antimikrobiyal maddeler doğal kaynaklardan elde edilirse, sentetik maddelerin neden olduğu yan etkilerinin de ortadan kalkacağı ve bazı antibiyotiklere karşı direnç oluşturmuş türler için de alternatif olabilecekleri düşünülmektedir. MRSA ve vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE) türleri insan sağlığını ciddi anlamda tehdit eden çoklu direnç gösteren türlerdir (Lampinen,2005). Halen günümüzde bu türler için yeni antibiyotikler aranmaktadır ancak son birkaç yıldır yeni antibiyotiklerin bulunuşu oldukça azalmıştır (Wise, 1998). 1980 sonrası, antibiyotik madde arayan birçok kurum finansal zorluklar nedeni ile çalışmalarını sonlandırmışlardır ve sadece bu konuda önemli araştırmalar devam etmiştir. Sonuca bakılırsa bakteriler ile yapılan savaşta bakteriler hiçbir zaman teslim olmamışlardır ancak ilaç firmaları ve yapılan araştırmalar onları bir şekilde teslim almıştır (Varaldo, 2002).

Antimikrobiyal madde arayışında ki çalışmalar doğal kaynaklardan hammadde arayışına yönelmiştir. Algler üzerine de dünyada birçok çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, alglerin antimikrobiyal etkinliği, bu aktiviteyi etkileyebilecek çevresel etmenler; mevsimsel değişkenler, sıcaklık, ısı, madde yapısı gibi ve içsel etmenler birçok çalışmada araştırılmıştır ve halen daha bu konuda yapılan çalışmalar devam etmektedir.

Hornsey ve Hide tarafından 1974 yılında yapılan bir çalışmada test organizması olarak kullanılan 5 bakteri türüne karşı, Britanya 'da belirli bir bölgeden toplanan 151 alg türü antibakteriyal madde üretimleri yönünden incelenmişlerdir. Bunlardan *Asparagopsis armata*, *Bonnemaisonia asparagoides*, *Bonnemaisonia hamifera*, *Chondrus crispus*, *Dilsea carnosa*, *Gloiosiphonia capillaris*, *Sphondylothamnion multifidum*, *Desmarestia aculata*, *Desmarestia ligulata*, *Laminaria digitata*, *Dictyopteris membranacea*, *Dictyota dichotoma*, *Halidrys siliquosa* ve *Rhodomelaceae* familyasının birçok üyesinin antibakteriyal özelliklerinin öne çıktığı gözlenmiştir. Antibiyotik üretimi birçok familya için karakteristik olsa da, antibiyotik üretimi ve taksonomi arasında çok fazla bağlantı saptamak mümkün değildir ve sonuçlar göstermiştir ki, alg tarafından üretilen antibiyotik miktarı mevsimlerden etkilenmektedir (Hornsey ve Hide, 1974). Birçok algin denizden çıkarıldıktan sonra enzimatik bozunmaya uğradığı bilinmektedir (Haas,1935) ve bundan dolayı taze iken inceleme yapılır. Tallustan disk örnekleri, antibakteriyal aktivite için ölçüldüğünde inhibisyon zonlarının ölçüsü açıkça gözlenmiştir (Hornsey ve Hide,1974). Sonuçlar *Chlorophyceae*, *Phaeophyceae* ve *Rhodophyceae* sınıfları içindeki genoslarda antibakteriyal aktivite olduğunu göstermiştir. Tek bir sınıf içerisindeki örneklemelerde bir tür aktif iken, diğer bir tür inaktif olabilmektedir. Örneğin *Chondrus crispus* aktif, *Gigartina stellata* inaktif ve *Laminaria digitata* aktif, *Laminaria hyperborea* inaktif bulunmuştur. Şu anda bunun herhangi bir açıklaması bulunamamıştır. Yıl boyunca toplanıp çalışılan algler, bu çalışma sonucunda üç kategoriye ayrılmışlardır. (a) yıl boyunca değişmeyen aktivite gösterenler (ör: *Polysiphonia lanosa*), (b) İnaktivitenin yüksek olduğu dönem (ör: *Laminaria saccharina*), (c) yılın belli bir periyodunda yüksek aktivite gösterenler (ör: *Laminaria digitata*). Birçok alg ilkbaharda belirli aktivite göstermiştir ve bu durum onların maksimum gelişim periyodu ile ilişkilendirilebilir (Hornsey ve Hide, 1974).

Kahverengi alg, *Cytoseira tamariscifolia* ekstraktının; hegzan, etil eter ve diklorometan fraksiyonları ilginç antimikrobiyal aktiviteler ve sitotoksiste göstermiştir (Abourriche,1999). *Cytoseira* türünden kahverengi algler, enzim inhibitörleri, hücre bölünme inhibitörleri, antibakteriyal ve antitümoral bileşenler içerirler (Faulkner, 1984).

Hindistan'ın kuzeybatı bölgesinden toplanan beş farklı deniz algı; *Caulerpa taxifolia*, *Chaetomorpha antennina*, *Cladophora fascicularis*, *Ulva lactuca* ve *Gracilaria corticata* beş bakteri ve üç mantar türüne karşı antimikrobiyal aktiviteleri yönünden incelenmiştir. *Caulerpa taxifolia*, *Chaetomorpha antennina* ve *Garcilaria corticata*; *Bacillus subtilis* ve maya *Candida albicans*'a karşı önemli inhibisyon göstermiştir, bunun yanında *Chaetomorpha antennina* farklı mevsimlerde antimikrobiyal etki yönünden önemli farklılıklar göstermiştir (Crasta ve ark.,1997).

İspanya Kanarya adalarından toplanan 44 makroalg türü, antibakteriyal ve antifungal madde üretimleri yönünden, Gram (-) ve Gram (+) bakteriler, mikobakteriler, maya ve küflere karşı test edilmiştir. Toplam 28 tür antibakteriyal aktivite gösterirken, 6 tür antifungal aktivite göstermiştir (Gonzales del Val., ve ark.,2001). Tür sayısındaki çeşitliliği göstermek amacı ile sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. Ectocarpales ordosu hariç olmak üzere türlerin çoğu *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* mikroorganizmalarına karşı yüksek aktivite göstermiştir. *Asparogopsis taxiformis* alg türü hariç, diğer türlerin tümünün, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia mercenscens* mikroorganizmalarına karşı inaktif oldukları saptanmıştır. Alg türlerinin büyük çoğunluğu *Aspergillus fumigatus* türüne karşı belirgin bir aktivite göstermemiştir. Gonzales del Val. ve ark.'nın 2001 yılında yaptıkları çalışmaya ait sonuçlar Tablo 2.1.1.'de gösterilmiştir.

Kırmızı alg türü *Laurencia majuscula*'nın halojenli metabolitlerinin antibakteriyal aktivitesi araştırılmıştır. *Laurencia*'nın (*Rhodomelacea*) ikincil halojenlenmiş kimyasallarla ilgili büyük çapta üretim yaptığı bilinmektedir. *Laurencia* ile yapılan bu araştırma; ekstraksiyon, izolasyon, yapıyı aydınlatma ve *Laurencia majuscula*'nın ikincil metabolitlerinin antibakteriyal aktivitesini kapsamaktadır. Asıl iki bileşen elatol ve izo-obtusol izole edilmiştir. Antibakteriyal aktivite disk-difüzyon metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elatol test edilen yaygın antibiyotiklerle karşılaştırıldığında eşit veya daha fazla antibakteriyal aktivite gösterirken, iso-obtusol; *Klebsiella pneumonia* ve *Salmonella sp.*'ye karşı yaygın antibiyotiklere eşit etki göstermiştir. Her iki bileşenin minimum inhibisyon konsantrasyonunun antibiyotikler kadar önemli olmadığı gösterilmiştir. Bakteriostatik etkiler gözlenmiş ancak bakterisidal aktiviteler gözlenmemiştir (Vairappan, 2003).

Deniz alglerinden elde edilen birçok maddenin farmakolojik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Rubenstein ve John,1974; Ahmad ve ark.,1992, Awad,1998).

Tablo2.1.1. Alglerin antimikrobiyal aktiviteleri. İnhibisyon zon çaplarına göre aktivite gösterilmiştir. (+++ $\geq$ 15 mm, ++ < 15 mm, + belirsiz çok az inhibisyon zonu, - aktivite yok). Mikroorganizmalar: Asp: *Aspergillus fumigatus* MF5668, Bac: *Bacillus subtilis* MB964, Can: *Candida albicans* MY1055, Ent: *Enterococcus faecium* MB5571, Myc: *Mycobacterium smegmatis* MB233, Ps: *Psuedomonas aeruginosa* MB979, Sac: *Saccharomoyces cerevisiae* W303, Ser: *Serratia mercenscens* MB252, Sta: *Staphylococcus aureus* MB5393)(Gonzales del Val ve ark.,2001).

Takım	Türler	Mikroorganizmalar								
		Pse	Ser	Ent	Myc	Sta	Bac	Can	Sac	Asp
Chlorophyta										
Caulerpa	<i>Caulerpa prolifera</i>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	+
	<i>C. racemosa</i>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
	<i>C. webbiana</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Codiales	<i>Codium decorticatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. intertextum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. taylorii</i>	-	-	-	-	++	-	-	-	-
	<i>Halimeda discoidea</i>	-	-	-	-	++	++	-	-	-
Dasycladales	<i>Cymopolia barbata</i>	-	-	+++	-	+++	+++	++	+++	++
Ulva	<i>Enteromorpha compressa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. muscoides</i>	-	-	-	-	+++	-	-	-	+
	<i>Ulva rigida</i>	-	-	-	-	++	+++	-	-	-
Phaeophyta										
Dictyotales	<i>Dictyota ciliolata</i>	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
	<i>Dictyota</i> sp. 1	-	-	-	-	+++	+++	+	-	+
	<i>Dictyota</i> sp. 2	-	-	-	-	++	++	-	-	-
	<i>Dictyopteris membranacea</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	<i>Lobophora variegata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Padina pavonica</i>	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
	<i>Sargassum zonale</i>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
	<i>Zonaria tournefortii</i>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
Ectocarpales	<i>Cystoseira compressa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. foeniculacea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. humilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Fucus spiralis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Sargassum dextrale</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. furcatum</i>	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
Sphacelariales	<i>Cladostephus spongiosus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Halopteris filicina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>H. scoparia</i>	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
Rhodophyta										
Ceramiales	<i>Amphiroa rigida</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	<i>Halopitys incurvus</i>	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
	<i>Osmunda hybrida</i>	-	-	-	+++	++	+	-	+	-
Corallinales	<i>Corallina elongata</i>	-	-	-	-	+	+++	-	-	-
	<i>Halpilion virgatum</i>	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
	<i>Jania rubens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>J. adhaerens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cryptonemiales	<i>Gratelopia doryphora</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelidiales	<i>Gelidium arbuscula</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	<i>Pterocladia capillacea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gigartinales	<i>Solieria filiformis</i>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
Nemaliales	<i>Asparagopsis taxiformis</i>	+	+++	+	+	+++	+++	+++	++	+++
	<i>Galaxaura rugosa</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Dünyanın farklı bölgelerinden antimikrobiyal aktivite için yapılan bazı çalışmalar ve örneklenen türler Tablo 2.1.2.'de gösterilmiştir. Buna göre örneğin; *Asparagopsis armata* türünde yüksek inhibisyon zon değerleri görülürken, yine farklı bir türünde; *Asparagopsis taxiformis*'de düşük inhibisyon zonları görülmüştür. Bu konuda taksonomik kıyaslamalar yapmak yanlış sonuçlara götürebilmektedir. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Enterobacter*

cloaceae'ye karşı genel olarak tüm türler belirgin bir aktivite göstermiştir. Çalışılan türler arasında en yüksek aktivite gözlenenler, *Bonnemaisonia asparagoides*, en çok *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *E. coli* 'ye karşı aktivite gösterirken; *E. linza* türü, birçok organizmaya karşı inaktif bulunmuştur. Freile-Pelegrin ve Morales 2004 yılında, Meksika kıyılarından topladıkları *Caulerpa prolifera* 'nın etanolik ekstraktlarının *B. subtilis* (9.6 mm), *E. faecalis* (10.7), *M. luteus* (9.3)'a karşı inhibitor aktivitesini saptamışlardır. Kloroform/metanol (2:1) ekstraktlarının ise aynı mikroorganizmalara karşı sırasıyla 10, 11.3 ve 7.7 mm inhibisyon zon çapları belirtmişlerdir. *Caulerpa racemosa* türünün etanolik ekstraktının sadece *B. subtilis* (7.3 mm)'e karşı, kloroform/metanol (2:1) ekstraktının (7 mm) yine *B. subtilis*'e karşı etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca *Caulerpa* türlerinin rizomlarına göre üst kısımlarının terpenoid metabolitler bakımından daha zengin olduğunu belirtmişlerdir. Salvador ve ark. 2007 yılında, 82 denizel algin antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş ve kırmızı alglerden *Bonnemaisoniales* ordosu uyelerinin en aktif grup olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde de antimikrobiyal etkinlik inceleme çalışmaları birçok araştırmacı tarafından yapılmıştır ve çalışmalar devam etmektedir. Türkiye'den antimikrobiyal aktivite için rapor edilen çalışmalar Tablo 2.1.3.'te belirtilmiştir. Özdemir ve ark. 2006 yılında, *Dictyopteris membranacea* ve *Cyrtoseira barbata* 'nın değişik ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal etkinliğini incelemişlerdir ve uçucu yağlarının test organizmalarına karşı önemli bir etkiye sahip olmadığını, incelenen metanol ve hegzan ekstraktlarında, metanol ekstraktlarının daha fazla inhibitör etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Haliki ve ark. 2005 yılında, Foça ve Karaburun'dan topladıkları örneklerde önemli bir antifungal etki saptamamışlardır. Tüney ve ark. 2006 yılında, Urla kıyılarından toplanan bazı makro alglerde antimikrobiyal etkinlik çalışmaları yapmışlardır ve alglerin kuru ve yaş olarak etkinliğini incelemişlerdir. *G. gracilis* ve *Ulva rigida* yaş örneklerinden elde edilen dietil eter ekstraktlarında oldukça fazla inhibisyon zon oluşumu gözlenmiştir.

Tablo 2.1.2. Dünyanın farklı bölgelerinden bazı denizel alglerin antimikrobiyal aktiviteleri.

[Ml: *Micrococcus luteus*, Sa: *Staphylococcus aureus*, Bs: *Bacillus subtilis*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Ec: *Escherichia coli*, Ef: *Enterococcus faecalis*, Ca: *Candida albicans* (-: test edilmemiş, In: inaktif, zon çapı mm'dir)].

Algler	Mikroorganizmalar							Kaynaklar
	MI	Sa	Bs	Pa	Ec	Ef	Ca	
<i>Cladophora prolifera</i>	-	7-10	-	In	In	-	In	Ely ve ark. 2004 (Hindistan)
<i>Caulerpa prolifera</i>	7.7	-	10.0	-	-	11.3	-	Freile-Pelegrin ve Morales 2004 (Meksika)
<i>Ceramium nitens</i>	23.0	-	22.3	-	-	-	-	
<i>Asparagopsis armata</i>	-	35.1	38.9	27.3	39.9	-	53.2	Salvador ve ark. (İspanya) 2007
<i>Bonnemaisonia asparagoides</i>	-	70.5	69.9	-	22.7	-	42.7	
<i>Hapalospongidion macrocarpum</i> (Taze örnek)	-	17.2	18.7	-	13.0	-	12.3	
<i>Asparagopsis taxiformis</i>	-	> 15	> 15	7-10	-	-	> 15	Gonzales Del val, A. ve ark., 2001
<i>Corallina elongata</i>	In	7-10	In	-	-	In		
<i>Caulerpa racemosa</i>	-	2.5-10	2.5-10	-	11-20	-	In	Mtolera ve Seme 1996 (Tanzanya)
<i>Laminaria pallida</i>	-	8.0	10.0	-	8.0	-	-	Vlachos ve ark 1999 (Güney Afrika)
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	-	In	19-25	-	15-19	-	-	Glombitza, 1969 (Helgoland)
<i>Enteromorpha linza</i>	-	-	5	5	In	-	-	Prakash ve ark., 2007
<i>Hypnea musciformis</i>	-	16,3	-	In	In	-	-	Perez, G. ve ark., 1989
<i>Halimeda opuntia</i>	-	In	-	-	24,2	-	18,6	

Tablo 2.1.3. Türkiye'den antimikrobiyal aktivite için rapor edilen çalışmalar ve türler. [(++): - 10-15 mm zon çapı; (+):7-10 mm zon çapı; (+++): ≥ 15 mm zon çapı; CA: *Candida albicans*, EF: *Enterococcus faecalis*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, EC: *Enterobacter cloacae*, SA: *Staphylococcus aureus*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, BC: *Bacillus cereus*, ST: *Salmonella typhimurium*, ECI: *Escherichia coli*, BS: *Bacillus subtilis*

Türler/Rapor eden	Örnekleme Yeri	Etken çözgen	İnhibitör etki ve derecesi
<i>Cystoseira mediterranea</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	CA, EF, PA, E.coli (++)
		Etanol	CA, EF, PA, E.coli (+)
<i>C. barbata</i> (Ozdemir, G. ve ark., 2006)	İzmir	Hexane	SE (+), SA (++) , PA (+), EC(+)
		Kloroform	SE(+), SA (+) ,ST(+)
<i>C. barbata</i> (Taskin,E. ve ark., 2007)	Çanakkale	Metanol	SA, EF, EA, E.coli (++)
<i>Ulva rigida</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	CA, EF, PA, E.coli (++)
		Etanol	CA, EF, E.coli (+)
<i>U. rigida</i> (Taskin,E. ve ark., 2007)	Çanakkale	Metanol	SA (+++)
<i>Gracilaria gracilis</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	CA, EF, PA, E.coli (++)
		Etanol	CA, EF, PA (+)
<i>Enteromorpha linza</i> (Sukatar,A. ve ark,2006)	İzmir	Metanol	SA(+++), BC (++)
		Kloroform	ST, PA, EC (++)
<i>Padina pavonica</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Etanol	CA, EF, PA, EC (+)
<i>Colpomenia sinuosa</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Acetone	E.coli (+)
<i>Halopteris filicinae</i> (Taskin,E. ve ark., 2007)	Ayvalık	Metanol	SA (++)
<i>Dictyota dichotoma</i> (Taskin,E. ve ark., 2007)	Ayvalık	Metanol	SA (++)
<i>D. linearis</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Etanol	CA, E.coli (++)
<i>Dictyopteris membranaceae</i> (Ozdemir, G. ve ark., 2006)	İzmir	Hexane,	SE(+), SA (++) , CA (+++)
		Kloroform	BS, ST, PA, EC, E.coli (++)
<i>Ectocarpus siliculosus</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	CA, EF, PA, E.coli (++)
		Etanol	CA, EF, PA, E.coli (+)
<i>Ceramium rubrum</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	EC (+)
<i>Acantophora najadiformis</i> (Tuney, İ. ve ark., 2006)	İzmir	Dietil eter	CA, EF,PA,E.coli (+)
<i>Cladostephus spongiosus</i> (Taskin,E. ve ark., 2007)	Ayvalık	Metanol	SA (++)
<i>Jania rubens</i> (Karabay Yavaşoğlu, U.ve ark. ,2007)	İzmir	Metanol	SE(+), SA(+++), SF, BC, ST, PA, ECI, EC (++)
		Kloroform	SE,SA,SF,BS,ST,PA,EC,CA(++

Türkiye'den rapor edilen antimikrobiyal etkinlik çalışmalarında, hemen her yıl yeni türler ve yeni istasyonlar üzerinde yoğunlaşarak çalışmalar sürekli devam etmektedir. Taşkın ve ark. tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmada, Ayvalık'tan toplanan *C. officinalis*, *D. dichotoma*, *H. filicina*, *C. spongiosus f. verticillatus* türlerinde ve Çanakkale'den toplanan *C. barbata* ve *U. rigida* örneklerinden antimikrobiyal etkinlik izleme çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak test edilen tüm türlerin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve özellikle *C. officinalis* ve *C. barbata* türlerinin *E. faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escheichia coli*, *E. coli O157:H7* mikroorganizmalarına karşı yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Karabay-Yavaşoğlu ve ark. 2007, *Jania rubens* (Corallinales, Rhodophyceae) türünün metanolik ve kloroform ekstraktlarının önemli bir inhibitor etkiye sahip olduğunu buna karşın uçucu yağları açısından test organizmalarına karşı önemli bir etkiye sahip olmadığını belirtmişlerdir.

2.2. Bazı Makro Alglerin Antioksidan Aktiviteleri

Son yıllarda birçok alg türü, yeni ilaçlar ve sağlıklı besinlerin geliştirilmesi için biyoaktif bileşenleri yönünden incelenmektedir. Yenilebilir algler, diyet liflerin, proteinlerin ve minerallerin zengin birer kaynağıdır. Günümüzde çoğunlukla insanlar tarafından yaygın olarak kullanılan antioksidanlar karasal kaynaklı gıdalardan sağlanmaktadır. İlk anda sayabileceğimiz gıdalar arasında avokado, kavun, domates, greyfurt, çilek, kiraz, vişne, portakal, karnabahar, brokoli, şeftali, havuç, ayçiçek yağı, zeytinyağı çeşitli antioksidan vitaminler bakımından zengin geleneksel ürünlerdir.

Kuvvetli antioksidan etkiye sahip fotosentetik pigmentler bakımından zengin olan makro ve mikroalgler aynı zamanda antioksidan vitaminler bakımından da zengindir. Bu antioksidan pigmentler arasında karotenoidleri (astaksantin, zeaksantin, kriptoksantin, lutein, α -karoten, β -karoten), yağda eriyen vitaminlerden Vit-E türleri tokoferoller (α -, β -, γ - ve δ -tokoferol) ve Vit-C (askorbat)'yi sayabiliriz. Makro ve mikroalglerin antioksidan vitamin ve pigmentlerin yanı sıra çoklu doymamış yağ asitlerinin de (Gökpınar ve ark., 2006) zengin bir kaynağı olması önemlerini bir kat daha arttırmaktadır. Alglerin antioksidan etkinliğini araştırmaya yönelik dünyada birçok çalışma yapılmaktadır. Denizlerdeki algler artık antioksidanların zengin bir kaynağı olarak bilinmektedir.

Ege Denizi'nden toplanan *Caulerpa racemosa* türünde mevsimsel olarak antioksidan enzimlerdeki değişiklik izlenmiştir. SOD(Süperoksid dismutaz) ve CAT (Katalaz) enzim etkinliği mayıstan eylüle kadarki sürede artış gösterirken, bu aydan sonra belirgin bir düşüş gözlenmiştir.

Öte yandan GSH-Px aktivitesinde iniş-çıkış gözlenmiştir, SOD ve CAT aktivitesinde aralığa kadar artış gözlenirken, LPO aktivitesinde düşüş gözlenmiştir sonuçta aktivitenin, güneş ışınları yada deniz suyu sıcaklığı ile ilgili olmadığı saptanmıştır (Cavaş, Yurdakoç ,2005).

2006 yılının mart ayında, Hindistan'ın Goa kıyılarından, kayalık gölgelerden toplanan *Sargassum sp.* ektrelerinin radikal süpürücü aktivitesi (DPPH ve hidroksil radikali) , lipid peroksidasyon inhibisyonu incelenmiştir. Buna ilave olarak lipid peroksidasyonu ve glutatyon S-transferaz aktivitesi de araştırılmıştır. Sonuç olarak algin, güçlü bir antioksidan özellik gösterdiği ve alglerin bazı hastalıklara iyi gelebileceği ve besinlerin saklanması için kullanılabileceği ortaya çıkarılmıştır (Patra ve ark. , 2008).

Kore'de yapılan bir çalışmada da, *Eisenia bicyclis*, *Ecklonia stolonifera*, *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome* ve *Hizakia fusiformis* türlerinden elde edilen polifenollerin antioksidan etkinliği incelenmiştir. DPPH radikal süpürme etkisi yöntemi kullanılmıştır ve sonuçta kahverengi alg polifenollerinin oldukça iyi antioksidan aktivite gösterdikleri bulunmuştur (Kang ve ark., 2003).

İran Körfezi'nden 2006 mayısta toplanan *Sargassum boveanum*'un antioksidan aktivitesine bakılmıştır. Spektrofotometrik bir yöntem olan linoleik asit peroksidasyon yöntemi kullanılmıştır ve sonuç olarak, 7mg kuru örnek/ml çözgenin sulu ekstraktının, linoleik asit peroksidasyonunu %90 oranında inhibe ettiği görülmüştür ve tüm sayısal sonuçlar, bu algin doğal bir antioksidan kaynak olabileceğini göstermiştir (Zahra ve ark. , 2007).

Atlantik kıyılarından toplanan *Mastocarpus stellatus* ve *Chondrus crispus* kırmızı makro alglerin antioksidan etkinliğinin mevsimsel olarak değişimi farklı stress koşullarına olan toleransları incelenmiştir, çalışma enzim etkinliği ölçümü üzerinden Reaktif Oksijen Türevleri ile ilişkilendirilerek sonuçlanmıştır ve sonuçta; *C. crispus* türünde, kışın ROT'lara karşı antioksidan etkinliğinde belirgin bir artış olmuştur. *M. stellatus* türünde ise bahar aylarında antioksidan kapasitesinde artış gözlenmiştir (Lohrman ve ark., 2004).

Kahverengi alglerden 11, yeşil alglerden 1 ve kırmızı alglerden 5 tür olmak üzere toplam 17 makroalg türü üzerinde yapılan bir araştırmada *Sargassum spp.*'nin en yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Matsukawa ve diğ., 1997). Yine Akdeniz'de yayılım gösteren *Cystoseira* genusuna ait 8 türde yapılan bir çalışmada, çalışılan türler arasında *Cystoseira amentacea var. stricta* ekstraktlarının en yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Roberto ve ark., 2001).

Kahverengi alglerle yapılan çalışmalarda birçok antioksidan bileşik tanımlanmıştır. Örneğin, *Eisenia bicyclis* (arame) 'den phlopheophytin ve *Hijikia fusiformis*'ten (hijiki) fukoksantin tanımlanmıştır. Japonya'da yapılan bir çalışmada, 3 farklı kahverengi alg türünün (*Scytosiphon lomentaria*, *Papenfussiella kuromo* ve *Nemacystus decipiens*) ve bir kırmızı alg türünün (*Porphyra sp.*), beş farklı yöntem kullanılarak antioksidan etkinliği incelenmiştir. Su ve etanol ekstraktları hazırlanan örneklerde, su ekstraktlarının fenolik bileşik içeriği 2,3 ve 9,4 mg/ml arasında bulunmuştur ve etanol ekstraktlarına göre bu değer oldukça yüksektir. Tüm sayısal verilere göre, alglerin sulu ekstraktlarının güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Kuda ve ark.,2005).

Sargassum polycystum ve *Laurencia obtusa*'nın taze ve kuru örnekleri Endonezya'nın Seribu adalarından toplanmıştır. Metanol, dietil eter ve hegzan ekstraktları; thiocyanate yöntemi ile antioksidan etkinlikleri yönünden test edilmiştir. *L. obtusa* ekstraktları, *S. polycystum*'a göre çok daha yüksek aktivite gösterirken, *S. polycystum*'un metanol ekstraktı; diğer ekstraktlardan daha aktif bulunmuştur ve *L. obtusa*'nın n-hegzan ekstraktı, dietil eter ve metanol ekstraktlarına göre çok daha aktif bulunmuştur (Anngadiredja ve ark. 2004).

2.3. Alglerin Ekonomik Önemi

Günümüzde dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak yenilebilir ve yenilenebilir olan madde miktarlarında azalma ve beslenme sorunları gündeme gelmiştir. Deniz alglerinin M.Ö. 850 yılından bu yana özellikle Çin kıyıları olmak üzere Uzak Doğu ve Pasifik adalarında insan besini olarak tüketildiği bilinmektedir. Çad gölü çevresinde yaşayan yerlilerin çok eskiden beri bir mavi-yeşil alg olan *Spirulina*'yı tükettiği, Çinlilerin yüzyıllardır pirinç tarlalarında yüksek verim elde etmek amacıyla mavi-yeşil algleri kullandığı, İrlanda, İngiltere ve İskoçya kıyılarında özellikle gel-git dönemlerinde denizden toplanan alglerden kurutularak çeşitli amaçlarla yararlandığı belirtilmektedir.

17. yüzyılda deniz alglerinin fırınlarda yakılması ile oluşan külden soda, potasyum ve iyodin elde edildiğine ilişkin bilgiler bulunmuştur, 50 - 60 yıl öncesine kadar alglerden elde edilen fikokolloidlerden sadece agarın olduğu ve 1662'den I. Dünya Savaşı'na kadar agar üretiminin sadece Japonya'nın tekelinde olduğu da bilinmektedir. Günümüzde de kırmızı alglerden elde edilen agar ve carragen alg endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Endüstride agar-agar olarak bilinen ürün, *Gelidium*, *Gracilaria*, *Pterocladia*, *Phylophora* ve benzer cinslerden elde edilmektedir. Yiyecek sanayiide sertleştirme amacı ile tıpta kabızlığı önleyici, şarap, bira ve likör sanayinde berraklaştırıcı ajan olarak kullanılmaktadır (Sukatar, 1992). Agarın 1881 yılında Koch tarafından patojen mikroorganizmaların kültürü ve izolasyonu amacı ile kullanımı ile birlikte,

agar hastaneler ve bakteriyolojik araştırma laboratuvarları için vazgeçilmez olmuştur (Schwimmer and Schwimmer, 1955). Agar üretimi ilk kez 1921'de Kaliforniya'da başlamış ve 1922 yılından sonra Kuzey Amerika'da gelişmiştir. 1939'larda Avustralya, Güney Afrika, İspanya gibi diğer ülkelerde gelişmeye başlamıştır. Japonya'da ise yüzyıllardır geleneksel yöntemlerle üretilen agar bugün çağdaş yöntemlerle üretilmektedir. Carragen de benzer şekilde katılaştırıcı olarak kullanılır ve en çok elde edildiği türler, *Chondrus crispus* ve *Gigartina sp.* türleridir (Sukatar, 1992).

Kahverengi alglerden elde edilen alginatın da büyük bir endüstri alanı olduğu söylenebilir. Alginat en çok *Laminaria* ve *Microcystis* türlerinden elde edilir ve kullanım alanları, tekstil ürünlerinde baskıda ve son işlemden, kozmetikte, gıda sanayinde koyulaştırma maddesi, kauçuk endüstrisinde emülsiyon maddesi olarak kullanılmaktadır (Çetingül, 1993). Alginat üretimi 1929'da ABD'de başlamış olup daha sonraları İngiltere, Fransa ve Norveç gibi ülkelerde de üretilmeye başlanmıştır (Levring ve ark., 1969).

Alglerden elde edilen ilk antibakteriyal bileşik *Chlorella*'dan elde edilen *chlorellin*'dir (Pratt ve ark.,1946). Daha sonra Vacca ve Walsh (1954) her ay düzenli olarak topladıkları ekstraktların antibakteriyal etkinliğini incelemişler ve bahar aylarında toplanan ekstraktlarda kış aylarına nazaran daha çok aktivite olduğunu ancak her iki mevsim ekstraktlarının da önemli derecede Gr(-) ve Gr(+) bakterilere karşı aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir .

2.4. Antimikrobiyal Maddeler Ve Önemi

Antimikrobiyal maddeler, çok az yoğunlukta mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli, ikincil metabolitlerdir. Bunlar, mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici "bakteriostatik" veya "fungustatik" olabildikleri gibi; mikroorganizmanın ölümüne sebep olan "bakterisit" ve "fungisit" gibi maddeler de olabilirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen, düşük moleküler ağırlıklı, organik doğal ürünler olan antimikrobiyaller, seçici toksisiteye sahip olduklarından, çok düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmaya zararlı olup, makroorganizmaya zarar vermezler (Demain, 1999).

Bitkilerle tedavi yöntemlerinin geçmişi çok eski yıllara dayanmaktadır. Son yıllarda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler doğal kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır (Nakipoğlu ve Otan,1992). Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır.

Geleneksel tıpta kullanılan doğal kaynakların yeni antimikrobiyal bileşiklerin potansiyel bir kaynağı olarak, bilimsel açıdan araştırılmaları oldukça önemlidir. Ayrıca, doğal ürünler olmaları yanı sıra etkili ve güvenilirliklerinden dolayı doğal terapilerde ve artan tüketici talebindeki ilginin güçlenmesi de bitkisel uçucu yağlarla ilgili daha ayrıntılı çalışma gerekliliğini beraberinde getirmiştir (Hammer ve ark.,1999). Çalışma konumuzu oluşturan alglerin antimikrobiyal etkisinin saptanması ve hangi maddelerin bu etkiye sebep olduğunun araştırılması, yapılacak farmakolojik çalışmalara ışık tutacaktır ve yeni antibiyotik arayışlarına yön verebilecektir ve ucuz, hızlı yöntemler ile belki de doğal antibiyotikler üretilebilecektir.

Sentetik antimikrobiyal maddelerin bulunması ve geliştirilmesinde sürekli artan maliyetler, doğal biyoaktif bileşenlere yönelimi artırmıştır. Teorik olarak bu bileşenlerden, daha az mühendislik, maliyet ve zaman tasarrufu yapılabildiği yapılan ön çalışmalarla gösterilmiştir. Doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiallerin sentetik bileşiklerden kaynaklanan birçok yan etkiye sahip olmadığı düşünülmektedir. Bu doğal kaynaklara yönelim, gelişen antimikrobiyal direnç karşı sürekli olarak izlemeyi gerektirir. Birçok türün şuanda sağlığı ciddi olarak tehdit eden, MRSA ve VRA suşları gibi çoklu direnç suşuna sahip olduğu bilinmektedir. (Lampinen,2005) . Dünyanın birçok bölümündeki antimikrobiyal dirençte ki artış; infeksiyonlarda önem teşkil eden *Shigella* ve *Vibrio cholerae* O1 ve O139'un antimikrobiyal duyarlılığının izlenmesinde ki önemi artırmıştır. *Shigella*, *V. cholerae* ve *E. coli* O157:H7; mutlak ilaçlara karşı denemiş fakat in vivo aktiviteler ile in vitro sonuçlar arasında bir dengesizlik gözlenmiştir. Örneğin *Shigella spp*; disk difüzyon testinde, aminoglikozitlere(ör: gentamisin, kanamisin)karşı oldukça hassasiyet göstermiştir ancak bu ilaçlara maruz bırakıldığında her zaman etkinlik gözlenmemiştir.

Antimikrobial ajanlara karşı direnç, artırılan sağlık fiyatları ile birlikte hastalık ve ölüm ile sonuçlanmıştır. Kesin halk sağlığı riski tanımlanmış olmasına ve fiyatlarda ki artışın basit bir yüklenicilik olmamasına rağmen, az bile olsa belirgin bir antibiyotiksel direncin, ciddi global bir problem olduğu düşünülmektedir.

2.5. Oksidan ve Antioksidan Maddeler

Oksijen yaşam için vazgeçilmezdir ancak aynı zamanda potansiyel bir zehirdir. Oksijen renksiz, kokusuz ve atmosfer hacminin beşte birini kaplayan bir gazdır. Oksijen, besin moleküllerinde kullanılır; enerji eldesinde hem bitkiler hem de hayvanlar tarafından değişikliğe uğramadan doğrudan kullanılır. Oksijen, doğada 2 atomu olan ve dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren bir serbest radikaldir. Oksijen, çok güçlü bir oksidan

olmamasına rağmen, suya redüksiyonu sonucu çok reaktif ara ürünler oluşmasına neden olur (Gutteridge ,1994).

Oksidasyon; önemli hücre aktiviteleri için gerekli enerji üretiminde rol alan metabolik bir prosestir. Biyolojik bileşiklerin oksidasyonu, organizmalar için bir enerji kaynağıdır. Oksidasyon, bir maddenin oksijen ile birleşirken bir elektron kaybettiği kimyasal bir süreçtir. Oksijenin suya indirgenmesinin dört basamakta gerçekleşmesi eşsiz bir olaydır ve oksijenin enzimler tarafından katalize olması ise bir basamakta gerçekleşen mekanik bir olaydır. (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Oksijen, iki elektronu eşleşmemiş şekilde bir elektron dağılımına sahiptir. Bu yüzden bazen oksijen biradikal olarak değerlendirilir. Oksijen molekülünün reaktif bir özelliği olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir .

Serbest radikaller en dış halkalarında eşlenmemiş atom veya atom grupları taşıyan ve diğer bileşiklerle reaksiyona girerek bir elektron alma eğilimi gösteren, yüksek oranda reaktif kimyasal ürünlerdir. Serbest radikaller diğer moleküllerle hızla reaksiyona girmeye ve onların yapısını değiştirmeye eğilimlidirler. Aerobik organizmalar çok toksik olan serbest oksijen radikalleri ile sürekli karşı karşıyadırlar. Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşmakta ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle, oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığından herhangi bir sitotoksite ortaya çıkmamaktadır. Baska moleküller ile çok kolayca elektron alıverisine girebilen bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen türleri" de denmektedir (Çavdar ve ark., 1997). Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlevlerine engel olurlar. Bu işlem serbest radikalleri hem tehlikeli hem de kullanışlı yapar. Çoğu elektron çift halde bulunurken, serbest radikal bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur ve aynı zamanda serbest radikal elektron çifti haline geçer ve diğer elektron serbest kalır. Oksidasyona neden olan serbest radikaller temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler, (superoksit anyonları O_2^- , Hidrojen peroksit H_2O_2 , hidroksil radikali OH^-), hipoklorik asit, kloraminler, azot dioksit, lipid peroksitler ve ozondur (Kaur ve ark. 2001). Oksidasyon adı verilen bu kimyasal prosesi açıklamak istersek; oksijenin redüksiyonu sonucu önce süperoksit radikal anyonu, daha sonra H_2O_2 , O_2 , OH . ve nötrofillerden salıverilen miyeloperoksidaz enzimin katalizlediği reaksiyon sonucu $HOCl$ oluşur (Mayers ve Johnson ,1998). (Şekil 2.5.1)

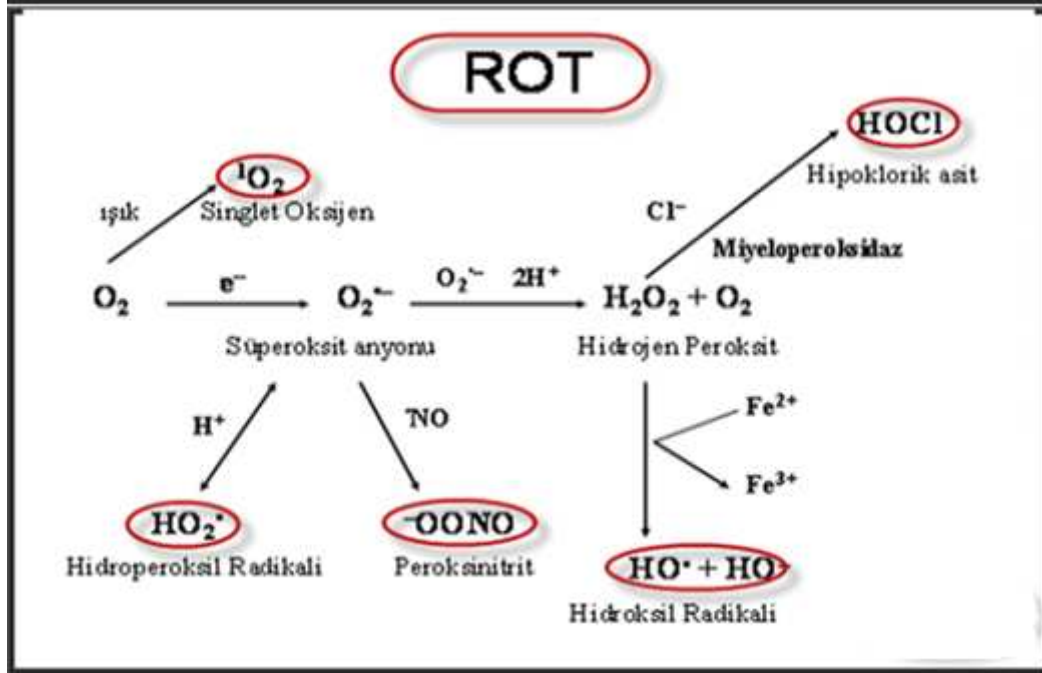
DNA, proteinler, yağlar ve küçük hücrel moleküllerin reaktif oksijen türleri ile oksidatif modifikasyonu birçok yaygın hastalık ve yaşa bağlı dejenerasyonlarda yaygın bir rol oynamaktadır (Borek,1993). Bunlar kardiyovasküler hastalıkları, inflamasyonları, ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar ile mutasyonlar ve kanseri kapsamaktadır (Kuda,ve ark., 2004).

Tablo 2.5.1. Bitkilerde ROT oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması (Koç ve Üstün 2008)

Mekanizma	Lokalizasyon	Başlıca Reaktif oksijen türleri
Oluşum (ürün)		
Fotosen. ET ve PSI-II	Kloroplast	O_2^-
Solunum ET	Mitokondri	O_2^-
Glikolat Oksidaz	Peroksizom	H_2O_2
NADPH oksidaz	Plazma Membranı	O_2^-
Yag asidi β -oksidasyonu	Peroksizom	H_2O_2
Oksalat Oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Ksantin Oksidaz	Peroksizom	O_2^-
Peroksidaz ,Mn ve NADH	Hücre Duvarı	H_2O_2, O_2^-
Amino oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Parçalama		
Süperoksit dismutaz	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	O_2^-
Askorbat peroksidaz	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
Katalaz	Peroksizom	H_2O_2
Glutasyon Peroksidaz	Sitozol	$H_2O_2, ROOH$
Peroksidaz	Hücre duvarı, Sitozol, Vakuol	H_2O_2
Askorbik Asit	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2, O_2^-
Glutasyon	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
α -Tokoferol	Membranlar	$ROOH, O_2^-$
Karetenoidler	Kloroplast	O_2^-

Reaktif oksijen türlerinin etkileri uzun süreli olarak kabul edilmekte ve canlılarda hastalıklara, yaşlanmaya neden olmaktadır. ROT'leri geçici olarak meydana geldikleri gibi

enzimatik olarak da meydana gelmektedirler. ROT'lerinin enzimatik kaynakları hem ekstraselüler hem de intraselülerdir. Büyük ROT kaynakları hücre duvarlarında bulunan peroksidazlar ve aminoksidazlar, plazma membranında bulunan NADP oksidaz, mitokondri, kloroplast, peroksisomlarda bulunan intraselüler oksidaz ve peroksidazlardır. Bitkilerdeki başlıca reaktif oksijen türleri (ROT), lokalizasyonu ve uzaklaştırılma mekanizmalarına ait bilgiler Tablo 2.5.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşum Şeması

Hücre içinde diğer moleküller ile hızla reaksiyona girip onların yapısını bozacak çeşitli reaksiyonları başlatabilen bu oksidan moleküller ancak antioksidan moleküller tarafından durdurulabilirler. Serbest radikallerin hücre içerisinde üretimi o kadar fazladır ki, üretim ve yıkım dengesini bozmayacak şekilde, birçok koruma ve savunma sistemi tanımlanmıştır. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda bile hedeflerinin oksidasyon hızını anlamlı şekilde inhibe eden moleküllerdir (Maxwell, 1995). ROT oluşumu sonucunda gelişen hasarı önlemek için vücutta geliştirilmiş olan savunma sistemleri olarak bilinirler. Antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidatif hasarı engelleyen veya geciktiren maddelerdir. Doğal veya farmakolojik olmak üzere başlıca iki grup olan antioksidanlar; enzim antioksidanlar, önleyici antioksidanlar, süpürücüye da zincir kıran antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar (Gutteridge,1994, Halliwell ,1997).

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (Gökpınar ve ark. ,2006).

- 1.Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.
- 2.Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.
- 3.Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
- 4.Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.

Tablo 2.5.2. Doğal veya farmakolojik yapıdaki enzim, önleyici,süpürücü (zincir kıran) özellikte antioksidanlar (Günaydın ve Çelebi, 2003).

Özellik	Doğal	Farmakolojik
Enzim	SOD	r-SOD
	Katalaz	Katalaz (Lipozom/konjuge)
	GSH-peroksidaz	Selenyum Ebselen
Önleyici	Laktoferrin	Desferrioksamin
	Seruloplazmin	
	Albümin	
Süpürücü	Vitamin C	Salisilatlar
	Ürik asit	21-aminosteroidler
	Bilirübin	Dimetilsülfoksit
	Tiyoller	Dimetiltiyotüre
	Tokoferol	Alloptürinol
	Beta karoten	Oksiptürinol
	Ubikinol	NADPH oksidaz inhibitörleri
	Flavonoidler	Antinötrofil serum
	Östrojenler	Antiadhezyon ajanlar

2.6. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

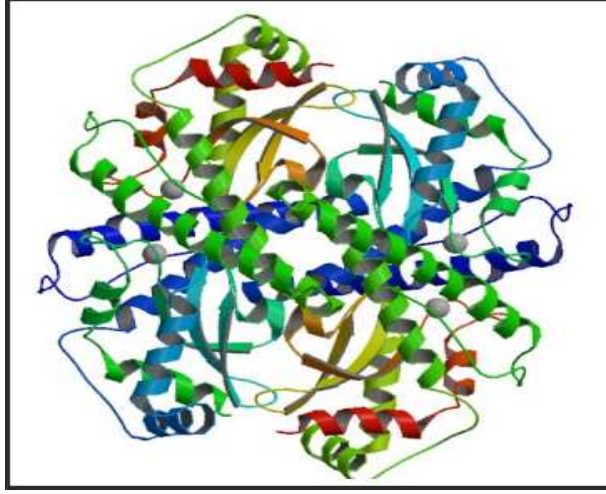
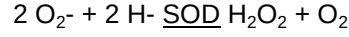
Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Organizmayı oksidatif etkilere karşı dengede tutabilmek için gerekli olan endojen ve ekzojen antioksidanların toplam etkisi antioksidan kapasiteyi oluşturur ve ROT'lerinin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunmada etkili olan moleküller bilirubinler, albuminler, transferin ve daha birçok molekül sayılabilirken, hücre içi savunmada yani antioksidan savunmada asıl enzimler etkindir. Bu enzimler; superoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidaz enzimleridir.

2.6.1. Antioksidan Enzim Sistemleri

Doğal enzim antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve GSH peroksidaz hücre içinde mitokondri ve sitozolde bulunan ve oksidanların redüksiyonunu katalizleyen doğal antioksidan enzim sistemleridir.

2.6.1.1. Süperoksit dismutaz;

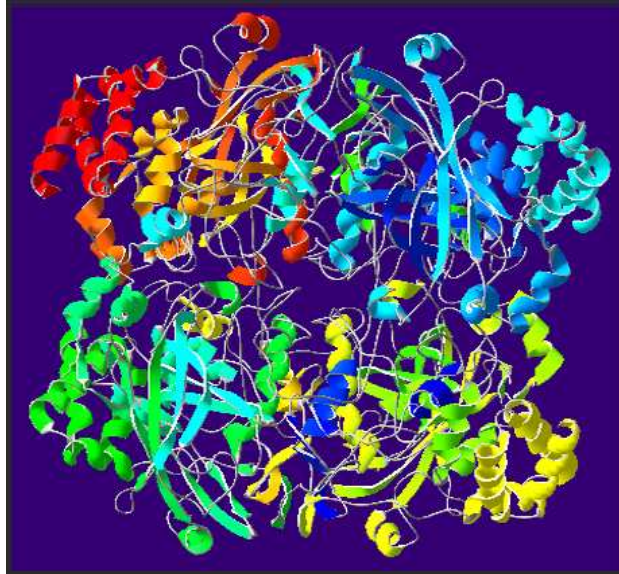
O_2 radikalinin H_2O_2 ’e dismutasyonunu katalizler ve $OH\cdot$ radikali oluşturmak için ortamda H_2O_2 ile reaksiyona girecek $O_2 \cdot$ radikalini ortadan kaldırır, sonuçta superoksidin, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene katalizlenmesi sağlanmış olur. İlk olarak, Mac Cord ve Fridovich tarafından 1969 yılında tanımlanmıştır. SOD enzimi, üç farklı metal bileşiğinden oluşur ve her bir form aktif tarafında geçiş metal iyonu taşır. SOD, superoksid radikalinden başka hiçbir bileşikle katalitik reaksiyona girmez. Süperoksit dismutaz molekülünün üç boyutlu görünümü Şekil 2.6.1.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.6.1.1. Süperoksit dismutaz molekülünün üç boyutlu görünümü

2.6.1.2. Katalaz;

Bir metalloproteindir, hidrojen peroksitten su ve oksijen oluşumunu katalize eder (Günaydın ve Çelebi ,2003). H_2O_2 'nin iki molekülünün birbirinden ayrılması iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta; enzimin demir kısmı ile (Fe-E), H_2O_2 birleşerek, bir ara ürün olan bileşik I 'i oluşturular. Bileşik I, ikinci molekül olan H_2O_2 ile etkileşir (Halliwell ve Guttridge,1989). Katalaz, oldukça güçlü bir oksidan bileşen olan hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene dönüştürür. Katalaz, bitkilerin hayvanların ve aerobik bakteri hücrelerinde; peroksizom olarak bilinen hücre organellerinde bulunur. Antioksidan etkinliği GPX kadar fazla değildir. (Şekil2.6.1.2)

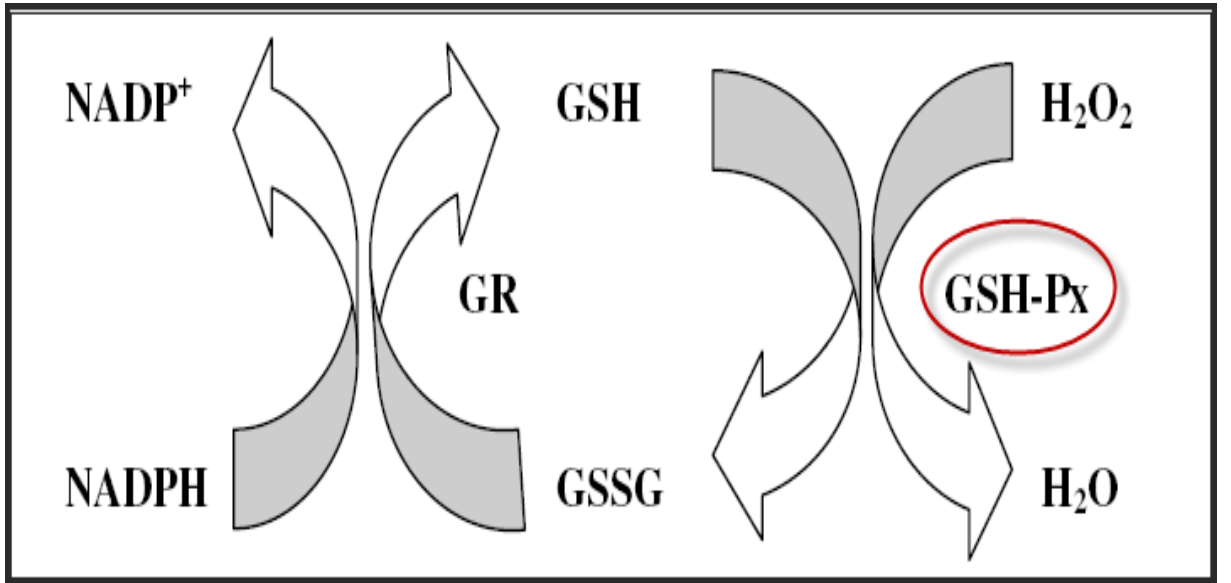


Şekil 2.6.1.2. Katalaz molekülünün üç boyutlu görünümü.

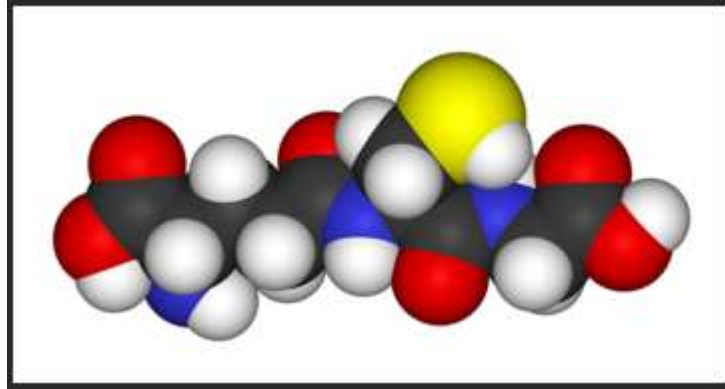
2.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX)

GPx birçok hücrenin sitozolünde bulunur ve hem hidrojen peroksitle hem de eğer bir fosfolipaz aracılığı ile membran fosfolipidlerinden ayrılabilirse, yağ asidi hidroperoksitleri ile etkileşime girmektedir. Kısaca, Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Antioksidan glutasyonun üç boyutlu görüntüsü Şekil 2.6.1.4.'te gösterilmiştir.

GPX enzimi, SOD enzimi tarafından oluşturulan hidrojen peroksiti, indirgenmiş glutasyon kullanarak (GSH), suya dönüştürür. Ve reaksiyona giren GSH, okside glutasyon (GSSG) formuna geçer ve GSSG, NADPH'a bağımlı glutasyon redüktaz tarafından sürekli indirgenir (Chan ve ark. 1994). Glutasyonun oksida ve redükte formları arasındaki dönüşümü Şekil 2.6.1.3.'te gösterilmiştir.

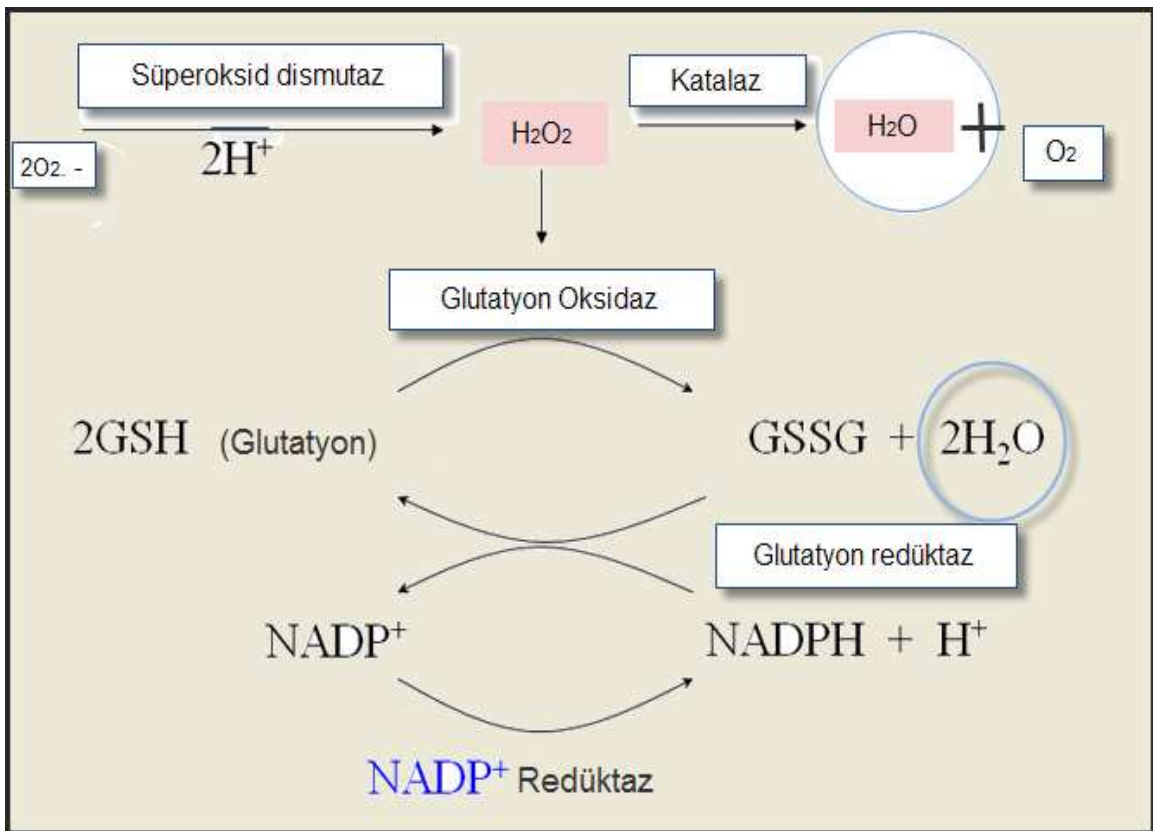


Şekil 2.6.1.3. Glutasyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü. (GSH: Redükte Glutasyon, GSSG: Okside Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz, GR: Glutasyon Redüktaz, H₂O₂: Hidrojen Peroksit) (Çetin, 2007).



Şekil 2.6.1.4. Antioksidan metabolit glutatyonun üç boyutlu görüntüsü. Sarı küre, antioksidan aktiviteyi sağlayan redox-aktif sülfür atomu. Kırmızı, mavi, beyaz ve koyu gri küreler; oksijen, nitrojen, hidrojen ve karbon atomlarıdır.

Antioksidan enzim sistemlerinin çalışma prensibi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir;



Şekil 2.6.1.5. Antioksidan Enzim Sistemleri

2.6.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Serbest radikaller yüksek reaktiviteye sahip çok kısa yarı ömürleri bulunan yapılardır ve hızla doku komponentleri ile reaksiyona girebilirler. En reaktif radikal hidroksil radikaldır. Teorik olarak serbest radikaller sonsuz sayıda reaksiyona neden olabilir. Bu ajanlar redükte edici veya oksitleyici olabilirler. Organizmada serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu reaksiyonlar radikalın bir diğer radikal ile veya radikal olmayan ajanlar ile karşılaşması ile oluşur. Serbest radikaller birbiri ile karşılaştığında kovalen bir molekül oluşturacak şekilde reaksiyona girerler. Serbest radikaller organizmada radikal olmayan birçok hücre bileşeni ile de reaksiyona girebilir ve bu bileşenlerin yapı ve işlevlerini değiştirir. Böylece serbest radikaller organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur, bu etkiler;

1. DNA yıkımı
2. Proteinlerin yıkımı ve enzim aktivitelerinde değişiklik
3. Hücre membran lipitleri ve hücre organellerinin yıkımı
4. Lipolusin pigmentlerin yıkımı şeklinde olur (Şimşek,1999).

Serbest radikaller düşük dozlarda olduklarında, çeşitli tepkimelerde arabulucu gibi rol oynarken, yüksek dozlarda olduğunda (oksidatif strese olduğu gibi), hücresel zararlara yol açarlar. Oksidan ve mutajen özellikte olan bu metabolizma yan ürünleri DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerde tahribata hatta hücrenin ölümüne neden olarak kronik hastalıkları başlatır (Gökpınar ve ark., 2006). Organizmada normalde oksidatif olaylara karşı korunma mekanizmaları olmasına karşın endojen superoksit radikal yapımında artış, melal komplekslerinin (hem proteinleri ve metalloproteinler gibi) ayrılması ve radikallere karşı savunmalarda eksiklik olması durumunda dokuda artmış oksidatif yıkım görülebilir (Şimşek, 1999).

2.6.2.1. Lipit Peroksidasyonu

Serbest radikaller, biyomoleküllerin lipid, protein, DNA, lipoproteinler, serbest aminoasitler, nükleik asitler, karbonhidratlar, enzimler ve bağ doku gibi önemli yapıları üzerine etki ederler. (Halliwell,1994.). Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve yaşlanma ile beyin fonksiyonlarında olabilecek zararlar gibi birçok patolojik etkiden sorumludur.

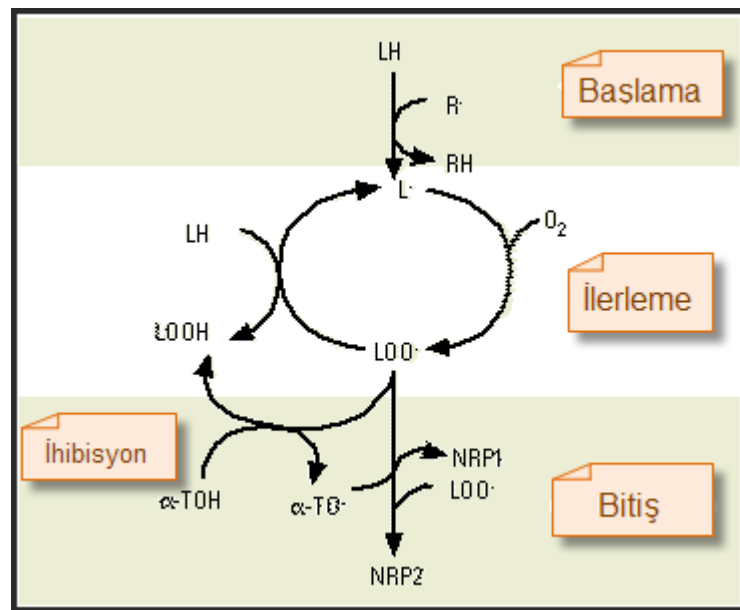
Lipidler; biyolojik moleküller içinde reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine en fazla maruz kalan moleküllerdir (Gutteridge ve Halliwell ,1989). Hücre membranı serbest oksijen radikalleri

ile hızla reaksiyona girebilen çoklu doymamış yağ asitlerinden (fosfolipidler, glikolipidler, gliseritler ve steroller) oldukça zengindir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Lipid peroksidasyonu membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur ve sonuçta ortaya çıkan biyoaktif aldehidler hücre hasarına neden olur (Benzer ve Ozan, 2003). Bu şekilde meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerleyerek serbest radikaller için devamlı bir kaynak sağlar (Cheeseman ve Slater ,1993).

Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir H atomu uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit radikali de hidroksil radikaline dönüşerek etkili olmaktadır. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikalin hidroksil radikali olduğu görüşü benimsenmektedir. Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden bir H atomunun uzaklaştırılması sonucu, zincir radikal niteliğini kazanmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali (L*) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılmasıyla dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Bu lipid peroksit radikalleri, zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek yürümektedir. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan manolindialdehit (MDA) miktarı tiobarbütirik asit testiyle ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, oluşan ara bileşiklerinden dien konjugatlarıyla lipid hidroperoksitlerinin ve son ürünlerden etan ve pentan gibi gazların ölçümü de son yıllarda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Lipid peroksidasyonunun, membranın lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile membran işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir (Erden,1992).

Lipid peroksidasyonu üç basamakta oluşur; bu basamaklar başlangıç, ilerleme ve bitişdir. Başlangıç basamağında (OH^-), perhidroksil (OOH^-) ve peroksinitrit (ONOO^-) gibi serbest radikaller doymamış yağ asit zincirinden (LH) bir hidrojen atomunu ayırır ve karbon merkezli lipid radikali ($\text{L}^\cdot$) oluşur. Daha sonra lipid radikalinin yapısına bir molekül O_2 'nin katılmasıyla

lipid peroksil radikali ($\text{LOO}^\cdot$) meydana gelir. Bu basamak lipid peroksidasyonu için ilerleme basamağıdır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Peroksil radikali, MDA ve proteinler gibi birçok kaynaktan, birincil oksidasyon ürünü lipid peroksidi oluşturmak için, bir tane hidrojen atomu (H) alabilir. Alternatif olarak; LOOH üretiminde α - tokoferol (α -TOH) hidrojen vericisi olabilir ve etkisiz α - tokoferol fenoksil radikaline (α -TO $^\cdot$) dönüşür. Antioksidanlar ve diğer inhibitörler olmasaydı, $\text{LOO}^\cdot$ bir başka lipid molekülünden (LH) bir hidrojen atomu alarak; radikal zincirini başlatan daha yüksek reaktif karbon radikalini ($\text{L}^\cdot$) üretecekti. Lipid peroksidasyonunun bitiş yani son kısmında herhangi iki radikal, radikal olmayan formlara dönüşmektedir. Radikal olmayan ürünler kararlıdır ve lipid peroksidasyonunu başlatamazlar (Kelly ve ark., 1998).



Şekil 2.6.2.1. Lipid Peroksidasyonu Oluşum Basamakları (Waldeck ve Stocker, 1996).

2.6.2.2. Lipid Peroksidasyonu Ölçümü için; HPLC Cihazı Ve Tekniği

Bir karışımı oluşturan bileşiklerin veya maddelerin iki ayrı faz arasında ki dağılımı ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak nitelik ve nicelik yönünden ayrıştırılması işlemi kromatografi olarak bilinmektedir. Kromatografide iki önemli nokta; maddenin saptanması ve saptanan maddenin karışım içinde ne kadar miktarda bulunduğu tespitidir. Sıvı kromatografisinin, belirli aparatlar kullanılarak günümüzde en gelişmiş kullanım şekli, HPLC cihazı ile yapılan ayırma işlemidir. HPLC genellikle uçucu olmayan organiklerin tespitinde kullanılan bir cihazdır. Bu yöntemle aminoasitlerin, proteinlerin, vitaminlerin, nükleik asitlerin, hidrokarbonların, yağ asitlerinin, karbonhidratların, pestisitlerin, antibiyotiklerin, ilaçların ve fenollerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bazı durumlarda kolon öncesinde bir ön kolon

bulunabilir ve bu ön kolonun amacı mevcut analizin gerçekleştirildiği kolonun ömrünü uzatmak ve girişim yapabilecek kirlenici parametreleri önlemektir. HPLC de analitik kolondan çıkan numuneler detektöre gelir ve tayin edilerek kaydedilir. Ölçüm aralığının hassasiyetine ve tespit edilecek bileşiğin türüne göre uygun taşıyıcı solvent, kolon ve detektör tasarımı yapılmalıdır. Kullanılan solventler su, hekzan veya metanol olabilir.

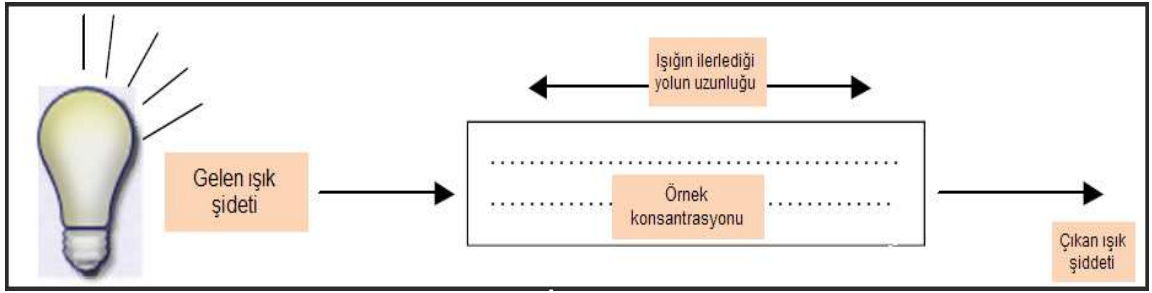
HPLC'de kolon uzunluğu 10 ile 30 cm arasında değişir. Kolon çapları ise 4-10 mm arasındadır. Ve kolon içinde kullanılan dolgu malzemesi tekdüze yapıda ve çapı ise 3-10 µm arasındadır. Genelde kullanılan dolgu malzemesi inert karakterdeki silika türündendir. HPLC cihazı ile ölçülmesi planlanan moleküller, içi özel maddelerle doldurulmuş paslanmaz çelik kolonlardan geçirilerek, yüksek basınçta (10- 400 kgf/cm²) birbirlerinden ayrılmasını ve ayrılan maddenin özelliklerine göre özel tasarlanmış dedektörler kullanılarak miktarlarını ölçmeye yarayan bir cihazdır.

HPLC cihazı kullanılarak analitik ayırma işleminin diğer sıvı kromatograf yöntemlerine göre avantajlı olmasının nedeni; daha duyarlı bir yöntem olması, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklık etkisi ile kolayca bozunabilen maddelerin saptanması için uygun olması ve en önemlisi toplumun ve sanayi alanının ve birçok bilim dalının asıl ilgilendiği bileşiklere (proteinler, lipitler) uyarlanabilir olmasıdır.

2.6.2.3. Enzim Etkinliği için Spektrofotometrik Yöntem

Bir spektrofotometrede ölçülmekte olan numuneyi ışıklandırmak için bir ışık kaynağı kullanılır. Cisim tarafından yansıtılan ışık, bir spektruma ayrıştırılarak bir ön değerlendirmeden geçer. Spektrum her bir dalga boyundaki ışık miktarını ölçen bir diyot düzeni üzerine düşer ve bu spektral veriler daha sonra işlemciye gönderilir ve X,Y ve Z değerleri elde edilmek üzere orada seçilen ışık kaynağına göre 2° veya 10° standart gözlemci fonksiyonları ile çarpılır. Bir spektrofotometrenin geometrisi ile ışık kaynağı, numune düzlemi ve dedektörün düzenlemesi kast edilir. Doğrusal geometri (45°/0° veya 0°/45°) ve küre geometrisi (d/0° veya 0°/d) olmak üzere iki tane genel cihaz geometri kategorisi vardır. Geometri gösteriminde ilk açı aydınlatma açısını, ikinci açı ise ölçüm açısını belirtir. 45°/0° doğrusal geometrisinde aydınlatma açısı 45°, ölçüm açısı ise 0°'dir (İkiz ve Yüksel, 2006).

Spektrofotometrik ölçümde ışık absorpsiyonu, doğrudan örneğin içindeki renkli bileşenlerin konsantrasyonları ile ilgilidir. Bunu kısaca aşağıdaki şekil ile özetleyebiliriz.

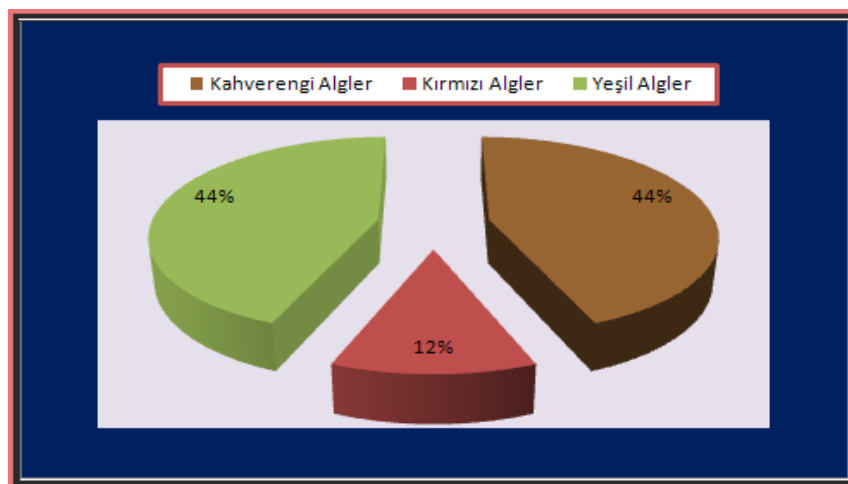


Şekil 2.6.2.3. Spektrofotometrede ışığın emilimi ve iletimi

Tüm spektrofotometre cihazları basit olarak şu parçalardan oluşmaktadır, ışık kaynağı, filtre veya monokromator, taşıma küveti, emilim ve iletimi ölçen bir dedektör. Spektrofotometre ile absorbans (A) ölçümleri yapılırken, içinde absorblayıcı özelliği olmayan çözücü (kör-maddeden başka her şey içerir) küvete konularak uygun dalga boyunda sıfır ayarı yapılır ve örnek küvete yerleştirilerek absorbans değeri okunur.

2.7. Çalışılan Alglerin Taksonomisi ve Genel Özellikleri

Bu çalışmada Türkiye'nin Ege Denizi kıyılarından; kahverengi algler (4 tür), kırmızı algler (1 tür) ve yeşil alglerden (4 tür) olmak üzere toplam 9 tür özdek olarak seçilmiştir. (Tablo 2.7.) Tüm özdek içerisinde kahverengi algler % 44, kırmızı algler %12 ve yeşil algler %44 oranındadır. (Şekil 2.7.) Bu alg türlerinden toplam 6 tür (*Cystoseira barbata*, *Sargassum acinarium*, *Cystoseira compressa*, *Codium fragile*, *Enteromorpha linza*, *Jania rubens*) antimikrobiyal aktiviteleri yönünden incelenmiştir, seçilen diğer 6 tür de (*Padina pavonica*, *Cystoseira barbata*, *Sargassum acinarium*, *Laurencia obtusa*, *Caulerpa racemosa* ve *Jania rubens*) antioksidan etkinlikleri yönünden incelenmiştir.



Şekil 2.7. Özdek olarak seçilen türlerin alg gruplarına göre dağılımları.

Tablo 2.7. Özdek olarak seçilen alg türleri ve örnekleme bölgeleri.

OCHROPHYTA (=KAHVERENGİ ALGLER)	Alg Türleri	Örnekleme Bölgesi ve Tarihi
Sphacelariales		
Cladostephaceae		
Genus SARGASSUM		
<i>Sargassum acinarium (Linnaeus) Setchell</i>	Ayvalık	2007
Fucales		
Cystoseiraceae		
Genus CYSTOSEIRA		
<i>Cystoseira barbata (Stackhouse)</i>	Çeşme	2008
<i>Cystoseira compressa (Esper)</i>	Çeşme	2008
Dictyotales		
Dictyotaceae		
Genus PADINA		
<i>Padina pavonica (Linnaeus) Thivy</i>		
RHODOPHYTA (=KIRMIZI ALGLER)		
FLORIDEOPHYCEAE		
Corallinales		
Corallinaceae		
Genus JANIA		
<i>Jania (Linnaeus) J.V. Lamouroux</i>	Çeşme	2008
Ceramiales		
Rhodomelaceae		
Genus LAURENCIA		
<i>Laurencia obtusa (Hudson) J.V. Lamouroux</i>	Çeşme	2007
CHLOROPHYTA (=YEŞİL ALGLER)		
ULVOPHYCEAE		
Ulvaes		
Ulvaceae		
Genus ENTEROMORPHA		
<i>Enteromorpha linza (Linnaeus) J. Agardh</i>	Kuşadası	2008
BRYOPSIDOPHYCEAE		
Bryopsidales		
Codiaceae		
Genus CODIUM		
<i>Codium fragile subsp. tomentosoides</i>	Çandarlı	2007
Caulerpaceae		
Genus CAULERPA		
<i>Caulerpa racemosa var. cylindracea</i>	Çeşme	2008

2.7.1. Kahverengi algler (Ochrophyta) Genel Özellikleri, Yayılış Alanları

Kahverengi algler 265 cins ve 1500 - 2000 arası türe sahip (Hoek ve ark., 1995) olup büyük bir çoğunluğu denizel ve kıyılardaki kayalara bağlanarak yaşar. Ancak yaşama alanları sadece kayalar değil aynı zamanda epizoik olarak çeşitli mollusk türleri üzerinde, epifitik olarak da diğer algler üzerinde ya da deniz çayırılarının [*Zostera* spp., *Posidonia oceanica* (L.) Delile vd.] kök ve yaprakları üzerinde gelişirler. 3 genus (*Pleurocladia*, *Lithoderma* ve *Bodanella*) tatlı sularda yaşamaktadır. Hücreleri tek çekirdekli ve hücre çeperleri selüloz ile pektinden oluşmuştur. Hücre duvarlarının içteki tabakası selülozdan dıştaki tabaka ise alginik asit ve fukoidan'dan oluşmuştur. Alginik asidin ticari değeri önemli olup *Durvillea* sp. ile *Laminariales* üyelerinin çoğunda bulunur. Pigmentleri klorofil a ve c, yeşil rengi örten karoten ve ksantofil (violaksantin, neoksantin, flavoksantin) ile esmer rengi veren fukoksantin de vardır. Bu pigmentlerden fukoksantin suların derinliklerine girebilen kısa dalgaları absorbe eder ve alglerin fotosentez yapabilmesine olanak sağlar. Kahverengi alglerde asimile ürünü dekstrin yapısında bir polisakkarid olan laminarin, alkol özelliğindeki mannit, yağlar ve tanik maddelerden fukosandır. Ayrıca yapılarında iyot da birikebilmektedir.

Phaeophyceae üyelerinin tek hücreli ve kolonial formları yoktur, bütün türleri çok hücreli, tallusun morfoloji ve yapısı çeşitli olup aralarında birkaç mm'lik mikroskobik algler (*Streblonema*, *Feldmannia*, *Myrionema* ve *Ascocyclus* gibi) olduğu gibi metrelerce uzunlukta olan türlerde [*Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh ve *Nereocystis luetkeana* (Mertens) Postels et Ruprecht] bulunmaktadır. Tallus tipleri üç şekildedir: *dallı-filamentli*, *pseudoparankimatik* (haplostik) ve *parankimatik* (polistik) yapıdadır (Taşkın ve Öztürk, 2005).

Üreme vejetatif, eşeysiz ve eşeyli olmak üzere üç şekilde olmaktadır. Eşeyli üremede gametler plurilokular gametangiumda üretilir. Gametler isogamet, anisogamet ve oogamet biçiminde oluşabilir. Eşeysiz üreme sporlarla olur, sporların çimlenmesiyle direkt bir tallus formu gelişir. Spor üreten sporangiumlar ya plurilokular ya da unilokular tiptedir. Geleneksel olarak sporangiumların yapısı, şekli, hücre sapı, boyutları, konumu ve seri sayısı tür tanımlanmasında kullanılmaktadır. Kahverengi alglerde çeşitli yaşam döngüleri gözlenir. Klasik sistematik yaklaşımlarda önemli bir alt sınıf ayırıcı olarak kullanılan bu yaşam döngüleri günümüz sınıflandırılmalarında kullanılmamalarına karşın önemli temel biyolojik özelliklerdendir. Buna göre yaşam döngüleri bakımından üç gruba ayrılır;

1) *İzomorfik yaşam döngüsü*: Gametofit ve sporofit nesiller morfolojik olarak birbirine benzerler. *Dictyotales*, *Sphacelariales*, *Tilopteridales*, *Ectocarpales* ordoları ve *Zanardinia* genusu (*Cutleriales*) bu tiptedir.

2) *Heteromorfik yaşam döngüsü*: Gametofit ve sporofit nesillerin büyüklükleri ve görünüşleri çok farklıdır. *Chordariaceae*, *Dictyosiphonaceae*, *Sporochinales*, *Desmarestiales*, *Laminariales*, *Scytosiphonaceae*, *Syringoderma* sp. ve *Cutleria* sp. bu tiptedir.

3) *Baskın sporofit nesilli yaşam döngüsü*: Gametofit nesil sadece gametlere indirgenmiş olup bitkiler yalnız diploid jenerasyona, yani sporofit talluslara sahiptir. Diplobiont türleri içerir. Gametler, sporofit üzerinde oluşan konseptakulumlarda oluşur. Eşeysiz üremeleri yoktur. *Fucales*, *Durvillaeales*, *Ascoseirales* ve *Syringoderma* spp.

2.7.1.1. *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

FUCALES

CYTOSEIRACEAE De Toni

Genus CYTOSEIRA C.A. Agardh

***Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh**

[*Abrotanifolia barbata* Stackhouse; *Cystoseira hoppii* C. Agardh].

C. barbata, yuvarlak ya da yassılaştırmış yapıda gövdeye benzer bir tallusa sahiptir. Korunaklı ve sert ortamlarda özellikle kayalar üzerinde tutunucu bir diskle tutunarak yaşayan, yeşilimsi – kahverengi tonlarda olabilen, Tallus boyu 50–60 cm uzunluğunda bazen daha fazla uzunluğa ulaşabilen büyük talluslu alglerdir. Dikey yükselen bir tek sap bulunur, silindirik ve üzerinde tofullar bulunur. Tallus tüm yapısı boyunca yaprakçıklar taşımaz. Dokuları deri gibi sert ve çok yoğun plektankimadan oluşmuştur. Gövde zengin dallanma gösterir. Bitkiyi su içinde dik tutmaya yarayan devamlı yada tek tek hava keseleri bulunur. Reseptekulumlar hava keselerinin ucunda ve iğ şeklindedir. Hava keseleri uçlarda zincir gibi ard arda dizilmişlerdir. *Cytoseira*' lar, çok yıllık Alg'lerdir. Fakat kış aylarında gelişmelerini durdurup dalcıklarını kaybederek soğuk periyodu uyku halinde atlatırlar. Akdeniz ve Atlantik kıyılarında yayılış gösterir. Ülkemizde Ege, Akdeniz ve Karadeniz'de bulunmaktadırlar. Ayrıca Türkiye'de alginat eldesinde denizden toplanarak değerlendirilmektedir (Öztürk, 1984).

Yayılışı: Türkiye (Öztürk,1996), Akdeniz (Ribera ve ark.1992), Hint Okyanusu (Silva ve ark.,1996).



Şekil 2.7.1.1. *Cystoseira barbata* türünün genel görünümü

2.7.1.2. *Sargassum acinarium* (Linnaeus) Setchell Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

FUCALES

SARGASSACEAE Kützting

Genus *SARGASSUM* C. Agardh

***Sargassum acinarium* (Linnaeus) Setchell**

[*Fucus acinarius* Linnaeus, *Sargassum linifolium* f. *gibraltica* Grunow , *Fucus linariifolius* Turner, *Fucus linifolius* Turner , *Sargassum linifolium* C. Agardh]

Sıcak denizlerde gelişme gösteren bu alg türü ağaçsı yapıdadır. Düzensiz, yapraksı dalları vardır, denatattallar birkaç cm genişliğinde olabilir, yuvarlak hava kesecikleri mevcuttur (Wallentinus, 2002).

Yayılışı: Türkiye (Güner ve ark, 1985, Cirik ve ark.,1990, Taşkin ve ark.,2008), Kuzey Amerika(Taylor, 1960), Afrika (Ribera ve ark.,1992).



Şekil 2.7.1.2. *Sargassum acinarium* türünün genel görünümü

2.7.1.3. *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

FUCALES

CYTOSEIRACEAE De Toni

Genus *CYTOSEIRA* compressa

Cystoseira compressa (Esper) Gerloff & Nizamuddin

[*Cystoseira compressa* f. rosetta (Ercegovic) Cormaci et al. ,*Cystoseira filicina* Bory de Saint-Vincent ,*Cystoseira abrotanifolia* f. fimbriata Sauvageau ,*Fucus compressus* Esper 1799,*Fucus fimbriatus* Desfontaines 1799, *Cystoseira fimbriata* Bory de Saint-Vincent 1832, *Cystoseira compressa* subsp. rosetta Ercegovic 1952]

Yuvarlak ya da yassılaşımış yapıda gövdeye benzer bir tallusa sahiptirler. Dokuları deri gibi sert çok yoğun plenktenkimadan oluşur. Gövde zengin dallanma gösterir. Çok yıllık alglerdir. Fakat kış aylarında gelişmelerini durdurup dalcıklarını kaybederek soğuk periyodu uyku halinde atlatırlar (Güner ve Aysel,1996).

Yayılışı: Türkiye (Güner ve ark.1985, Cirik ve ark. 1990, Ribera ve ark. 1992, Taskin ve ark. 2008), İsrail (Einav 2007), Yunanistan (Athanasiadis 1987, Ribera ve ark.. 1992) .



Şekil 2.7.1.3. *Cystoseira compressa* türünün genel görünümü

2.7.1.4. *Padina pavonica* (Linneaus) Thivy Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

DICTYOTALES

DICTYOTACEAE

Genus *PADINA*

Padina pavonica (L.) Thivy

[*Fucus pavonicus* L., *Padina mediterranea* Bory de Saint-Vincent; *Dictyota pavonia* (L.) Lamouroux; *Padina pavonia* J.V. Lamouroux; *Zonaria pavonia* C. Agardh]

P. pavonica 8-10 cm boyunda ve 10-12 cm genişliğinde olup tallus yuvarlak yelpaze şeklindedir. Gençken renk yeşilimsi sonraları üzerinde CaCO_3 biriktiğinden renk sarımsı-gri arasındır. Tallus uçları kıvrımlı olup, büyüme bölgesidir. Tallus 3-4 cm aralıklarla yarıklara sahiptir. Ayrıca tallus yüzeyi 1-2 mm aralıklı enine hatlarla zonlara ayrılmıştır. Bu tür monoiktir. Sıcak ve ılıman denizlerin üst infralittorelinde yayılış göstermekle birlikte kozmopolittir.

Yayılışı: Türkiye (Öztürk, 1988; Taşkın ve ark.,2008), Akdeniz (Ribera ve ark.,1992), İngiltere (Hardy ve Guiry,2003), Kanarya Adaları (Haroun ve ark.,2002), Hint Okyanusu (Silva ve ark.1996), Batı Atlantik (Wynne , 2005).



Şekil 2.7.1.4. *Padina pavonica* türünün genel görünümü

2.7.2. Yeşil Algler (*Chlorophyta*) Genel Özellikleri, Yayılış Alanları ve Elde Edilen Ürünler

Yeşil algler yaklaşık 500 genusa ait 8000 tür ile algler içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bunların % 90'ı tatlı sularda ve nemli topraklarda yayılış gösterirken geri kalan % 10'u ise denizlerin sığ bölgelerinde yayılış gösterir. Sucul ekosistemlerdeki floranın büyük bir bölümünü oluşturur. Yüksek bitkiler üzerinde epifit yaşayanları olduğu gibi mantar hifleriyle simbiyotik olarak likenleri oluşturan türleri de (*Chlorella sp. vb.*) vardır. Tatlısu üyeleri geniş kozmopolit türler olmasına karşın denizel olanların bazılarının daha dar yayılış alanlarında gözlemlendiği bilinmektedir. Paleontolojik olarak birçok fosil yeşil alg türünün çok eski dönemlerden (Palazoik dönem Silurian peryot, 435-460 milyon yıl önce) bu yana denizlerde olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra Charophyceae'nin kalkerli cinsleri ise Ordovisien peryodundan (500-530 milyon yıl önce) beri denizlerde olduğu bilinmektedir.

Chlorophyta klorofil a ve klorofil b içeren bütün algleri içerir. Tallus yapılanmaları açısından tek hücreli basit yapılı olanlardan, sifonlu ya da parankimatik talluslu gelişmiş türlere kadar birçok türü vardır. Hücre çeperleri genelde selüloz içerir ayrıca değişik maddeleri biriktirerek farklı renk ve görüntüler oluştururlar. Kloroplastlar yüksek bitkilere benzer özelliktedirler. Ancak şekilleri cins ve türlere göre değişiklik göstererek çan, yıldız, ağsı, oval vb. tiplerde olabilir. Hücreleri genelde tek nukleuslu ve bir kromatofor içerdiği gibi bazı türleri çok sayıda nukleus ve kromatofor içerebilmektedir. Yeşil alglerin kromatoforları *klorofil a ve b*, *karotin*, *ksantofil* ve *lutein* gibi pigment maddeleri taşır. Birçok yeşil alg üyesinde nişasta merkezi olarak adlandırılan pirenoidler bulunur. Asimile ürünleri nişastadır.

Bazı yeşil alglerde vejetatif yolla tallus parçalarından yeni bireyler gelişebildiği gibi türlere göre eşeysiz sporlar ya da gametlerle eşeyli üreme de görülür. *Eşeysiz üreme*; vejetatif hücrelerde oluşan bir veya daha fazla sayıda eşit boyda 2-4 kamçılı, çıplak ve stigmali zoosporlar olur. *Eşeyli üreme*; izogami, anizogami ve oogami sonucunda oluşan zigot ile olur. Gelişkin talluslara sahip birçok yeşil alg türünde sporofit ve gametofit nesil arasında izomorfik yaşam döngüsü baskın olarak gözlenir. Buna karşın bu tür yaşam döngülerinin gözlenmediği yeşil alg türleride vardır.

2.7.2.1. *Codium fragile subsp. tomentosoides (van Goor) P.C. Silva* Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

BRYOPSIDALES

CODIACEAE

Genus: *CODIUM*

Codium fragile subsp. tomentosoides

Codium fragile koyu yeşil renkli, dikotom dallanma gösteren, dik bir alg türüdür. Dalları kadifemsi yapıdadır. İnfralittoral zonda yaşarlar ve uzunlukları 1 metre kadar olabilir.

Yayılışı: Türkiye (Gallardo ve ark.,1993, Taskin ve ark.2008), Kanarya Adaları (John ve ark., 2004), Yeni Zelanda (Silva, 1979, Adams, 1994,)



Şekil 2.7.2.1. *Codium fragile ssp. tomentosoides* türünün genel görünümü

2.7.2.2. *Enteromorpha linza* var. *lanceolata* (Linnaeus) J. Agardh Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

ULVALES

ULVACEAE

Genus: ENTEROMORPHA

***Enteromorpha linza* var. *lanceolata* (Linnaeus) J. Agardh**

Tallus, 30 cm uzunluğunda, 5cm genişliğinde olabilir. Tallusta dallanma görülmez, merkezi tiptedir. Tallusun genişliği ortada en fazla seviyede olur, parlak yeşil renklidir.

Yayılışı: Türkiye (Güner ve ark.,1985, Cirik ve ark., 1990, Gallardo ve ark.1993), Antartika (Papenfuss, 1964).



Şekil 2.7.2.2. *Enteromorpha linza* var. *lanceolata* türünün genel görünümü

2.7.2.3. *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman & Boudouresque Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

BRYOPSIDALES

CAULERPACEAE

Genus: *CAULERPA*

Caulerpa Latince “yatay gelişen gövde” anlamına gelmektedir. Bu cinse ait türler, parlak floresan yeşil renklidirler. *Caulerpa* cinsinde gerçek bölme çeper bulunmaz fakat çeperden merkeze doğru ilerleyen sellüloz çubukçukları bulunur. *Caulerpa racemosa*, uç kısımlardan büyüyen ve yatay uzanan silindir şeklinde “stolon” bir gövde, buradan tutunma zeminine doğru çıkan renksiz ve çok dallı rizoidler ile yukarıya doğru dikey yükselen üzüm salkımı şeklinde dalcıklardan oluşmaktadır. Yaklaşık 3 cm boyundaki bu dalcıkların çapı 1 - 1,5 mm olup tepe kısımları yassıdır.

Yayılışı: Türkiye (Taşkın ve ark. 2008), Florida (Taylor 1960), Korea (Lee & Kang 2001).



Şekil 2.7.2.3. *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* türünün genel görünümü

2.7.3 Kırmızı Algler (*Rhodophyta*) Genel Özellikleri, Yayılış Alanları ve Elde Edilen Ürünler

Kırmızı alglerin Rhodophyceae adlı tek bir grubu bulunmakta ve kelime olarak *Rhodo*: Kırmızı, *Phykos*: yosun, *Phyta* bitki anlamına gelmektedir (Cirik ve Cirik, 2004). Hoek ve ark. 1995, kırmızı alglerin yaklaşık 5000-5500 tür ve 500-600 genusa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Büyük bir çoğunluğu denizlerde yaşamakla beraber çok az bir kısmı tatlı sularda yaşamaktadır.

Kırmızı algler denizlerde kayalara bağlı olarak yaşarlar. Bunun yanında nadiren de olsa, deniz kabukları ve *Zostera* türleri üzerinde yaşamaktadırlar (Hoek ve ark, 1995). Kırmızı algler, alglerin en gelişmiş grubunu oluşturmaktadır. Bu grup alglerin hücreleri eukaryot olup bir veya birden fazla çekirdek taşımaktadır. Bu alglerde çeşitli oranlarda bulunan fikoeritrin ve fikosiyenin, klorofil a ve klorofil d'nin yeşil rengini örterek bu alglere çeşitli tonlarda kırmızı rengi vermektedir (Cirik ve Cirik, 2004). Kırmızı algler, agar maddesi içermelerinden dolayı büyük bir ekonomik değere sahiptirler (Sukatar, 1983) .

Kırmızı algler *Bangiophyceae* ve *Florideophyceae* olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. *Florideophyceae* üyeleri, hücrelerinin birleşme noktalarında bir çeşit proteinsi tıkaç ya da kapak olan "pit plug" bulunması, kendine özgü gametangiumlara ve trikogine sahip olması, ayrıca hücrelerinde "Floridae Nişastası" depo etmesi ile karakteristiktir. Filogenetik araştırmalar *Florideophyceae* sınıfının iki ana kola ayrıldığını ortaya çıkarmıştır. Birinci grup; hücreler arası bağlantılarındaki pit plug yapılarını çevreleyen dış başlık katmanının varlığı ile karakteristik olup, *Acrochaetiales*, *Palmariales*, *Nemaliales*, *Corallinales*, *Batrachospermales* ve *Rhodogorgonales* ordolarını içine almaktadır. İkinci grup ise; iç başlık katmanını kaybetmiş olması ile karakteristik olup, *Gigartinales*, *Cryptonemiales*, *Rhodymeniales*, *Gracilariales*, *Bonnemaisoniales*, *Gelidiales*, *Ceramiales* ve *Ahnfeltiales* ordolarını kapsamaktadır. Bununla birlikte, çok hücreli karpogonial dallar, auxillar hücreler, ooblastlar, aksial ya da lateral karpogonial dallar her iki grupta da gelişmektedir (Öğretmen,2007).

Üremeleri esnasında meydana gelen eşey organlarının olmayışı dolayısı ile hareketsiz oluşları kırmızı alglerin tipik özelliklerindendir. Eşeyli üremeleri oogami ile olmaktadır. Ogon 'karpogon' adını alır ve bir kabul organı olan 'trikogin' ile sonlanır. Anteridiumlarda meydana gelen erkek gamet kamçısız olup "sperma" yada "spematium" adını alır. Döllenmeyi takiben zigot karpogonu terk etmeden çimlenerek vejetatif sporları meydana getiren "sporogon" iplikleri verir. Bunlara "gonimoblast" denir ve döl almaşı görülür (Güner ve Aysel, 1996).

2.7.3.1. *Jania longifurca* Zanardini Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

CORALINALES

CORALLINACEAE

Genus : *JANIA*

***Jania longifurca* Zanardini**

[*Corallina longifurca* Zanardini, *Corallina rubens* f. *longifurca* Zanardini, *Jania rubens* f. *longifurca* Mazza]

Tallus 1.8 – 2 cm uzunluğunda olup, silindirik ve dikotomik bir şekilde dallıdır. Eksen kalkerli bir yapıdadır. Tallus segmentleri 300µm uzunluğunda ve 100µm enindedir. Kozmopolit olan tür Akdeniz, Ege, Adriyatik ve İtalya kıyılarında yayılış gösterir (Taşkın,1999).

Yayılışı: Türkiye (Taşkın ve ark.,2008), Afrika,Tunus (Ben Maiz, ve ark.,1987), Kanarya adaları (Haroun ve ark.,2002)



Şekil 2.7.3.1. *Jania longifurca* türünün genel görünümü

2.7.3.2. *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux Sınıflandırması ve Genel Özellikleri

CERAMIALES

RHODOMELACEAE

Genus: LAURENCIA

***Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux**

[*Fucus obtusus* Hudson 1778, *Chondria obtusa* (Hudson) C. Agardh 1817, *Sphaerococcus obtusus* (Hudson) Wahlenberg 1826]

Yayılışı: Türkiye (Güven & Öztig 1971, Cirik ve ark.1990, Gómez Garreta ve ark. 2001, Taşkın ve ark. 2008), Romanya (Caraus, I. 2002), Güney Amerika (Taylor, 1960).



Şekil 2.7.3.2. *Laurencia obtusa* türünün genel görünümü

2.8. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

1. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-p

Stafilokoklar, üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan Gr(+) koklardır. Bilinen adı besiyerinde anaerop ve aerop koşullarda üretilirler. *S. aureus* bakterileri, küçük, yuvarlak, oval şekilli, gr (+) koklardır. İnsan sağlığı açısından önemli olan *S. aureus*, etken olduğu infeksiyonların klinik belirtilerine yol açan bir dizi hücre dışı enzim ve ekzotoksinlere sahiptir, örneğin koagülaz, alfatoksin, lökositin, eksfoliatin, enterotoksin, toksik şok toksini.

Patogenez ve semptomatik göz önüne alındığında *S. aureus*'un etkili olduğu hastalıklar, invazif infeksiyonlar (yara infeksiyonları, sinüzit, orta kulak iltihabı v.b.), toksikozlar (gerçek toksikozlar, enterotoksinle kontamine besinlerin yenmesiyle oluşan besin zehirlenmeleridir. Birkaç saat gibi kısa süren bir kuluçka döneminin ardından bulantı, kusma ile seyreden bir hastalık tablosu ortaya çıkar), karışık formlar (toksik şok sendromu).

Tedavide cerrahi girişimlerin yanı sıra antibiyotik uygulanması tedavinin ağırlık noktasıdır. Antibiyotik tedavisi için, suşların %70-80 'inin penisilaz üretmesi nedeniyle, penisilinaza dirençli penisilin seçilir. Bu penisilinler metisiline dirençli suşlara etkili değildirler. Çoğul direnç olması durumunda vankomisin veya teikoplanin seçilir. TSST-1 oluşumu klindamisin düşük dozlarıyla engellenir. *S. aureus*'un birincil yerleşim yeri deri ve mukozalardır. En önemli koruyucu önlem ellerin yıkanmasıdır (Kayser ve ark., 2002).

2. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Staphylococcus epidermidis; hareketsiz, kapsülsüz, gram pozitif koklardır. Koagülaz ve mannitol negatiftir. Koagülaz negatif stafilokoklar içerisinde hastalık etkeni olarak en sık (%70-%80) izole edilen tür *S. epidermidis*'tir. Deri ve mukoza normal florasında bulunurlar. Fırsatçı patojendirler, bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde tek başına veya başka bakterilerle enfeksiyon oluşturabilirler (Kayser ve ark., 2002).

Kültürlerinde ve enfeksiyon materyalinden yapılan direkt preparatlarda dörtlü, ikili veya düzensiz gruplar halinde veya tek tek koklar halinde görülürler. Kanlı agarda kirli beyaz renkte ve *S. aureus*'a göre küçük, konveks, düz ya da granüllü yüzeyli koloniler yaparlar. *S. aureus*'tan koagülaz negatif, mannitole etki etmemesi ve aflatoksin yapmaması özellikleri ile ayırt edilir.

Yumuşak doku, yara enfeksiyonları, pnömoni, merkezi sinir sistemi hastalıkları, artrit, yapay protez ve katater kullanımı sonrası sepsis gibi enfeksiyonlarda etken olarak bulunurlar. (Bilgehan,1992). Bu bakterinin oluşturduğu enfeksiyonlar kural olarak, yabancı cisimlerin varlığıyla ilişkilidir. Bu enfeksiyonların patogeneğinde, stafilokokların yabancı yüzeylerin üzerine yapışması ve biyofilm oluşturma yetenekleri rol oynamaktadır. Koagülaz negatif stafilokokların pek çok kemoteropotiğe karşı dirençli olmaları nedeniyle, etken oldukları enfeksiyonların antibiyotik tedavisinde sıklıkla sorunlar ortaya çıkmaktadır (Kayser ve ark. , 2002).

3. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Enterokoklar gram pozitif, birkaç istisna dışında hareketsiz, aerobik veya fakültatif anaerob, katalaz negatif (oksijen varlığında gelişen ve pseudokatalaz üreten bazı türler hariç), oval kok formunda, genellikle diplokok veya kısa zincir görünümündedirler. Normal yaşam ortamları insan ve hayvanların barsakları olan enterokoklar besinlerde de bulunabilirler. Hareketsiz katalaz negatif olup, D grup antijenine sahiptirler. 45°C'de, %6,5 NaCl' de ve pH 9'da üreyebilirler. Klasik bir fırsatçı patojen olarak patojeniteleri sınırlıdır. Ancak hastane enfeksiyonlarında karışık flora kapsamında başka etkenlerle birlikte etken olarak sıklıkla izole edilir. İzole edile suşların yaklaşık %90 'ı *E. faecalis*, %10'u *E. faecium* 'dur. En çok korkutucu olan enterokok enfeksiyonu endokardittir. Endokardit tedavisinde bir aminopenisilin, streptomisin veya gentamisin ile birlikte verilmelidir. Tedavide başarının ön koşulu kombinasyonun bakterisid etkili olmasıdır (Kayser ve ark., 2002). *E. faecalis* insan ve hayvan dışkısında bulunan fekal

orijinli bir türdür. Ancak bu bakterilere insan ve memeli hayvanların dışkı dışında toprak, su, bitki ve böcek gibi birçok çevrede de rastlanmaktadır.

4. *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Bacillus cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunan, Gram pozitif, aerob, endospor oluşturan ve katalaz olumlu mikroorganizmalardır. *Bacillus subtilis* kirpikli bir basil olduğu için, hareketli, sporları oval ve subterminaldir. Kapsülsüz, gram pozitif, aerob, oda sıcaklığı ve zenginleşmiş besiyerinde rahatlıkla üreyebilen, R tipi koloniler yapan, saprofit yani doğada yaygın olarak bulunan bir basildir. Bakteri genellikle 1,5-3 µm boyunda, 0,5-0,8 µm eninde, çomakçık şeklinde bir yapıya sahiptir.

B. subtilis termotoleran bir bakteridir yani termofil bakterilere göre daha düşük sıcaklıklarda yaşayabilirler. Isıya dayanıklı olmaları onların doğada yaygın bir grup olmalarını sağlar (Öner,1987). Saprofit bir bakteri olmakla beraber, doku içine veya göz içine bulaşarak kolaylıkla enfeksiyonlara neden olabilir.

5. *Bacillus cereus* ATCC 7064

B. cereus sporlu, Gram pozitif, fakültatif anaerob çubuk formu bir bakteridir. Sporlar sentral veya subterminal pozisyonunda olup vejetatif hücrenin genişliğinden daha geniş değillerdir. Bu bakteri çok yaygın olarak hemen her tarafta bulunmaktadır. Toprak ve bitki örtüsünde yaygın olarak bulunmaktadır. 1-1,2 µm ile 3,0-5,0 µm arasında hücre boyutuna sahip olan bu bakterinin optimum gelişme sıcaklığı genellikle 30°C'dir. Santral veya subterminal yapıda, elipsoidal sporlara sahip olan bakteri, peritrik flagellaları sayesinde hareketli ve aerobiktir (Tunali, 2000).

B. cereus iki farklı tipte hastalığa neden olabilmektedir. Bunlardan biri "akut başlayan kusma tipi sendrom" olup daha çok pişmiş pirinç ve pirinçli gıdalarda oluşan toksinle ilişkilidir. Kusturucu toksin olarak isimlendirilen bu toksin ısı ile pH 'nın yanı sıra tripsin ve pepsin enzimlerine de dirençlidir. Diğer hastalık tipi ise "uzun sürede gelişen diyare tipi sendrom" olarak bilinmektedir ve daha geniş bir gıda grubu ile ilişkilidir. *B. cereus*'un çok sayıda (>10⁶ /g) alınması ile bireylerde gıda zehirlenmesi gözlemlenebilir. Özellikle *B. cereus* ile kontamine olmuş gıdalar pişirildikten sonra yeterince soğutulmadıklarında veya gıdaların hazırlanması ile tüketimi arasındaki süre uzadığında, canlı ve ısıya dirençli olan sporların çimlenmesi sonucu organizma çoğalıp, gıda zehirlenmesine neden olabilecek şekilde toksin oluşturabilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

6. *Salmonella typhimurium* CCM 5445

Gram negatif, çomakçık şeklinde, peritrik kirpikleri ile hareketli (*S. gallinarum-pillorum* hariç), sporsuz, kapsülsüz, aerob ve fakültatif anaerob bir bakteridir. *S. typhimurium*'un etken olduğu hastalıklar, ateş, bulantı, kusma ve çeşitli abdominal şikayetler ile seyreden gastroenterit ve bakteriyemi ile metastatik lokal infeksiyonlardır.

Tüm dünyada, antibiyotiklere dirençli *Salmonella* suşlarının insidansındaki artış önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Türkiye'den de çoklu dirençli *S. typhimurium* suşları bildirilmektedir. Özellikle ampisilin (A) amoksisilin/klavulanik asit (A/C), kloramfenikol (C), streptomisin (S), sulfisokzasol (Su) ve tetrasiklin (T)'e dirençli olan ve direnç modeli AA/CCSSuT şeklinde gösterilen çoklu dirençli *S. typhimurium* suşlarının Türkiye'de pek çok şehirde izole edildiği bildirilmiştir (Erdem ve ark. 2007).

7. *Enterobacter cloacae* ATCC 13047D

Enterobakteriler, Gram negatif, sporsuz basiller olup genel olarak 0.3 – 1.0µm eninde 1.0 – 6.0µm boyunda mikroorganizmalardır. Enterobakteriler toprakta, suda, bitkilerde yaygın olarak bulundukları gibi insan ve hayvanların bağırsaklarında yerleşirler.

Enterobacter türlerinde antibiyotiklere karşı hem kromozomal kodlanan hem de plazmidlerle taşınan ve türler arasında aktarılabilen direnç saptanmıştır. Beta laktam antibiyotiklerin ampirik kullanımlarının artması nedeniyle bu antibiyotiklere direnç gelişimi artmakta ve çoklu antibiyotik dirençli suşlar ortaya çıkmaktadır. *Enterobacter* türleri içerisinde infeksiyon etkeni olarak en sık *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. sakazakii* ve *E. agglomerans* izole edilmektedir. *Enterobacter* suşları sağlıklı bireylerde nadiren infeksiyona sebep olan fırsatçı patojendirler. Bu suşlar *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerine göre antiseptiklere ve antimikrobiyal ajanlara büyük oranda dirençlidirler (Yazıcı ve ark., 2004).

8. *Escherichia coli*

Gram negatif, düzgün çomak şekilli bir bakteri olan *E. coli* peritrik kirpiklidir. Laktozu fermente eder. O- ve H- antijenlerinden kaynaklanan karmaşık bir antijen yapısı vardır. Fimbriya antijenleri de tanımlanmıştır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır (Todar, 2008).

E. coli bakterileri, makroorganizmada normal flora üyesi olarak bulundukları yerlerden başka yerlere ulaşırlarsa ve bu aslında ait olmadıkları yerlerde üremeleri için elverişli koşullar

varsa, barsak dışı infeksiyonlara neden olurlar. İdrar yolu infeksiyonları, en sık rastlanan *E. coli* infeksiyonudur; ya sadece alt üriner sistemi tutar veya böbrek kapsülünü tutar. Sepsis, yara infeksiyonları, safra kesesi infeksiyonları, apandisit, peritonit, erken ve yenidoğanda menenjit diğer infeksiyon türleridir.

E. coli Gram (-) bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır.

9. *Proteus vulgaris* ATCC 6897

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Proteus* bakterileri Gram negatif, 1-3x0.4 - 0.6 mikron boyutlarında, bazen daha uzun ya da kokobasil görünümünde, sporsuz ve kapsülsüz bakterilerdir. Toprakta, suda ve dışkıyla kontamine materyallerde bulunurlar. *Proteus* bakterilerince oluşturulan idrar yolu infeksiyonları uzun süreli ve persistan infeksiyonlardır ve böbrek taşı oluşumuna neden olabilirler. *Proteus*'ların neden olduğu üriner sistem infeksiyonları tedavisi güç bakteriyemiye neden olabilir. Böyle hastalarda ölüm oranı % 15 - 88 arasında değişmekle birlikte, bu oran predispozan faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu bakteriler ayrıca; yara infeksiyonları, menenjit, organ apseleri, özellikle yenidoğanlarda göbek kordonu infeksiyonları ve bu infeksiyonlardan kaynaklanan epidemiler halinde görülebilen sepsis ve menenjitlere neden olabilmektedirler. *Proteus* bakterilerinin de dahil olduğu *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan bakterilerde geniş spektrumlu β -laktamlar, florokinolonlar ve aminoglikozidler kapsayan çoğu antimikrobiyale direnç gelişimi önemli bir problemdir (Bozkurt ve ark., 2005).

10. *Candida albicans* ATCC 10321

İnsanda hastalık yapan kandidaların başında *C. albicans* gelir. *C. albicans*'lar içerisinde GDH18, GDH3339, CA1957, ATCC 28366 ve ATCC 10321 suşları daha virülandır. Diğer kandidalar insanda seyrek olarak hastalık yapar veya avirülandır. Diğer kandidalar gibi konağa girmeden önce maya fazındadır, buna Y fazı (Yeast phase, saprofit faz) denir. Konak dokuya temas ettikten bir süre sonra psödemiçelyumlar geliştirerek hastalık yapan fazına, yani M fazına (Mycelial phase, hyphal phase) geçerler. Hiçbir hastalık oluşturmada çok sayıda kandida ağız, barsak, vajina, üst solunum yolu ve deri florasında bulunur, bu floraların doğal bir üyesidir. Oportunistik patojendir. İmmün yetersizliğin bulunduğu durumlarda yüzeysel ve derin mikozlara sebep olur (Aydın ,2004).

Kandidalar, insan ve hayvanlarda mukozalarda kommensal olarak bulunurlar, bu nedenle kandida infeksiyonları, endojen infeksiyonlar kabul edilir. Kandida mikozları sıklıkla direnci zayıflamış, özellikle hücresel bağışıklık sistemi tahrip olmuş hastalarda görülür. En sık olarak mukozalar tutulur nadiren deri ve iç organlarda da yerleşme olur (Kayser ve ark.,2002).

3. ÖZDEK VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Alg Örneklerinin toplandığı İstasyonlar

Cunda (Alibey Adası)

İstasyonumuz Cunda (Alibey) Adası'nı kapsamaktadır. Ayvalık'ı açık denize karşı kapayan bu adaya bir köprü yolu ile karayolundan geçmek mümkündür. Ayvalık merkeze yaklaşık 8km uzaklıktadır. Adada istasyonumuz, balıkçıları ve marinayı geçtikten sonraki sahil bölümünü kapsamaktadır. Marinadan başlayan ve betonlarla oluşturulmuş düz kıyı devamında yerini sadece yaklaşık iki metre eninde kumluk plaja bırakır. Sahili taşlık ve kumluk olup zemini sadece ince kumluktur.

Adanın güney sahillerinde ilk girişte kumul sahillerin arasında *Sargassum acinarium* türlerine rastlanmaktadır. Cunda (Alibey Adası) adasında ise *Sauvageaugloia griffithiana* (Griffiths ex Harvey) G. Hamel ex Kylin, *Cladosiphon contortus* (Thuret) Kylin, *Cladosiphon zosterea* (J. Agardh) Kylin, *Ascocylus orbicularis*, *Sargassum acinarium* en çok gözlenen türlerdir. İstasyona ait uydu görüntüleri Şekil 3.1.'de, örneklerin toplandığı kıyı şeridi haritası Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.



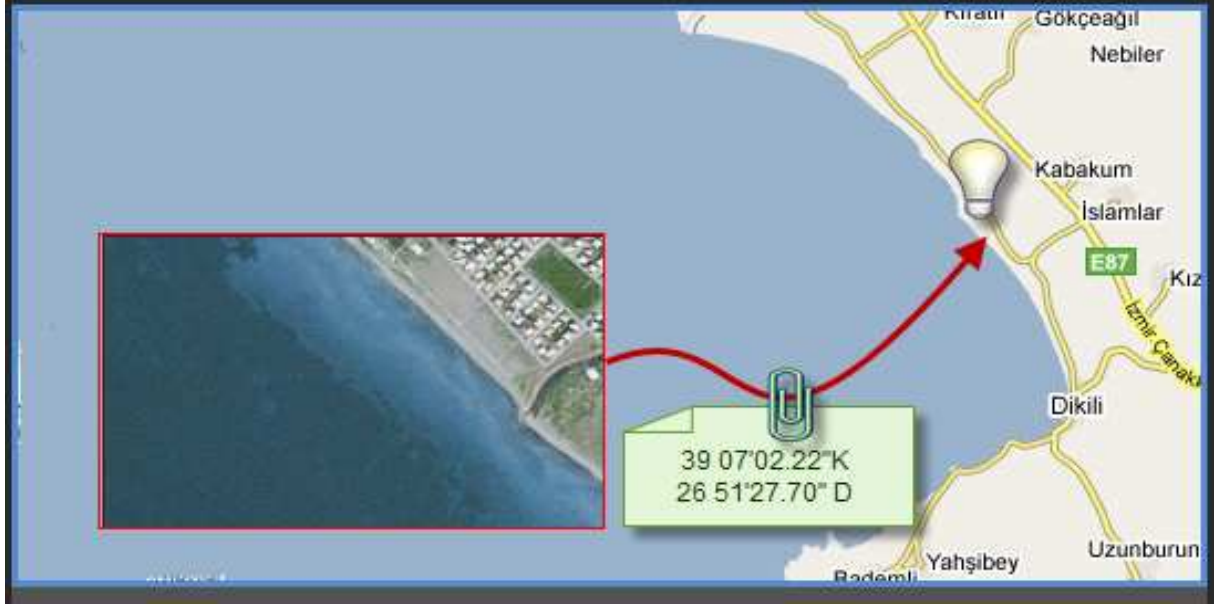
Şekil 3.1. Cunda adası kıyı şeridi haritası



Şekil 3.2. Cunda adası örneklerin toplandığı kıyı şeridi

Dikili

Bu istasyonumuz Dikili Kabakum mevkiindedir. 100 metre genişliğinde yaklaşık 4 km'lik bir sahil şeridini kapsamaktadır. İstasyona ait uydu görüntüleri Şekil 3.3.'de, örneklerin toplandığı kıyı şeridi haritası Şekil 3.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Dikili kıyı şeridi haritası



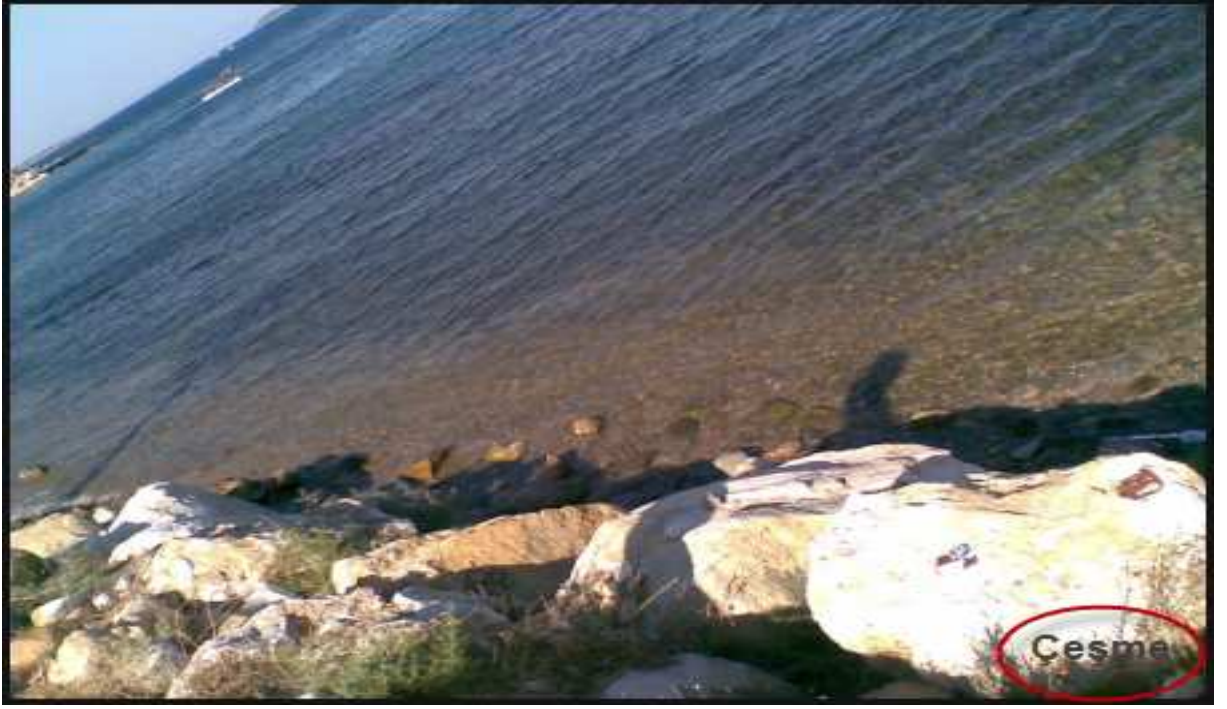
Şekil 3.4. Dikili örneklerin toplandığı kıyı şeridi

Çeşme

Bu istasyonumuz İldırı sahillerini kapsamaktadır. Sahil çizgisi güneş ışınlarını normal saatlerinde almaktadır, örneklerin toplandığı sahil çizgisinde ilk 0-0,5 metrede kayalıklar arasında ve üzerinde *Padina pavonica* türlerine rastlanmıştır, *Jania longifurca* türünde her mevsim de az ya da çok gözlenen türler arasındadır, taşlık, kayalık bir sahil şeridinde sahip olan koyda yaygın olarak bulunan diğer türler ise; *Cystoseira barbata*, *Caulerpa racemosa*, *Jania rubens*, *Laurencia obtusa* 'dır. İstasyona ait uydu harita görüntüleri Şekil 3.5.'te, örneklerin toplandığı kıyı şeridi haritası Şekil 3.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Çeşme kıyı şeridi haritası



Şekil 3.6. Çeşme örneklerin toplandığı kıyı şeridi

Kuşadası

Bu istasyonumuz Kuşadası Onura Otel civarındaki kıyı şeridini kapsamaktadır. Örnekleme Onura Otel önündeki açık plajdan yapılmıştır. Açık denize bakan bu sahil şeridinde yer yer kayalıklar bulunmaktadır ve bu kayalıklar üzerinde yaygın olarak bulunan türler *Enteromorpha linza* , *Scytosiphon lomentaria*, *Halopteris filicinae* türleridir.



Şekil 3.7. Kuşadası kıyı şeridi haritası



Şekil 3.8. Kuşadası örneklerin toplandığı kıyı şeridi

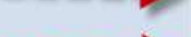
3.1.1. Örnekleme

Ege Bölgesi kıyılarından, toplam 6 Alg türü için arazi çalışması yapılmıştır. Çalışma öncesi örnekleme yapılacak olan bölgeler belirlenmiştir, örnekleme 4 farklı istasyondan yapılmıştır. Bu istasyonlar; Ayvalık-Alibey Adası, Dikili, Çeşme, Kuşadası bölgelerindeki kıyı kesimlerdir, bölgelere ait harita ve koordinat bilgileri şekil 3 -1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 'de verilmiştir. Örnekleme zamanı Eylül 2007 ile Mart 2008 tarihleri arasındır. Arazi çalışması için uygun olan bölgeler seçilerek, gerekli hazırlıklar yapılmıştır ve yaklaşık 0 -0,5 m derinlikten, elle alg türleri toplanmıştır, toplanan türler kıyıda hemen ön ayıklamadan geçirilmiş ve poşetlenerek, üzerlerine yer- saat ve tür adı belirten etiketler ile aktivite kaybını engellemek adına, soğuk zincir kurallarına uygun olarak laboratuvara getirilmiştir, laboratuvarında örnekler tekrar iki kez, steril eldiven kullanılarak elle ayıklanmış ve distile sudan geçirilmiştir, uygun poşetleme ve etiketleme yapılarak antimikrobiyal ve antioksidan aktivite tayini için; kullanılıncaya kadar - 20° C'de bekletilmiştir.

3.1.2. Alet ve Ekipmanlar

Çalışma süresince kullanılan alet ve ekipmanlar Tablo 3.1.2. 'de gösterilmiştir. Çalışma süresince kullanılan alet ve ekipmanlara ait resimler Şekil 3.1.2.1 – 3.1.2.2.- 3.1.2.3 – 3.1.2.4 ve 3.1.2.5 'te gösterilmiştir. Kullanılan alet ve ekipmanlar, Deneysel sürece uygun olarak, sterilizasyon, ekstraksiyon, antimikrobiyal deneme, mikrobiyolojik ekim, steril çalışma, antioksidan deneme, saklama, ayırma-safılaştırma, protein tayini, absorbans ölçümü amaçlarına uygun olarak temin edilerek kullanılmıştır.

Tablo 3.1.2. Kullanılan alet ve ekipmanlar

	Alet ve Ekipmanlar	Amaç
Soksile cihazı		Ekstraksiyon - antimikrobiyal
Otoklav		Sterilizasyon - antimikrobiyal
Etüv (37° ve 27°)		İnkübasyon - antimikrobiyal
Isıtmalı çalkalayıcı		Ekstraksiyon - antimikrobiyal
Besiyerleri		Mikrobiyolojik ekim - antimikrobiyal
Cam malzemeler		Deney aşaması – antimikrobiyal, antioksidan
Plastik malzemeler		Deney aşaması –antimikrobiyal, antioksidan
Derin dondurucu (-20°)		Saklama – antimikrobiyal
Buzdolabı (+4°)		Saklama - antimikrobiyal
Derin dondurucu (-80°)		Saklama - antioksidan
HPLC Cihazı		Ayırma, saflaştırma - antioksidan
Kimyasal malzemeler		Çözgenler, tampon çözeltiler – antimikrobiyal, antioksidan
Spektrofotometre		Absorbans değeri – antioksidan
Biyogüvenlik kabini		Steril çalışma-antimikrobiyal
Rotary evaporator		Çözgenlerin uzaklaştırılması-antimikrobiyal
Toplam Protein Saptama Kiti		Protein tayini -Antioksidan
Spektrofotometre		Antioksidan
Su banyosu		Antioksidan



Şekil 3.1.2.1. Spektrofotometre (Bioteck)



Şekil 3.1.2.2. Soksile Cihazı



Şekil 3.1.2.3. Santrifüj(Hettich)



Şekil 3.1.2.4. Rotary evaporator (Heidolph)



Şekil 3.1.2.4. HPLC Cihazı(Schimadzu)



Şekil 3.1.2.5. Biyogüvenlik Kabini (Metisafe)

Mikrobiyolojik Besiyerleri**Besiyeri 1. Mueller Hinton Broth**

<u>İçerik</u>	<u>gram/Litre</u>
Infusion from meat	2,0
Casein peptone	17,5
Starch	1,5
Calcium chloride	0,050
Magnesium sulphate	0,020

Besiyeri 2. Tryptic Soy agar

<u>İçerik</u>	<u>gram/Litre</u>
Pepton from casein	15
Pepton from soy meal	5
NaCl	5
Agar-agar	15

Besiyeri 3. Potato Dextrose Agar

<u>İçerik</u>	<u>gram/Litre</u>
Potato infusion	4
D(+)glucose	20,0
agar-agar	15,0

3.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi için Ekstrelerin Hazırlanması

Cystoseira barbata, *Jania longifurca*, *Enteromorpha linza*, *Codium fragile*, *Cystoseira compressa* ve *Sargassum acinerum* 'a ait örnekler uygun koşullarda kurutulduktan sonra aseptik şartlara uyularak, bir mekanik parçalayıcı yardımıyla toz haline getirilerek, elekten geçirilmiş ve rutin yöntemleri uygulamak üzere 10'ar gr tartılmıştır. Örneklerin kurutulup toz haline getirilmesine ilişkin resimler şekil 3.2.1. ve 3.2.2.'de gösterilmiştir. Toz haline getirilmiş olan örneklerden her bir tür için 10'ar gram tartılarak ayrı ayrı poşetlenmiş ve üzerilerine tekrar etiketleme yapılmıştır. İki ayrı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır; ilk yöntem olan soksile cihazı ile ekstraksiyon yöntemine göre; tüm örnekler için soksile cihazında ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. İki farklı çözgen için 10'ar gr tartılarak, yaklaşık 150-200 ml kloroform ilavesi ile soksile cihazı içerisine yerleştirilmiştir.

Yaklaşık 8 saatlik ekstraksiyon işlemini takiben, yöntem diğer çözgen metanol için uygulanmıştır. Bu metoda göre elde edilen tüm ekstratlar kullanılıncaya kadar -20° C'de saklanmıştır.

Diğer ekstraksiyon yöntemi olarak çalkalamalı inkübatör cihazı kullanılmıştır, örnekler 5 gün süre ile 30°C'de çalkalamalı inkübatörde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. 10 'ar gram tartılan örnekler 250 ml lik erlenler içerisine toz halinde konulmuştur ve üzerilerine 2 farklı çözgen olarak metanol ve kloroform dan 50'şer ml ilave edilerek inkübatöre yerleştirilmiştir.



Şekil 3.2.1. Alg örneklerinin kurutulma işlemi (1)



Şekil 3.2.1.Alg örneklerinin kurutulma işlemi(2) **Şekil 3.2.2.**Alg örneklerinin toz haline getirilmesi

3.2.1. *Cystoseira compressa* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması

Cystoseira compressa örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası

örnekler daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Cystoseira barbata soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>	
<u>Metanol</u>	123,3032 gr	— 121,3712 gr	= 0,9320 gr Y : % 9,320
<u>Kloroform</u>	140,6105 gr	— 139,9694 gr	= 0,6411 gr Y : % 6,411

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 4660 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril ependorf tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 3205,5 µl kloroform ilave edilmiştir.

Cystoseira barbata çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>	
<u>Metanol</u>	128,5890 gr	— 128,2206 gr	= 0,3684 gr Y : % 3,684
<u>Kloroform</u>	128,5892 gr	— 128,2206 gr	= 0,3686 gr Y : % 3,686

3.2.2. *Cystoseira barbata* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması

Cystoseira barbata örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası örnekler daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Cystoseira barbata soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>	
<u>Metanol</u>	122,9518 gr	— 122,5538 gr	= 0,398 gr Y : %3,980
<u>Kloroform</u>	128,3552 gr	— 128,2275 gr	= 0,1277 gr Y : %1,277

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 1990 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon

içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril ependorf tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 638,5 µl kloroform ilave edilmiştir.

Cystoseira barbata çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>		<u>Dara</u>
<u>Metanol</u>	128,632 gr	—	128,200 gr = 0,432 gr Y : % 4,32
<u>Kloroform</u>	122,673 gr	—	122,547 gr = 0,126 gr Y : % 1,26

Verim hesaplaması sonrası 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeninden ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 2160 µl metanol, kloroform ekstresinin üzerine 630 µl kloroform eklenmiştir.

3.2.3. *Sargassum acinarium* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstaksiyonu ve Verim Hesaplaması

Sargassum acinarium örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası örnekler daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Sargassum acinarium soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>		<u>Dara</u>
<u>Metanol</u>	129,1406 gr	—	128,3246 gr = 0,816 gr Y: % 8,16
<u>Kloroform</u>	231,124 gr	—	231,052 gr = 0,072 gr Y: % 0,72

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 4080 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril ependorf tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 450 µl DMSO ilave edilmiştir.

Sargassum acinarium çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>
<u>Metanol</u>	128,4824 gr —	127,6480 gr = 0,8344 gr Y: % 8,344
<u>Kloroform</u>	122,7777 gr —	122,5604 gr = 0,2173 gr Y: % 2,173

Verim hesaplaması sonrası 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeninden ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 4172 µl metanol, kloroform ekstresinin üzerine 1086,50 µl kloroform eklenmiştir.

3.2.4. *Codium fragile* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstraksiyonu ve Verim Hesaplaması

Codium fragile örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası örnekler daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Codium fragile soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>
Metanol	122,937 gr —	122,555 gr = 0,382 gr Y: % 3,82
Kloroform	121,4686 gr —	121,4074 gr = 0,0612 gr Y: % 0,612

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 1910 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril ependorf tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 306 µl kloroform ilave edilmiştir.

Codium fragile çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>
<u>Metanol</u>	121,686 gr —	121,351 gr = 0,335 gr Y: % 3,35
<u>Kloroform</u>	121,543 gr —	121,325 gr = 0,218 gr Y: % 2,18

Verim hesaplaması sonrası 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeninden ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 1775 µl metanol, kloroform ekstresinin üzerine 1090 µl kloroform eklenmiştir.

3.2.5. *Enteromorpha linza* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstaksiyonu ve Verim Hesaplaması

Enteromorpha linza örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası örnekler daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Enteromorpha linza soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>		<u>Dara</u>	
Metanol	140,3330 gr	—	139,94 gr	= 0,393 gr Y: % 3,93
Kloroform	132,993 gr	—	132,674 gr	= 0,319 gr Y: % 3,19

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 1965 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril ependorf tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 1595 µl DMSO ilave edilmiştir.

Enteromorpha linza çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>		<u>Dara</u>	
<u>Metanol</u>	65,1190 gr	—	64,8277 gr	= 0,2913 gr Y: % 2,913
<u>Kloroform</u>	64,7891 gr	—	64,6982 gr	= 0,0909 gr Y: % 0,9

Verim hesaplaması sonrası 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeninden ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 1456,5 µl metanol, kloroform ekstresinin üzerine 450 µl kloroform eklenmiştir.

3.2.6. *Jania longifurca* Soksile ve Çalkalayıcı Ekstaksiyonu ve Verim Hesaplaması

Jania longifurca örneğinden iki ayrı ekstraksiyon yöntemi için 10'ar gr örnek tartılmıştır. Örnekler sırasıyla metanol ve kloroform çözgenlerinde soksile cihazında 8 saat ve çalkalamalı inkübatörde ise 5 gün süre ile ekstraksiyona tabi turulmuştur. Ekstraksiyon sonrası örnekler

daha küçük balonlara alınmış ve döner buharlaştırıcıda 40-45 °C'de çözgenlerin uçurulması sağlanmıştır ve her bir ekstre için verim hesaplanmıştır.

Jania longifurca soksile cihazı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>
Metanol	121,878 gr —	121,361 gr = 0,517 gr Y: % 5,170
Kloroform	128,4724 gr —	128,2313gr = 0,2411 gr Y: % 2,411

Her bir ekstrede, 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeni ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 2585 µl metanol ilave edilerek kalıntı ekstre balon içerisinde iyice çözündürülmüştür ve steril enderford tüp içerisine alınarak etiketleme yapılmıştır. Bu işlem kloroform ekstresi içinde yeterli miktar çözgen eklenmek koşulu ile aynı şekilde yapılmıştır. Kloroform ekstresinin üzerine 1205 µl kloroform ilave edilmiştir.

Jania longifurca çalkalayıcı ile ekstraksiyon sonrası verim;

	<u>Dara+örnek</u>	<u>Dara</u>
<u>Metanol</u>	64,9905 gr —	64,8277 gr = 0,1628 gr Y: % 1,628
<u>Kloroform</u>	128,5301 gr —	128,2313 gr = 0,2988 gr Y: % 2,988

Verim hesaplaması sonrası 50 µl 'de 10 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde kendi çözgeninden ilave edilmiştir. Metanol ekstresinin üzerine 814 µl metanol, kloroform ekstresinin üzerine 1494 µl kloroform eklenmiştir.

3.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması

3.3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Aktivasyonu

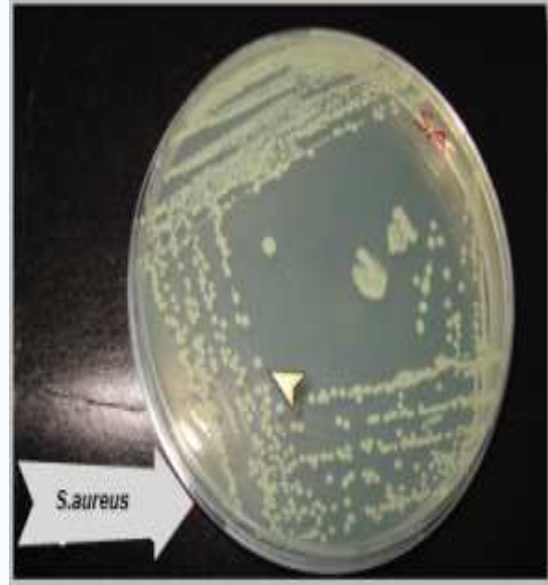
Mikroorganizmaların aktivasyonu kısacası inokulum hazırlamak antimikrobiyal dirençlilik testindeki en önemli basamaklardan birisidir. Bu basamak; uygun kolonilerin seçimini, broth içerisine aktarılmasını ve çözeltinin standardize edilmesini içermektedir. İnokulasyon iki şekilde hazırlanabilmektedir. Birinci durumda, 35° C'de steril agar medyumları üzerinde büyütülmüş, 18-24 saatlik genç kültürlerden temiz izolatlar gözle seçilir ve iyi izole olmuş kolonilerden 4 veya 5 tanesi steril pamuklu çubuk veya öze yardımı ile alınır ve broth içeren tüplere veya steril tuz çözeltisi içeren tüplere alınarak vortekslenir. Daha sonra bakteri süspansiyonu 0,5 MacFarland standartı ile kıyaslanır. Tüpler üzerinde siyah çizgiler olan beyaz bir kağıt önünde tutularak gözle kıyaslama yapılırsa, ayırım çok daha kolay olur. Eğer bakteri süspansiyonu, MacFarland 0,5

tüpü ile aynı yoğunlukta değilse, steril fizyolojik su çözeltisi eklenerek yoğunluk azaltılabilir veya daha fazla bakteri kültürü eklenerek yoğunluk artırılabilir (Coyle, 2005).

Diğer yöntemde ise daha önceden kültüre edilmiş kolonilerden öze veya steril pamuklu çubuk yardımı ile alına 4-5 temiz koloni, steril broth tüplerine inokule edilirler ve 18-24 saat inkübasyona bırakılırlar, inkübasyon sonrası 0,5 MacFarland standartına göre bulanıklık ölçümü yapılır ve inokülüm antimikrobiyal dirençlilik testi için kullanıma hazırdır (Jorgensen ve ark. 1999).



Şekil 3.3.1. *Escherichia coli*



Şekil 3.3.2. *Staphylococcus aureus*



Şekil 3.3.3. *Bacillus cereus*



Şekil 3.3.4. *Bacillus subtilis*



Şekil 3.3.5. *Enterobacter cloacae*



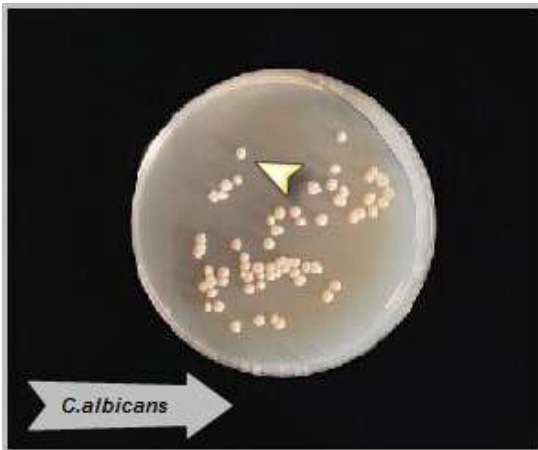
Şekil 3.3.6 *Proteus vulgaris*



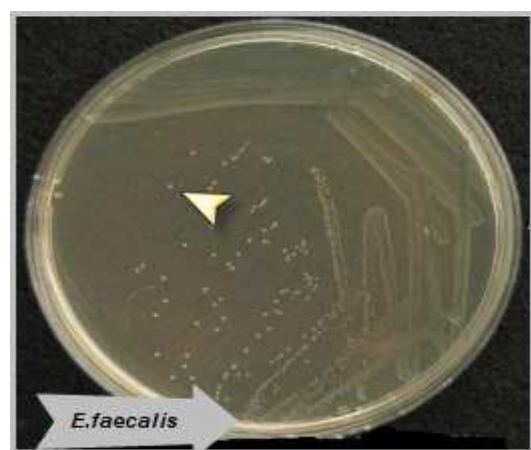
Şekil 3.3.7. *Salmonella typhimurium*



Şekil 3.3.8. *Staphylococcus epidermidis*



Şekil 3.3.9. *Candida albicans*



Şekil 3.3.10. *Enterococcus faecalis*

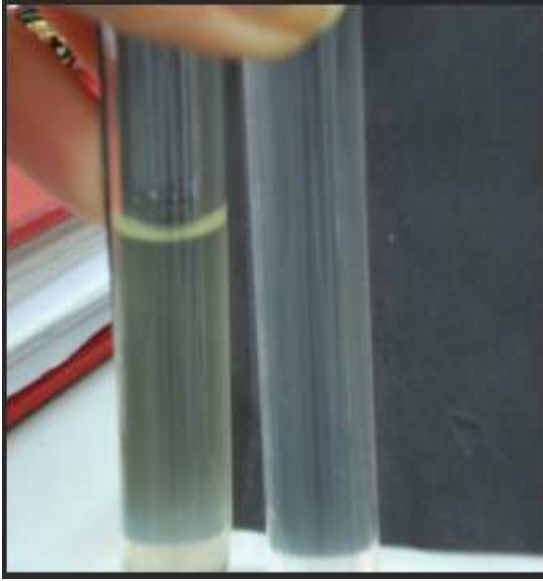
3.3.2. Mac Farland Yöntemi ile Bakteri Yoğunluğunun Belirlenmesi

Baryum klorür ile sülfürik asit karıştırılınca meydana gelen baryum sülfat, ortamda opak renkli bir bulanıklık oluşturmaktadır. Çok kompleks yapıda olmayan bir besiyerinde üretilen bakteriler de (örneğin *Rhizobium*) aynı renkte bir bulanıklık meydana getirmektedirler. Baryum klorür ile sülfürik asit oranlarının değiştirilmesiyle farklı bulanıklıkta çözeltiler oluşmakta olup, bunlara karşılık gelen bakteri sayısı da, bulanıklığın artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

Tüp no	%1 BaCl ₂ (ml)	%1 H ₂ SO ₄ (ml)	Bulanıklığa karşılık gelen bakteri sayısı (X 10 ⁶ / ml)
1	0,1	9,9	300
2	0,2	9,8	600
3	0,3	9,7	900
4	0,4	9,6	1.200
5	0,5	9,5	1.500
6	0,6	9,4	1.800
7	0,7	9,3	2.100
8	0,8	9,2	2.400
9	0,9	9,1	2.700
10	1,0	9,0	3.000

Tablo 3.3.2. Mac Farland Standart Tablosu

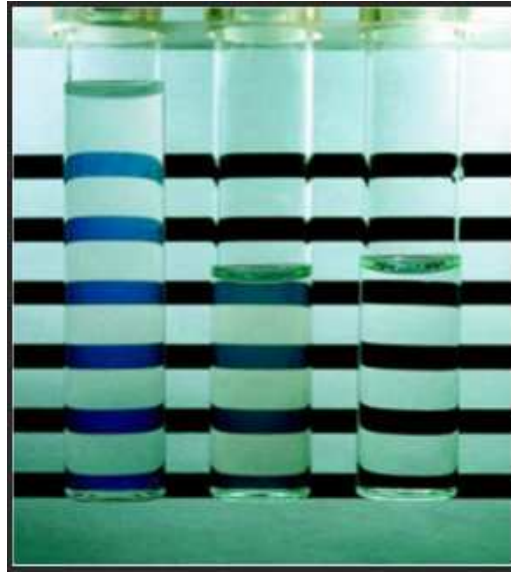
Temiz bir tüp içine, çizelgede verilen oranlarda % 1'lik H₂SO₄ ve % 1'lik BaCl₂ 'ün suda hazırlanmış çözeltilerinden katılıp iyice karıştırılır ve buharlaşmayı önlemek amacıyla tüplerin ağzı sıkı bir şekilde kapatılır. Birbirini takip eden iki tüp arasında 300 x 10⁵ adet bakterinin oluşturacağı kadar bir bulanıklık farkı vardır. Eğer elde edilmek istenen sayı bundan daha hassas sınırlar arasında ise, o zaman baryum klorür ve sülfürik asidin % 0,1'lik çözeltileri çizelgede verilen oranlar ile karıştırılır. Ya da %1 'lik baryum klorürden çizelgede olduğu gibi daha hassas ilaveler yapılır. Bu durumda tüplerdeki %1 'lik sülfürik asit hacmi = 10 ml - baryum klorür hacmi ile hesaplanmalıdır. Örneğin, kültür süspansiyonunda bulunan sayı 4 ve 5 nolu tüp arasında bir bulanıklık gösteriyorsa, o zaman baryum klorür miktarının 0,4-0,5 ml arasında değiştiği 10 tüplük bir seri daha hazırlanır. Bu takdirde elde edilen seriye ait bakteri sayısı da çizelgedeki gibi değişecektir (Gürgün ve Halkman, 1990).



Şekil 3.3.2.1. Mac farland standartı



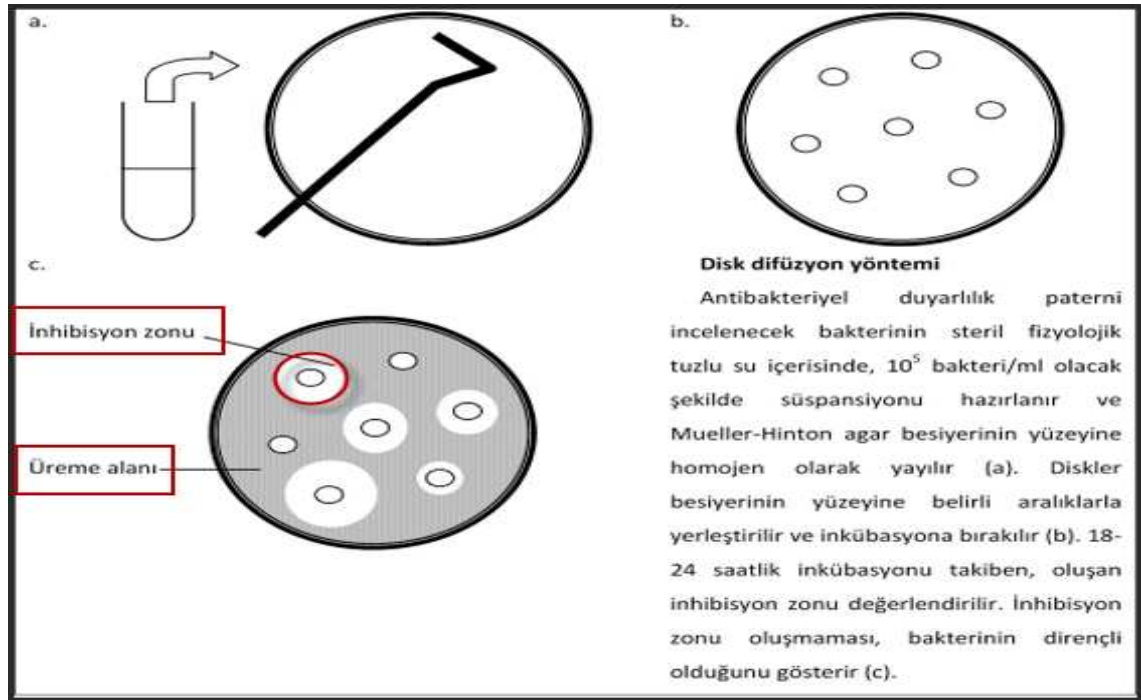
Şekil 3.3.2.2.Mac Farland No:1 ve No:0,5 Standartları



Şekil 3.3.2.3. Mac Farland 0,5 'in karşılaştırılması. Soldan sağa doğru, Mac farland 0,5 standartı, *E.coli* 25922 ATCC suşu 0,5 Mac farland standartına inoule edilmiş, inokulasyon yapılmamış tuzlu su (Gürgün ve Halkman, 1990).

3.3.3. Kuyu - Difüzyon Tekniğine Göre Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Sıvı mikroorganizma süspansiyonu 100 µl olacak şekilde 45 °C'lik su banyosundaki Tripton Soya Agar ile önce karıştırılmış daha sonra petrilere aktarılacak homojen bir karışım halinde donması sağlanmıştır. Besiyeri donduktan sonra belli aralıklarla 6-7 mm çapında açılan kuyucuklara 50 µl ham ekstrakt direkt olarak aktarılmış yada disklerle (6 mm çapında) emdirilmiş olarak yerleştirilmiştir. Besiyerleri daha sonra 37 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası gözlenen inhibisyon zonu (kuyucuk veya diskin çapı dahil), ekstraktın biyolojik aktivitesinin indikatörü olarak kabul edilmiş ve çapı mm cinsinden ölçülmüştür. 6-10 mm arası inhibisyon zonu zayıf etkili, 10-14 mm'ye kadar olan inhibisyon zonları orta derecede aktif, 14 mm'den fazla inhibisyon zonları yüksek derecede aktif olarak kabul edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tayininde disk difüzyon yöntemi ve kuyu difüzyon yöntemlerinin her ikisi de kullanılmaktadır. Çalışmamızda alg ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğini kuyu difüzyon tekniğine göre saptadık. Kuyu difüzyon tekniği; 6-7 mm çapında kuyucukların açılması esasına dayanırken, disk-difüzyon tekniği, 6 mm çapındaki disklerin doğrudan petrilerin üzerine yerleştirilmesi esasına dayanmaktadır. Şekil 3.3.3. disk difüzyon tekniğine göre antimikrobiyal aktivite tayini işlem basamaklarını göstermektedir.



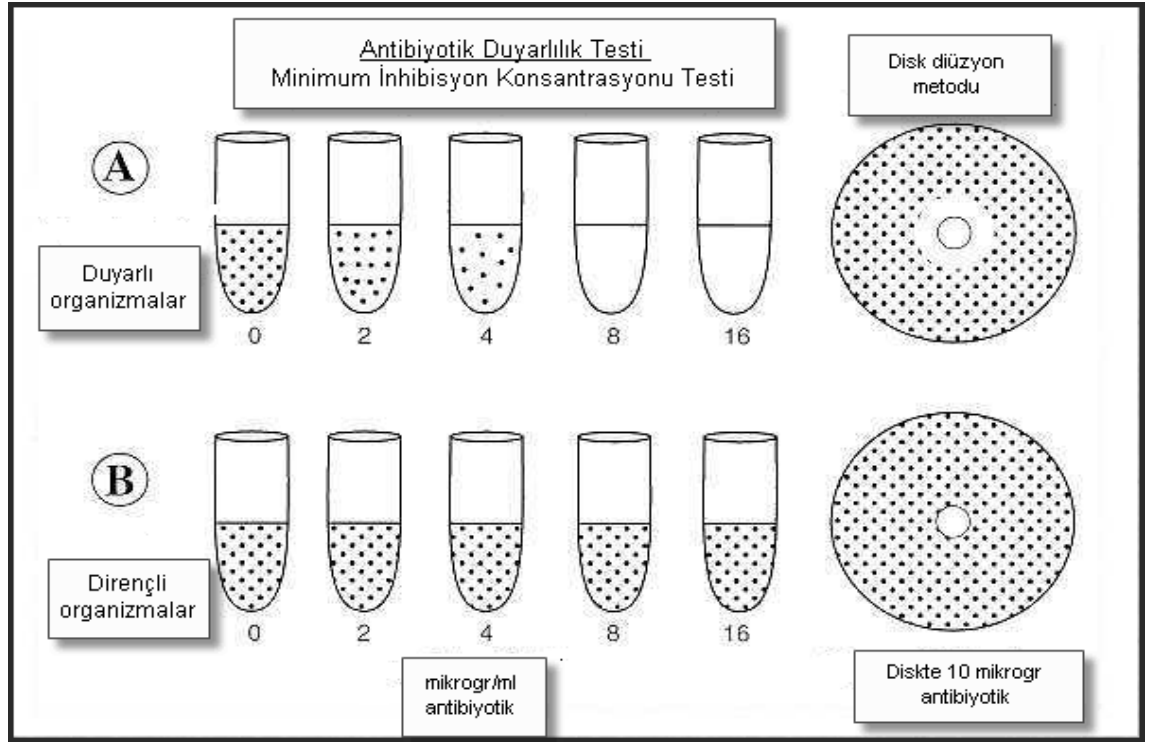
Şekil. 3.3.3. Disk difüzyon tekniğine göre antimikrobiyal aktivite tayini.

3.3.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK), bir günlük inkübasyon sonrası, mikroorganizma gelişimini belirgin şekilde engelleyen en düşük antimikrobiyal konsantrasyon olarak bilinir. MIK yöntemi genellikle, dirençleri tespit etmek adına diagnostik tanı laboratuvarlarında kullanılır. Bununla birlikte yeni antibiyotik arayışlarında olan araştırma laboratuvarlarında da sıklıkla kullanıldığı görülür. Kısaca MIK testleri organizmaların antibiyotiklere olan hassasiyetini saptamada 'altın standart' olarak bilinir (Andrews,2001).

Çalışmamızda minimum inhibisyon konsantrasyonu elde etme çalışmaları, Eloff 1998'e göre mikropilaka seri seyreltme yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada sadece antimikrobiyal aktivite çalışması sonuçlarına göre duyarlı bulunan mikroorganizmalar kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalar, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus* ve *Streptococcus epidermidis* türleridir. Bu mikroorganizmalara karşı dirençli bulunan ekstraktlar ise *Sargassum acinarium*, *Cystoseira compressa*, *Enteromorpha linza* ve *Codium fragile* türlerinin metanol ekstraktlarıdır. MIK testi aşağıdaki çalışma basamaklarına göre yapılmıştır (Eloff,1998).

1. Bakteriler 37°C'de 1 gün inkübasyonda aktiveleştirilmişlerdir.
2. Mac farland 0.5 skalasına ($1-2 \times 10^8$ mikroorganizma) göre organizmaların sayısı ve bulanıklığı ayarlanmıştır, streil fizyolojik tuzlu su kullanılarak bulanıklık azaltılmıştır.
3. 96 kuyucuklu bir plaka üzerine soldan sağa doğru seri ekstrakt dilüsyonları belirlenir; 8 veya 12 kez dilüsyon yapılacağı düşünülerek numaralandırma yapılır.
4. Herbir kuyucuğa 100µl distile su eklenir.
5. Sadece 1. kuyucuk içerisine 100µl ekstrakt eklenir. Ve 1. kuyucuktan alınan 100µl ekstrakt 2. kuyucuğa ve burada alınan 100µl ekstrakt 3. kuyucuğa eklenerek seri dilüsyonlar yapılır.
6. Herbir kuyucuk üzerine 100µl mikroorganizma eklenir.
7. Mikropilaka 37°C'de 1 gün süre ile inkübasyona bırakılır ve ertesi gün renk değişimi izlenerek yorum yapılır.



Şekil 3.3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi İçin İki Yöntem : (A) Disk-difüzyon yöntemi. (B) Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) yöntemi. Örnekte iki farklı mikroorganizma türü, aynı antibiyotiğe karşı her ki yöntemle de test ediliyor. Birinci örnekte duyarlı mikroorganizma için MİK değeri 8 µg/ml, ikinci örnekte dirençli mikroorganizmanın MİK değeri ise > 16 µg/ml (Woods , Washington,1995)

Şekil 3.3.5. MİK Testi sonuçları (1)



Şekil 3.3.6. MİK Testi Sonuçları (2)



Şekil 3.3.5. ve şekil 3.3.6.'da, çalışmamıza ait MİK Testi sonuçları gösterilmiştir ve örneklerle ait MİK değerleri çalışılan konsantrasyonlar arasında saptanamamıştır. Başlangıç konsantrasyonu daha çok artırılarak denemeler tekrar edilebilir. Bizim başlangıç made konsantrasyonumuz 100µl'dir, bu oran standart MİK testlerinde önerilen başlangıç ekstrakt miktarıdır. Kullanılan başlangıç ekstrakt miktarı artırılarak, organizmaları inhibe eden minimum konsantrasyon saptanabilir.

3.4. Antioksidan Aktivite İçin Kullanılan Alg Örnekleri ve Ekstrelerin Hazırlanması

Antioksidan etkinlik ölçümü için çalışılacak alg örnekleri, *P. pavonica* (Linnaeus) Thivy, *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, *S. acinarium* (Linnaeus) Setchell, *Laurencia obtusa natalensis* Kylin, *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman & Boudouresque, *J. longifurca* Zanardini dir. Örneklerin toplanması, laboratuvar ortamına getirilmesi, homojenizasyon ve çalışma yöntemleri, aşağıda basamaklar halinde anlatılmıştır.

3.4.1. Antioksidan Aktivitenin Saptanması için Ekstrelerin Hazırlanması ve Homojenizasyon

Çalışılacak alg örnekleri, belirli bölgelerden toplandıktan sonra laboratuvara getirilir ve distile su kullanılarak iki kez ayıklama yapılır, enzim etkinliği ölçümü yapılacağı için, enzim aktivitesinin bozulmaması için, örnekler kullanılıncaya kadar -20 °C'de bekletilir.

Enzim etkinliği ölçümü için doku homojenizasyonu;

- Öncelikle pH 7,2'de, 0,05M potasyum fosfat tampon hazırlanır.
(0,87 gr K_2HPO_4 ve 0,68045 gr KH_2PO_4 tartılır ve 100 ml distile su içinde çözülür, 0,05 M, pH 7,2 de tampon çözelti elde edilmiş olur.)
- Herbir alg örneğinden 4 gr. örnek tartıldı ve 10 ml potasyum fosfat tamponu ile dilue edildi ve homojenizatör kullanılarak, kuru buz üzerinde örnekler homojenize edilir.
(Şekil 4.4.1 ve Şekil 4.4.2)
- Homojenatlar yine kuru buz üzerinde 11.200 g'de, +4 °C'de santrifüj edilir ve üstteki süpernatant kısmı temiz ependorf tüplere alınarak yine kuru buz üzerinde -80 °C derin dondurucuya yerleştirilerek,kullanılıncaya kadar buarada muhafaza edilir(Cavaş ve Yurdakoç, 2005). (Şekil 4.4.3 ve şekil 4.4.4)



Şekil 3.4.1. Tampon çözelti ile homojenize edilmiş örnekler



Şekil 3.4.2. Kuru buz üzerinde homojenatlar

Reaksiyon denkleminde de görüldüğü gibi, NADPH'ın azalmasına bağlı olarak, 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

REAKTİFLER ve HAZIRLAMA

- Potasyum fosfat tamponu (50 mmol/L, pH 7.0); 50 mM KH_2PO_4 (anhydrous) (3,4025 g/500 mL) ve K_2HPO_4 (anhydrous) (1,748 g/200 mL) çözeltileri, karışımın pH'sı 7.0 oluncaya kadar azar azar karıştırılır.
- GSH, 1,5 mM; 0,0046 g GSH (Sigma G6529, 307,3 g/mol) 10 mL fosfat tamponunda çözülür.
- NADPH, 0,2 mM; 0,0017 g NADPH (4Na-tuzu) (Sigma N7505, 833,4 g/mol) 10 mL fosfat tamponunda çözülür. Çözelti günlük olarak hazırlanır.
- NaN_3 , 1 mM; 0,0065g NaN_3 (65,01 g/mol) 100 mL fosfat tamponunda çözülür.
- Kümen hidriperoksid (CuOOH), 1,5 mM; 5 kat konsantre olmak üzere 13.6 mL CuOOH (Sigma C0524, 152,2 g/mol, d=1.05 g/mL, %80) 50 mL fosfat tamponunda seyreltilir.
- Glutasyon redüktaz (GR), 1 U/L; 80 μL GR (Sigma G4751, 500 units, Lot 45H8066) reaksiyon karışımına (**RK**) katıldı.
- EDTA, 1 mmol/L; 0,0372 g/100 mL olacak biçimde fosfat tamponunda çözülür.

YAPILIŞI

- Örnekler ön homojenizasyon yapılır. Kullanılincaya kadar -80°C 'de saklanır.
- EDTA, NaN_3 , NADPH ve GSH çözeltilerinden 5'er mL ve GR enziminden de 80 μL alınarak RK oluşturulur.
- Spektrofotometrenin su sirkülasyonu da 37°C 'ye ayarlanır.
- Spektrofotometre 340 nm'ye ayarlanır ve saf su ile sıfırlanır.
- Bir deney tüpüne, 1.7 ml RK ve 0.1 mL hemolizat koyulur.
- 37°C 'deki su banyosunda yaklaşık 10 dakika bekletilir.
- Ayarlanan sıcaklığa gelen karışıma 0.2 mL CuOOH eklenir ve hızla karıştırılarak küvete alınır.
- Reaksiyon 3 dakika boyunca izlenir.
- Enzim aktivitesi; $\Delta A/\text{dak.} \times 1/6.3 \times 10^{-3} \times 2.0/0.1$ formülü ile U/L ($\mu\text{mol}/\text{dak}/\text{L}$) olarak hesaplanır (Paglia , Valentin, 1967; Saydam, 1995).

3.4.3. HPLC Yöntemi ile Malondialdehit Ölçümü (MDA)

Lipit peroksidasyonunun yan ürünlerinden biri olan MDA, kırmızı bir bileşik veren TBA ile ölçülür. Tiyoarbitürik asit (TBA) testi; TBA reaksiyonundan sonra oluşan kırmızı kromoforun kolorimetrik ölçümüne dayanır. TBA testi, birçok çalışma ve yayında, bir lipit peroksidasyon belirleyicisi olarak kullanılmıştır. TBA; MDA'nın fluorometrik ve kolorimetrik ölçümü için birçok çeşitli bileşik ile (silik asit, prostoglandinler, deoksiriboz ve aldehitler gibi) reaksiyona girer. Kolorimetrik MDA ölçümü yanında, HPLC temelli MDA-TBA son ürün ölçümü çok daha spesifiktir (Agarwal ve Chase, ,2002). Aşağıda HPLC yöntemine göre, MDA ölçümü ile ilgili olarak (Hong ve ark.,2000) test prosedürü yapılmıştır.

REAKTİFLER ve HAZIRLAMA

- 40 µL örnek kapaklı cam tüplere konulur.
- 100 µL, saf su eklenir.
- 20 µL, 2.8 mmol/L BHT (etanolde) eklenir.
- 40 µL, %8,1 SDS
- 600 µL, 8 g/L TBA+Asetik asit karışımı ilave edilir.(TBA, 200 mL/L asetik asit ile 1:1 dilue edilir, 2 M NaOH pH NaOH ile 3.5'a ayarlanır.)
- 95 °C'deki su banyosunda 1 saat bekletilir.
- Su banyosundan çıkarıldıktan sonra buz üzerinde soğutulur.
- 200 µL saf su, 1000 µL, butanol:piridin (15:1) eklenir ve tam 1 dakika vortekslenerek karıştırılır. 2-3 dakika tüpler bekletilir.
- Renkli üst (organik) fazın kendiliğinden ayrıldığı gözlenir.
- Üst fazlar eppendorf tüplerine alınır. En az 10,000 rpm'de 5-10 dakika santrifüj edilir.
- HPLC kolonuna 10mikrolitre enjekte edilir.

Mobil faz:

* KH_2PO_4 1,361 g/L 0,6805g/500 mL* %30 metanol içerecek biçimde hazırlanır. (0,01M)

* K_2HPO_4 1,7418g/L 0,8709g/500 mL* %30 metanol içerecek biçimde hazırlanır. (0,01M)

Monobazik ve dibazik potasyum fosfat tuzları pH, 7 olacak biçimde manyetik karıştırıcı ile birbirine katılarak *solvent-tampon* ayarlanır. Mobil faz 0,2µM çapında filtreden geçirilerek süzülür.

- Mobil faz akış hızı; 0,8 ml /dakika
- Akış özelliği; İzokratik
- Fırın sıcaklığı; 30°C
- Dedektör; Floresans (eksitasyon 515nm, emisyon 553nm)

STANDARTLARIN HAZIRLANMASI

Standartlar ; %97 lik 1,1,3,3 tetraethoxy propane(TEP) (Sigma T9889) kullanılarak, %40 lık etanol içerisinde, 5µM TEP eklenmesi ile oluşturulan stok solusyondan hazırlanır. Stok solüsyondan metanol ile aşağıda ki konsantrasyonları elde etmek için, seri dülyonlar elde edilir.

50 µM/L - 40µM/L - 20 µM/L - 10 µM/L - 5 µM/L - 3 µM/L - 1,5 µM/L - 0,75 µM/L

3.4.4. Örneklerin Toplam Protein İçeriğinin Saptanması

Örneklerin toplam protein içeriği ' BCA Protein Assay Kit '(Pierce) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3.4.4.1). Kit içerisinde BCA Reaktif A, BCA Reaktif B ve Albumin standart ampulleri yer almaktadır. Test kitine ait işlem basamakları aşağıdadır;



Şekil 3.4.4.1. BCA Protein Ekstraksiyon Kiti

Standartların (BSA) Hazırlanması ;

2 mg/ml Albumin (BSA) standartından 1 ml'lik bir ampul kullanılarak, aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi gerekli seyreltmeler yapılır (Tablo 3.4.4.).

Kuyucuklar	Seyreltme Hacmi	BSA Hacmi	Son BSA Konsantrasyonu
A	0	300 µl stok	2,000 µg/ml
B	125 µl	375 µl stok	1,500 µg/ml
C	325 µl	325 µl stok	1,000 µg/ml
D	175 µl	Vial B dilüsyonundan 175 µl	750 µg/ml
E	325 µl	Vial C dilüsyonundan 325 µl	500 µg/ml
F	325 µl	Vial E dilüsyonundan 325 µl	250 µg/ml
G	325 µl	Vial F dilüsyonundan 325 µl	125 µg/ml
H	400 µl	Vial G dilüsyonundan 100 µl	25 µg/ml
I	400 µl	0	0 µg/ml = Kör

Tablo 3.4.4. Standartların hazırlanması

BCA Çalışma Çözeltilisinin Hazırlanması;

Aşağıdaki formül kullanılarak gerekli çalışma çözeltisi (ÇÇ) miktarı bulunur.
 (#standartlar + # bilinmeyenler) x (tekrar oranı) x (herbir örnek için gerekli ÇÇ) = Toplam ÇÇ
 (9 + 6) x 2 x 0,2 ml = 6

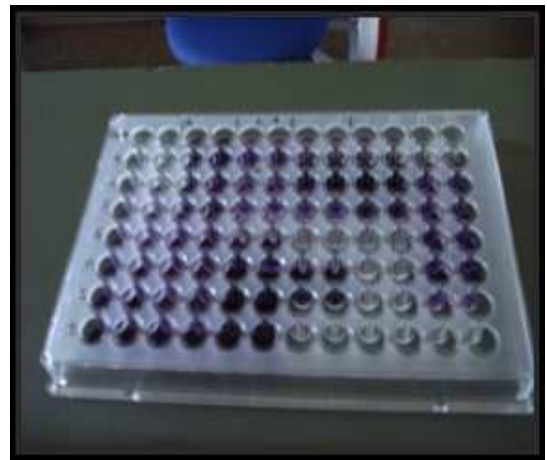
- Çalışma çözeltisi hazırlanırken, BCA reaktif A ile BCA Reaktif B, 50:1 oranında karıştırılır. Yukarıda hesaplanan 6 ml çalışma solusyonu için gerekli karışım bu şekilde hazırlanmıştır.

Mikroplaka Prosedürü;

- Mikroplaka içerisine her bir kuyucuğa, standart veya bilinmeyen örnekten 25 µl konulur, ikili tekrar yapılacağı göz önünde bulundurularak mikroplaka üzerinde işaretleme yapılır.
- Kuyucukların üzerine 200'er µl çalışma çözeltisinden eklenir ve plaka karıştırıcısı kullanılarak, 30 sn süresince çalkalama yaptırılır.
- Plaka kapatılır ve 37°C'de 30 dk süresince inkübe edilir.
- Plakanın oda sıcaklığında soğuması beklenir. Şekil 3.4.4.3.
- 562 nm de spektrofotometre kullanılarak absorbans ölçümü yapılır. Şekil 3.4.4.2.



Şekil 3.4.4.2. Spektrofotometrik ölçüm



Şekil 3.4.4.3. Mikroplaka (oda sıcaklığında)

4. BULGULAR

Çalışmamız ait bulgular aşağıda tek tek belirtilmiştir. Tüm tablolarda kullanılan SE (*Streptococcus epidermidis*), ST (*Salmonella typhimurium*), EF (*Enterococcus faecalis*), SA (*Staphylococcus aureus*), BC (*Bacillus cereus*), BS (*Bacillus subtilis*), EC (*Enterobacter cloacae*), CA (*Candida albicans*), E. coli (*Escherichia coli*), PV (*Proteus vulgaris*) kısaltmaları mikroorganizmaları göstermektedir. Çözgenlerin altında yer alan 'S' ve 'Ç' kısaltmaları ise, soksile cihazı kullanılarak ekstraksiyon yöntemini ve çalkalama cihazı kullanılarak ekstraksiyon yöntemini belirtmektedir.

4.1. *Cystoseira barbata* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Cystoseira barbata örneklerinden çalkalama sonrası ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen metanol ve kloroform ekstraktları mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinlik yönünden denenmiş ancak belirli bir inhibisyon zonu gözlenmemiştir. Çalkalama yolu ile ekstraksiyon sonrası elde edilen metanol ekstrelerinde 'kısmi statik etki' olarak değerlendirebileceğimiz sonuçlar bulunmuştur, kısacası temiz bir inhibisyon zonu yerine, üremenin belirgin olarak azaldığını gözlediğimiz bir zon elde edilmiştir. Soksile ile ekstraksiyon sonrası elde edilen kloroform ekstresinde sadece *P.vulgaris*'e karşı 14 mm'lik bir inhibisyon etki gözlenirken, daha az sayılabilecek bir etki de, metanol ekstresinde, *S. aureus*'a karşı, 10mm çapındaki inhibisyon zonu ile gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

<i>Cystoseira barbata</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	E.coli	PV
Kloroform (S)	D	—	D	7 mm	—	D	—	D	—	14 mm
Kloroform (Ç)	D	—	—	D	—	D	—	D	—	—
Metanol (Ç)	9 mm	—	—	—	KSE	—	—	—	—	—
Metanol (S)	—	—	—	10 mm	KSE	—	—	—	—	—

Tablo 4.1. *Cystoseira barbata* ekstrelerine ait inhibisyon zon çapları



Şekil 4.1.1. *C. barbata* metanol(S) ekstresi, SA'ya karşı, 10mm



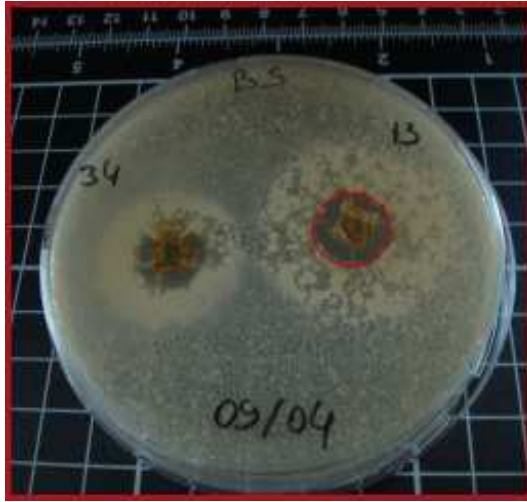
Şekil 4.1.2. *C. barbata* kloroform(S) ekstresi, PV'ye karşı, 14mm

4.2. *Sargassum acinarium* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

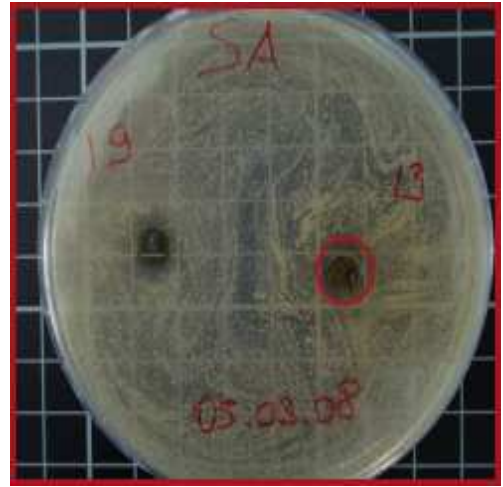
İki farklı ekstraksiyon yöntemine göre elde edilen özütlerde, özellikle metanol ekstralarında daha fazla aktivite olduğu görülmüştür, çalkalayıcı ve soksile yöntemine göre elde edilen metanol özütleri en çok, *B. subtilis*'e karşı (15mm – 11mm) inhibitör etki göstermiştir, bunun yanında, çalkalama yöntemi ile elde edilen metanol ekstresinde, *E. coli*'ye karşı 11 mm'lik belirgin bir inhibisyon zonu gözlenirken, soksile yöntemi ile elde edilen ekstrede herhangi bir zon gözlenmemiştir. Kloroform ekstralarında ise herhangi bir inhibitör etki gözlenmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

<i>Sargassum acinarium</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	E.coli	PV
Kloroform (S)	—	D	D	D	D	D	D	D	D	D
Kloroform (Ç)	—	—	—	—	D	D	—	D	D	—
Metanol (Ç)	D	—	—	8 mm	8 mm	15 mm	—	D	11 mm	—
Metanol (S)	—	—	—	—	—	11 mm	—	D	—	D

Tablo 4.2. *Sargassum acinarium* ekstrelerinin inhibisyon zon çapları



Şekil 4.2.1. *S. acinarium* Metanol(Ç) ekstresi, BS'ye karşı, 15 mm



Şekil 4.2.2. *S. acinarium* Metanol(Ç) ekstresi, SA'ye karşı, 8 mm

4.3. *Cystoseira compressa* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Cystoseira compressa türünden elde edilen metanol ve kloroform ekstrelerinden sadece soksile yöntemi ile elde edilen metanol ekstresinde, *Enterococcus faecalis*'e karşı (20mm)

inhibitör etki gözlenirken, diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.3.'te gösterilmiştir.

<i>Cystoseira compressa</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	E.coli	PV
Kloroform (S)	—	—	—	—	D	D	—	—	—	—
Kloroform (Ç)	D	—	—	—	D	—	—	D	D	—
Metanol (S)	—	—	20 mm	7mm	—	—	—	—	—	—
Metanol (Ç)	—	—	—	—	D	—	—	—	—	D

Tablo 4.3. *Cystoseira compressa* ekstrelerinin inhibisyon zon çapları



Şekil 4.3.1. *C. compressa* Metanol(S) ekstresi, *Enterococcus faecalis*'e karşı, 20 mm

4.4. *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Codium fragile ssp. *tomentosoides* türünün çalkalayıcı ve soksile yöntemine göre, iki farklı çözügen ile ekstraksiyon sonucu elde edilen özütlerden, metanol ekstraktlarında her iki yöntemde de belirgin zonlar gözlenirken, kloroform ekstraktlarında herhangi bir zon gözlenmemiştir. Metanol

ekstrelerinde ise, soksile yöntemine göre özellikle, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae* ve *E. coli* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gözlenirken, çalkalama ile ekstraksiyon sonrası elde edilen özütlerde sadece, *Streptococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* 'e karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.4.'te gösterilmiştir.

<i>Codium fragile</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	E.coli	PV
Kloroform (S)	D	D	—	—	D	D	—	D	—	D
Kloroform (Ç)	—	—	—	D	—	D	—	—	—	—
Metanol (Ç)	15mm	—	8 mm	—	16mm	14mm	—	—	—	—
Metanol (S)	D	—	24mm	9mm	22mm	16mm	18mm	D	19mm	D

Tablo 4.4. *Codium fragile ssp. tomentosoides* ekstralarının inhibisyon zon çapları



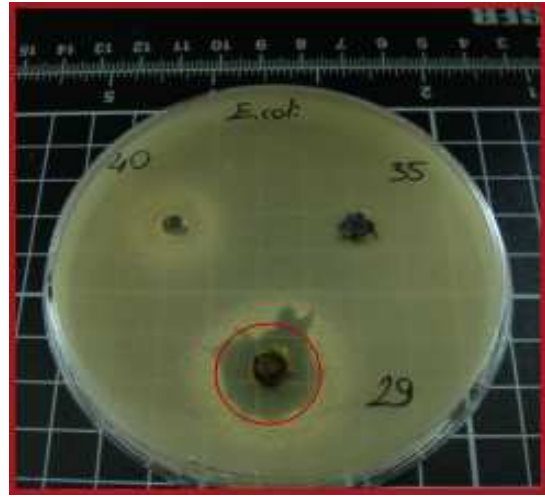
Şekil 4.4.1. *C. fragile ssp. tomentosoides* Metanol(Ç) ekstresi BS'ye karşı, 14mm



Şekil 4.4.2. *C. fragile ssp. tomentosoides*, ekstresi Metanol(S) EC'ye karşı, 18 mm



Şekil 4.4.3. *C. fragile ssp. tomentosoides* Metanol(S) ektresi, BS'ye karşı, 16 mm



Şekil 4.4.4. *C. fragile ssp. tomentosoides* Metanol(S) ektresi *E.coli*'ye karşı, 19mm



Şekil 4.4.5. *C. fragile ssp. tomentosoides* Metanol(Ç-S), BC'ye karşı, 16mm, 22mm



Şekil 4.4.6. *C. fragile ssp. tomentosoides* Metanol(S) ektresi, EF' ye karşı, 24mm

4.5. *Enteromorpha linza* var. *lanceolata* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

İki farklı ekstraksiyon yöntemi ve iki farklı çözügen kullanılarak elde edilen özütlerde, en yüksek aktivite metanol ekstrelerinde, *P. vulgaris*'e (29mm) karşı gözlenmiştir. Bunun yanında, soksile yöntemi ile elde edilen klorofom ekstresinde *E. coli*'ye karşı (20mm) yüksek aktivite gözlenirken yine çalkalama yöntemi ile elde edilen kloroform ekstresinde herhangi bir zon gözlenmemiştir. Çalkalama yöntemi ile elde edilen metanol ekstrelerinde *S. aureus* (15mm) ve

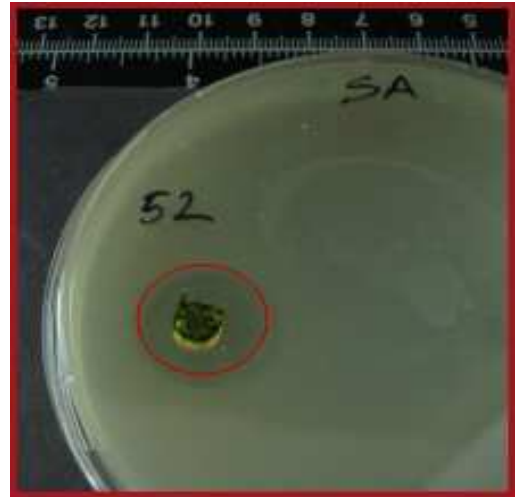
B. subtilis'e karşı (11mm) belirgin zonlar gözlenirken, soksile yöntemi ile elde edilen özütlerde herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Sonuçlar Tablo 4.5.'te gösterilmiştir.

<i>E.linza</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	<i>E.coli</i>	PV
Kloroform (S)	—	—	—	10mm	D	D	D	D	20mm	D
Kloroform (Ç)	—	—	—	8mm	D	9mm	—	D	—	—
Metanol (S)	—	—	—	—	D	—	—	—	7 mm	14 mm
Metanol (Ç)	—	—	—	15mm	—	11mm	—	—	9 mm	29mm

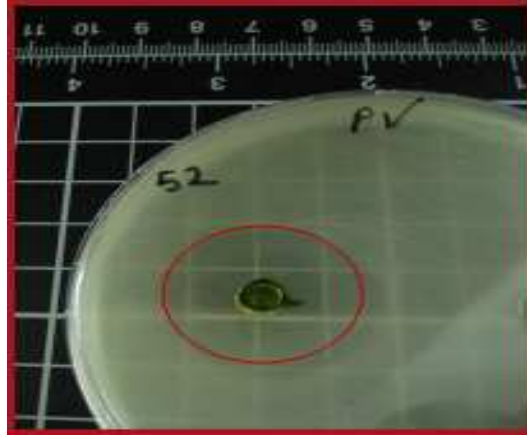
Tablo 4.5. *Enteromorpha linza* var. *lanceolata* ekstralarının inhibisyon zon çapları



Şekil 4.5.1. *E. linza* var. *lanceolata*
Methanol (S) ektresi PV'ye karşı, 14mm



Şekil 4.5.2. *E.linza* var. *lanceolata*
Metanol(Ç) ektresi, SA'ya karşı, 15mm



Şekil 4.5.3. *E. linza var. lanceolata* Metanol(Ç) ekstresi, PV' ye karşı, 29mm

4.6. *Jania longifurca* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Jania longifurca örnekleri, yine iki farklı çözügen kullanılarak, iki farklı ekstraksiyon yöntemine göre, antimikrobiyal aktivite yönünden incelenmiştir. Sonuçta, sadece soksile yöntemi ile ekstraksiyon sonrası elde edilen metanol ekstresinde *Enterococcus faecalis*'e karşı(14 mm) belirgin bir antimikrobiyal etkinlik gözlenirken, diğer yöntem ve çözügenlerden elde edilen ekstraktelerde, mikroorganizmalara karşı herhangi bir inhibitör etki gözlenmemiştir veya çok düşük etki ile birlikte kısmi statik etki gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

<i>Jania longifurca</i>	SE	ST	EF	SA	BC	BS	EC	CA	E.coli	PV
Kloroform (S)	9 mm	—	—	7 mm	—	KSE	—	D	—	—
Kloroform (Ç)	—	—	—	—	—	KSE	—	D	—	D
Metanol (S)	—	—	14mm	—	7 mm	—	—	—	—	—
Metanol (Ç)	—	—	—	—	—	9 mm	—	D	D	D

Tablo 4.6. *Jania longifurca* ekstraktlerinin inhibisyon zon çapları



Şekil 4.6.1. Metanol(Ç) ektresi, BS'ye karşı,
9 mm



Şekil 4.6.2. Metanol(S) ektresi, EF'ye karşı,
14 mm

Aşağıdaki tabloda, test mikroorganizmalarının 3 farklı antibiyotik diskine karşı oluşturdukları inhibisyon zonları gösterilmiştir. Bu tablo ile kıyaslandığında özellikle *Codium fragile ssp. tomentosoides* ve *Enteromorpha linza var. lanceolata* türlerinin önemli antimikrobiyal aktivite göstermiş olduğu söylenebilir.

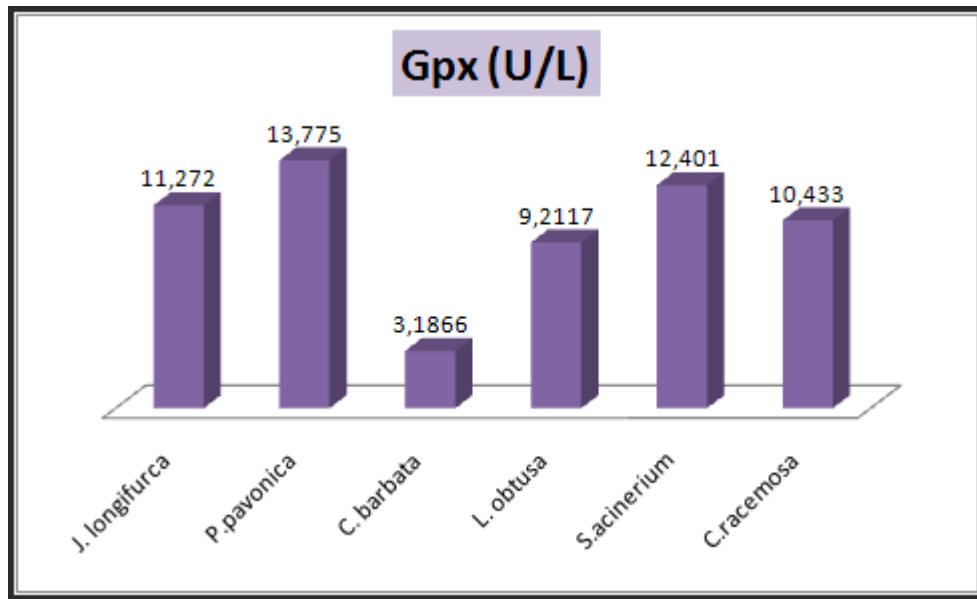
Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon zonları (mm)		
	Amikasin (30µg/disk)	Klindamisin (2µg/disk)	Nistatin (100µg/disk)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	15	D
<i>P. aeruginosa</i>	26	8	D
<i>Escherichia coli</i>	17	17	D
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	9	D
<i>Streptococcus faecalis</i>	13	13	D
<i>S. epidermidis</i>	11	8	D
<i>Bacillus cereus</i>	14	12	D
<i>S. typhimurium</i>	28	23	D
<i>Candida albicans</i>	D	D	18
<i>B. subtilis</i>	21	21	D

Tablo 4.7. Mikroorganizmaların standart antibiyotiğe karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları(µg/disk) (D:Denenmedi)

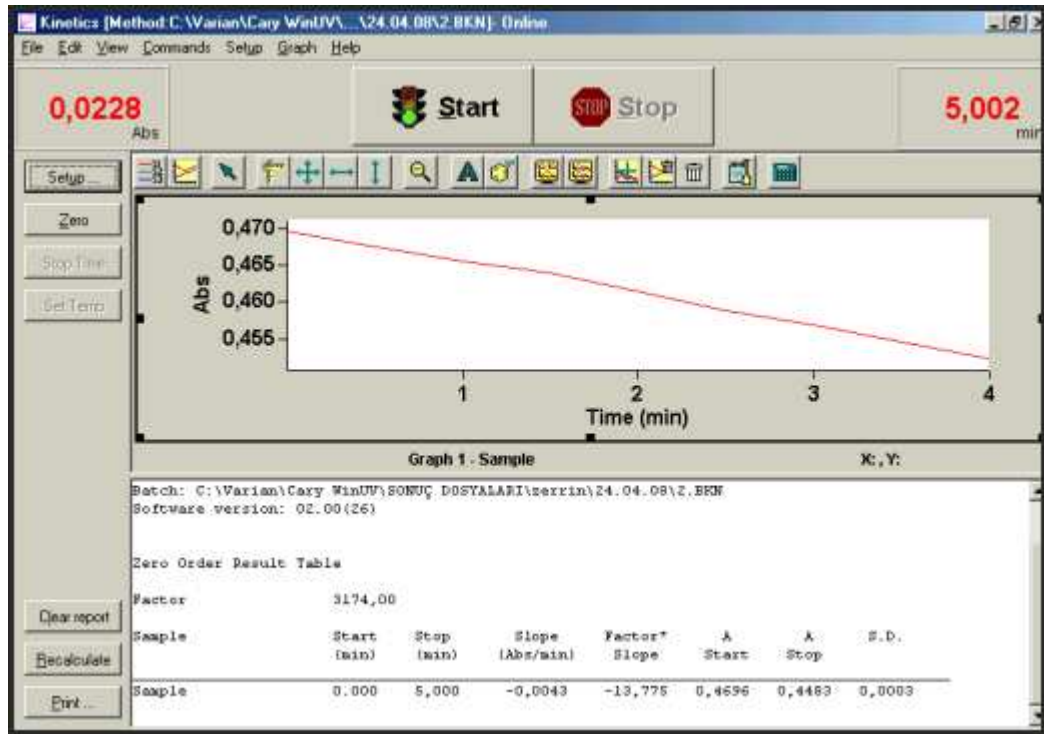
Codium fragile ssp. tomentosoides 'den soksite yöntemi ile elde edilen metanol ekstralarında özellikle *E. faecalis* (24 mm) , *B. subtilis* (16 mm), *B. cereus* (22mm), *E. cloaceae*(18 mm) mikroorganizmalarına karşı önemli inhibisyon zonları gözlenmiştir. Bu sonuçlar standart antibiyotik diskleri ile kıyaslandığında *Codium fragile ssp. tomentosoides* türünün ileri antibiyotik araştırma çalışmaları için kullanılabileceğini göstermektedir.

4.7. Glutasyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi Sonuçları

Reaktif oksijen türlerinin, zararlı etkilerine karşı hücre içi savunmada yer alan glutasyon peroksidaz enziminin miktarında ki artış veya azalış, türün oksidatif strese karşı verdiği yanıtın bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Çalışmamız kapsamında 6 farklı alg örneğinin glutasyon peroksidaz aktivitesi spektrofotometrik yöntem ile Şekil 3.4.4.2'de belirtildiği gibi spektrofotometre cihazında ölçülmüştür. Örneklerimizden en yüksek aktivite *P. pavonica* örneğinde saptanmıştır (13,775 U/L), bunu sırası ile *S. acinarium* (12,401 U/L), *J. longifurca* (11,272 U/L), *C. racemosa* (10,433 U/L), *L. obtusa* (9,2117 U/L) ve *C. barbata* (3,1866 U/L) türleri izlemiştir (Tablo 4.8). *P. pavonica* örneğinin spektrofotometrik ölçüm sonuçlarına ait spektrofotometre ekran görüntüsü Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



Tablo 4.8. Glutasyon peroksidaz aktivite sonuçları(U/L)

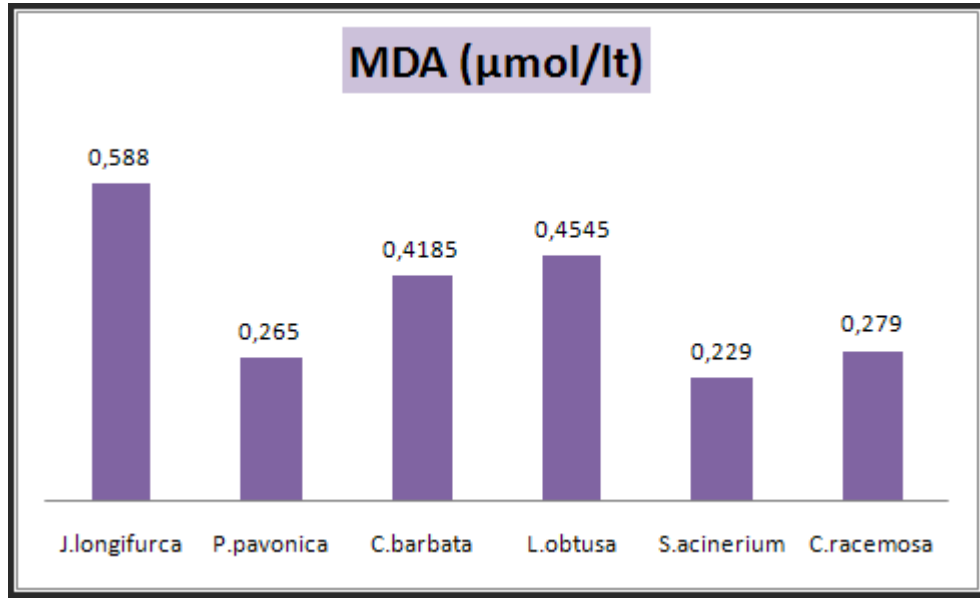


Şekil 4.7. *P. pavonica* GPx spektrofotometrik Ölçüm Sonucu

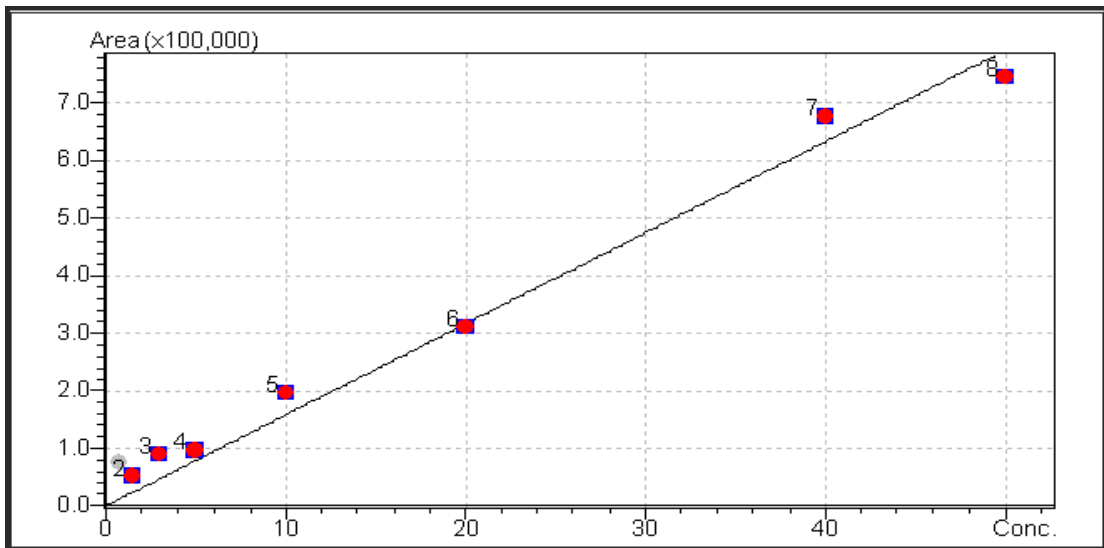
4.8. Malondialdehid Ölçümü Sonuçları

Serbest radikallerin neden olduğu membran hasarının belirleyici bir göstergesi olarak bilinen lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehid miktarının ölçümü ile oksidatif stres koşullarını ve antioksidan metabolizmayı yorumlayabiliriz. Şöyle ki alg türleri bir oksidan ile karşılaşmış ve öz kaynakları (antioksidan moleküller, enzimler vb.) ile ona direnmiştir fakat yine de belli miktarda oksidasyon olmuştur; oksidasyon sonucu oluşan malondialdehid miktarı oksidasyon seviyesi konusunda ve türün antioksidan kapasitesi konusunda bilgi vermemizi sağlamaktadır. Belirli bir bölgeden belirli bir zaman diliminde toplanmış olan örneklerden en yüksek lipid peroksidasyonu *J. longifurca* örneğinde gözlenmiştir, bu türü sırasıyla *L. obtusa* (0,4545 $\mu\text{mol/l}$), *C. barbata* (0,4185 $\mu\text{mol/l}$), *C. racemosa var. cylindracea* (0,279 $\mu\text{mol/l}$), *S. acinarium* (0,229 $\mu\text{mol/l}$) ve son olarak *P. pavonica* (0,265 $\mu\text{mol/l}$) izlemiştir. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir.

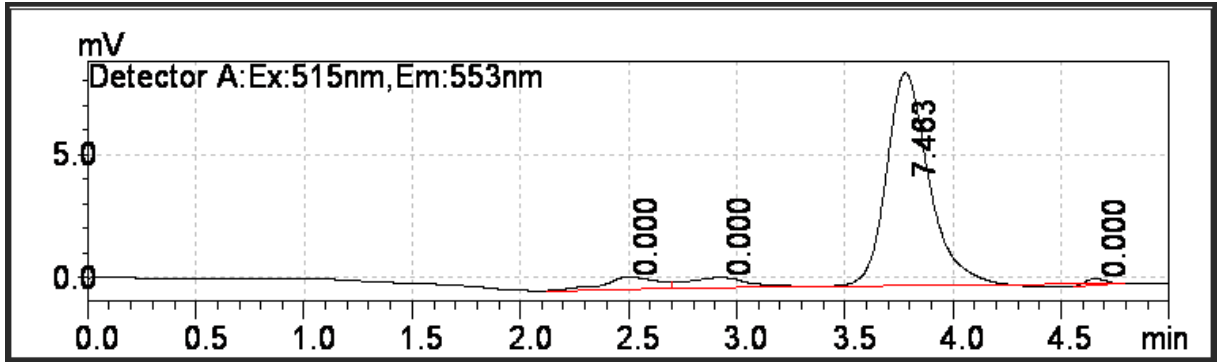
HPLC yöntemi ile malondialdehid sonuçları yukarıda verilmiştir ancak lipid peroksidasyonu düzeyi hakkında kesin bilgi verilebilmesi için sonuçların, örneklerin protein hacmi ile birlikte yorumlanması gerekmektedir. Protein miktarını bir düzeltme faktörüdür. Protein, örneği temsil etmektedir ve deney yaparken, ne kadar da deney kontrol edilmeye çalışılırsa da, örnekler birbirinden farklı derecelerde seyredebilirler, bu yüzden deneyde kullanılan örnek hacmi, bu örneklerden eşit miktarlarda alınanların bir ölçüsü olamaz; örneklerin tümü bir düzeltme faktörü ile eşitlenmesi gerekmektedir ve bu da sadece örneklerdeki protein miktarı ile mümkündür. Örneklerin protein içeriği, kullanılan örnek miktarını temsil etmektedir.



Tablo 4.9. Malondialdehid (MDA) ölçümü sonuçları



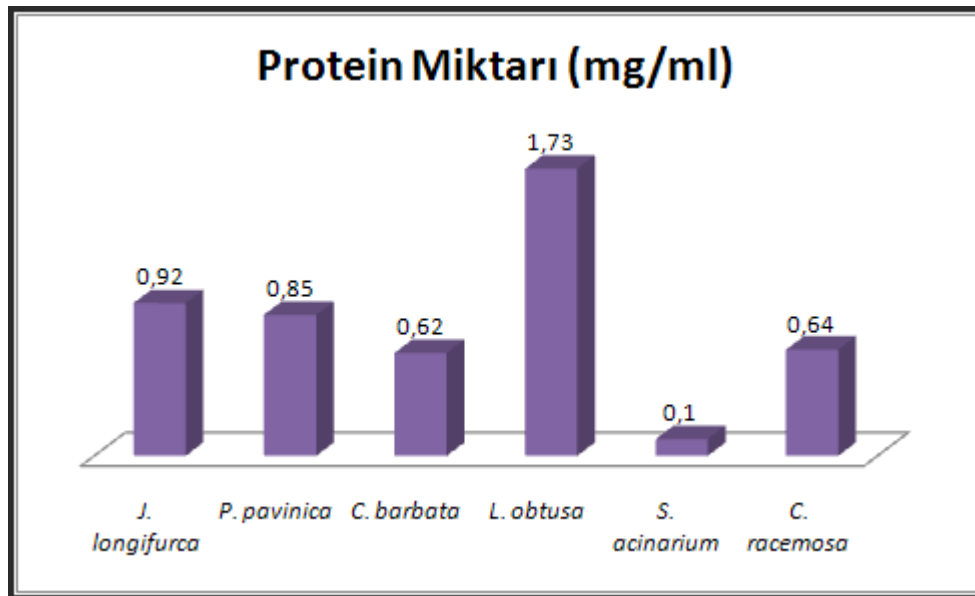
Tablo 4.10. HPLC cihazında tanımlanan MDA Kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8. HPLC Cihazında Bileşenlerin Alıkonma Zamanları

4.9. Toplam Protein Miktarı Ölçüm Sonuçları

Çalışmamız kapsamında incelediğimiz 6 farklı alg türünün toplam protein içeriklerine bakılmıştır ve sonuçlar aşağıda ki grafikte gösterilmektedir. (Tablo 4.11) En yüksek protein içeriğine *L. obtusa* türünde, en düşük protein içeriğine ise *S. acinarium* türünde rastlanmaktadır. Ölçümler spektrofotometrede yapılmıştır. Spektrofotometrede mikropolanın değerlendirilmesi sonuçları Şekil 4.9. ve Şekil 4.10'da gösterilmektedir. Protein miktar tayini denemelerinde çoğu zaman protein karşımlarının veya ekstinksiyon katsayısı bilinmeyen proteinlerin miktarları tayin edilmek istenir. Bu durumda miktarı bilinen saf bir protein "standart" olarak kullanılmak suretiyle bir standart eğri oluşturulur. Protein miktarını değerlendirmek adına öncelikle bir standart eğri tanımlanır standart eğrinin oluşturulması ve spektrofotometreden elde edilen sonuç Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Tablo 4.11. Protein miktarı (mg/ml) Sonuçları

KC4 [24.04.08 protein tayini.glb] - [RESULTS]

Data Edit Protocol Display System

Wizard... New Read Save Print Preview Settings Layout Analysis Transf. Curves Report Options

Data: Concentrations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<0	<0	1887.5	1979.2	675.19	659.74	116.33	89.307	62.282	42.012		
B	<0	<0	1057.4	973.43	177.14	187.76	>2098.8	>2098.8	????	>2098.8		
C	118.26	131.78	1897.1	1942.5	410.72	465.74	598.93	673.26	2003.3	2057.4		
D	263.04	280.42	298.76	313.23								
E	386.59	451.26	794.87	759.16	868.23	963.78						
F	771.71	814.17	396.24	415.55	>2098.8	>2098.8	>2098.8	>2098.8				
G	1091.2	1146.2	597.00	459.95	>2098.8	>2098.8						
H	1487.9	1537.1	1155.9	1030.4	1661.6	1789.0						

☐ Change ☐ Mask

Şekil 4.9. Toplam protein miktarının spektrofotometrede ölçüm sonuçları (1)

KC4 [24.04.08 protein tayini 2.glb*]

Data Edit Protocol Display System

Wizard... New Read Save Print Preview Settings Layout Analysis Transf. Curves Report Options

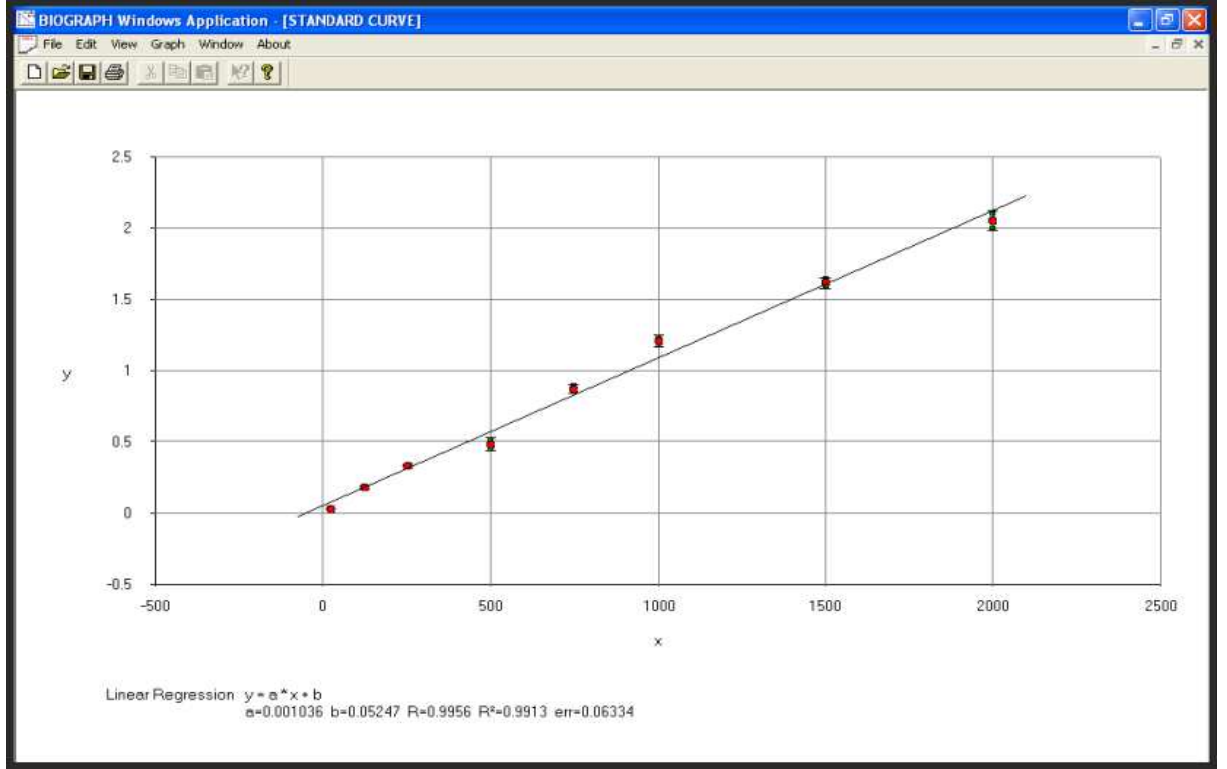
RESULTS

Data: Concentrations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B											829.14	861.95
C											615.83	618.72
D											805.01	794.39
E											821.41	1382.2
F											1265.4	1205.6
G												
H												

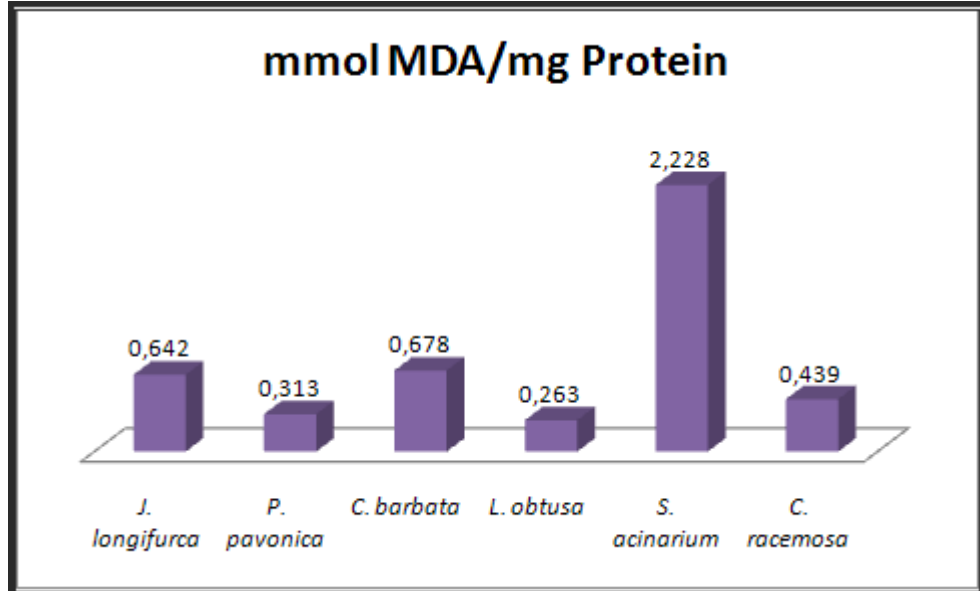
☐ Change ☐ Mask

Şekil 4.9. Toplam protein miktarının spektrofotometrede ölçüm sonuçları (2)



Y: absorbans X: Konsantrasyon ,

Şekil 4.10. Standart eğri grafiği



Tablo 4.12. Malondialdehid miktarının protein miktarına oranını gösteren sonuçlar

Toplam protein miktarı BCA hazır ticari kit ile ölçülerek sonuçlar Tablo 4.11'de gösterilmiştir. Oksidatif stres metabolizmasının yorumlanması açısından, örneklerin malondialdehid düzeyleri, protein içerikleri ile birlikte göz önünde tutulmalıdır. Malondialdehid miktarının protein miktarına oranını gösteren sonuçlar Tablo 4.12'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre lipid peroksidasyon düzeyi en yüksek *S. acinarium* türünde saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Dünya'da ve ülkemizde yapılan antimikrobiyal ve antioksidan çalışmalara, alglerin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri başlıkları altında örnekler verilmiştir. Bu çalışmalar ve sonuçları değerlendirilerek, çalışmamız kapsamında bazı deniz alglerinin farmakolojik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Özellikle denizel alglerin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bakteriyal direnç metabolizması ve önemi sorgulanmıştır. Bakteriyal antimikrobiyal direnç tüm dünyada medikal ve zirai alanda ciddi bir sorun olmaya başlamıştır. Bakterilerin antibiyotiklere dirençli türleri, hayvan ve insan sağlığını ciddi olarak tehdit etmektedir, direnç mekanizması üzerinde yapılan klinik çalışmalar ile tüm antimikrobiyallerin klinik kullanımları tanımlanabilmiştir. Bakteriyal direncin nasıl ortaya çıktığının bilinmesi; antimikrobiyaller, mikroorganizmalar ve çevre üzerindeki etkileşimin anlaşılmasını sağlayacaktır. Hassas bir bakterinin dirençli duruma gelebilmesinde birçok yol mevcuttur. Genel olarak, antimikrobiyallere karşı direnç içsel veya dışsal olabilir. İçsel direnç bakteri tarafından taşınan direnç genlerinin varlığına bağlıdır. Dışsal direnç ise, iyileştirici özelliği olmayan antimikrobiyallerin kullanımı yada ani mutasyonlara bağlı genomdaki değişimler gibi birçok nedene bağlı olabilmektedir. Özellikle tedavi edici dozun altında madde kullanımı, direnç gelişimindeki en yaygın nedenlerden biridir. Bu durum bakteri üzerinde direncin gelişimi veya tümüyle yok olması şeklinde iki tür baskı uygulamaktadır. Sonuçta Darwin'in prensibi olan 'en güçlü olanın yaşamı sürdürmesi' ilkesine dayanmaktadır. Bir süre sonra dirençli bakteriler ortaya çıkacaklar ve kendilerine en uygun mikroflorada gelişimlerini sürdüreceklerdir. Aslında antimikrobiyal direncin ortaya çıkışı beklenmeyen yeni bir olaydır. Henüz önlemler alınmadan birçok bakteriyal patojenin dirençli fenotiplerinin ortaya çıkışı artan sorunlar yaratmaktadır. Ve beklenmedik bir anda artan hastalık ve ölümlere neden olan infeksiyonların; hassas patojenlerin etkisinden çok, dirençli bakterilerle ilgili olduğu anlaşılmıştır (Helms ve ark., 2002). Birçok geriye dönük ve olası çalışmalar göstermiştir ki; her iki patojenik ve komensal bakteride, bir antimikrobiyal girişinden sonra antimikrobiyal direnç artmıştır (McDermott ve ark. ,2003).

Bir infeksiyonun tedavisinde kullanılan antibiyotik ya da antimikrobiyal bir ajan için beklenen terapötik kazanç bazı faktörlere bağlıdır. Bu kazanç, infeksiyon bölgesinde bakteriyal gelişimi inhibe edecek yeterli antimikrobiyal maddenin konsantrasyonunun bulunmasına

bağlıdır. Konakçının savunma sisteminin etkinliğinin en yüksek olduğu durumlarda gereken tek şey mikrobiyal protein sentezini yavaşlatan ya da hücre bölünmesini engelleyen bakteriyostatik bir ajan tarafından düşük düzeyde bir inhibitör etkinin oluşturulmasıdır. Diğer taraftan konakçının savunma sistemleri iyi çalışmıyorsa, bakterisid bir etki gerekebilir, sonuç olarak istenen şudur ki; kullanılan doz mikroorganizma üzerinde istenen etkiyi oluşturabilmeli hem de insan hücrelerine ya da uygulanan konak canlı üzerinde herhangi bir toksik etki göstermeyecek düzeyde olmalıdır. Bu koşullar sağlandığında mikroorganizmanın antibiyotik ya da antimikrobiyal ajana karşı duyarlı olduğu söylenebilir tersi durumda dirençli olarak kabul edilir.

Antimikrobiyal direncin, ekolojik, biyokimyasal ve moleküler oluşumunu ve sonuçlarını anlamak, yeni antimikrobiyal bileşenler geliştirmek ve kullanılabilir olanların mevcut etkisini koruyabilmek gerekmektedir. Bu çalışma öncesinde ülkemizde de olası antimikrobiyal değeri olan deniz alglerini belirlemeye yönelik olarak çalışmalar yapılmıştır (Haliki ve ark.2005 , Tüney ve ark. 2006, Özdemir ve ark. ,2006, Sukatar ve ark. 2006, Karabay-Yavaşoğlu ve ark. 2007, Taşkın ve ark. 2008), bunun yanı sıra elde edilen özütlerin biyokimyasal kompozisyonları incelenmiştir (Atay, 1978, Çetingül ve ark. 1994 - 2000, Ertan ve ark. 1995, Ertan ve ark. 1997, Fırat ve ark. 2007). Türkiye deniz alglerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılan araştırmalarda kahverengi alglerden (*Dictyopteris membranaceae*, *Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Cystoseira mediterranea*, *Halopteris scoparia*, *Dictyota dichotoma*, *Colpomenia sinuosa*, *Ectocarpus siliculosus*, *Padina pavonica*, *Dictyota linearis*); kırmızı alglerden (*Jania rubens*, *Acanthophora najadiformis*, *Laurencia papillosa*, *Hypnea musciformis*, *Gracilaria gracilis*, *Ceramium rubrum*) ve yeşil alglerden [*Enteromorpha linza* (= *Ulva linza*), *Ulva rigida*] gibi bazı türlerle çalışılmıştır.

İnfeksiyon etkeni olan mikroorganizmanın duyarlılığı hakkında temel anlamda bilgi sahibi olmak ve çalışmalara bu doğrultuda yön vermek oldukça önemlidir. Bazı durumlarda aynı tür bakterilerin farklı suşları bile antibiyotiklere karşı farklı duyarlılık gösterirler. Antimikrobiyal ajanlara karşı mikroorganizma duyarlılığını belirlemek için kullanılan çok çeşitli yöntemler vardır, bunlardan en sık kullanılanları, disk-difüzyon testi ve agar dilüsyon testidir. Disk difüzyon ya da çukur difüzyon testi belirgin bir mikroorganizmanın bir antibiyotiğe karşı duyarlılığı hakkında nitel ve yarı nicel bir bilgi verir. Dilüsyon testlerinde ise, bir antimikrobiyal ajanın, içinde farklı mikroorganizma konsantrasyon serilerinin bulunduğu besleyici sıvı tüplerine aktarılacak minimum inhibisyon konsantrasyonunun saptanması esasına göre yapılır.

Kuyu difüzyon testine göre yapılan çalışma kapsamında, birinci kısımda 6 farklı alg türünün (*Cystoseira barbata*, *Jania longifurca*, *Enteromorpha linza* var. *lanceolata*, *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*, *Cystoseira compressa* ve *Sargassum acinarium*) antimikrobiyal

etkinliğine bakılmıştır. Antimikrobiyal etkinlik ölçümü yaptığımız 6 takson, dört farklı istasyondan toplanmıştır. İstasyon seçiminde belirgin faktörler bulunmamakla birlikte; kuzey- güney doğrultusunda dört istasyon seçimi yapılmasına özen gösterilmiştir ve en kuzey nokta olarak belirlenen Ayvalık-Cunda adası ile en güney olarak belirlenen Kuşadası kıyılarından örneklemeler yapılmıştır. İstasyonlarımızın fiziko-kimyasal özellikleri daha önce bu bölgelerde yapılan çalışmalara göre değerlendirilmiştir ve mevsimlere bağlı olmaksızın, kıyidan elle toplanmıştır. Örnekler laboratuvar ortamına getirilip, taze iken ayıklama yapılmıştır, birçok algin denizden çıkarıldıktan sonra enzimatik degradasyona uğradığı bilinmektedir (Challenger ve Simpson,1948) ve bundan dolayı taze iken örneklemeye yapılması daha doğru kabul edilmektedir. Ayıklama eldiven yardımı ile öncelikle alglerin elle birkaç seri halinde istenmeyen atıkların uzaklaştırılması ve daha sonra iki kez steril suda bekleterek yıkama sureti ile yapılmıştır. Yıkama işlemi sonrası örnekler kurutma kağıtları üzerinde Şekil 3.2.1. 'de gösterildiği gibi oda sıcaklığında 3-4 gün bekletilerek kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi sonrası, örnekler havanda toz haline getirilmiş ve her bir türden 10' ar gr. tartılarak, dört farklı ekstraksiyon için etiketleme yapılmıştır. İki farklı çözügen ve iki farklı yöntemle göre ekstraksiyon yapılmıştır. Bu yöntemler soksile ekstraksiyonu yöntemi ve sabit sıcaklık ve sabit sürede çalkalamak sureti ile ekstraksiyon yöntemleridir. Soksile cihazı ile Şekil 3.1.1.2'de gösterildiği şekilde ekstraksiyon yapılmıştır ve ekstraksiyon sonrası çözügen, Şekil 3.1.1.4'te gösterilen döner buharlaştırıcı cihazında uzaklaştırılmıştır. Örneklerin verim hesabı yapıldıktan sonra gerekli dilüsyonlar yapılmış ve örneklerimiz antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere, -20 °C'de saklanmıştır. Antimikrobiyal aktivite denemeleri özdek ve yöntem kısmında belirtildiği şekilde çalışılmıştır. Ekstraksiyon yöntemi ve çalışılan alg türlerine bağlı olarak antimikrobiyal etkinlik düzeyleri aşağıda tek tek kıyaslanarak, aktivite konusunda ön değerlendirmeler ve yorumlamalar yapılmıştır.

Çalışması yapılan alglerden ilk olarak *C. barbata* türünün, kloroform ve metanol ekstraktları değerlendirildiğinde, soksile yöntemi ile ekstraksiyon sonrası *P. vulgaris* türüne karşı, 14 mm'lik bir inhibisyon zonu elde edilmiş olmasına karşın, çalkalama yöntemi ile ekstraksiyonda belirgin bir zon elde edilememiştir (Tablo 4.1) .Çalışmalar iki kez veya üç kez tekrarlı olarak yapılmıştır ve ekstraksiyon yöntemlerinin farklı olmasının, sonuçları etkilediği kanısına varılmıştır. Özdemir ve ark., 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada *C. barbata* türünün, metanol, kloroform, diklorometan ve hegzan ekstraktlarını 9 farklı mikroorganizma türüne (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *E. cloacea*, *E.coli*, *C. albicans*) karşı antimikrobiyal etkinliği yönünden denemişlerdir ve çalışma sonuçlarımız Özdemir ve ark. tarafından yapılan çalışma ile benzerlikler göstermiştir. *S. aureus* türüne karşı yaptığımız çalışmada, Özdemir ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmaya göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Özdemir ve ark.'nın çalışmasında metanol ve diklorometan

ekstrelerinde belirgin aktivite gözlenmezken, yaptığımız çalışmada metanol ekstrelerinde herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Yine Taşkın ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada metanol ekstrelerinin, test edilen mikroorganizmalara karşı belirgin aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Taşkın ve ark. (2007) çalışmasında *S. aureus* türüne karşı $12,66 \pm 0,57$ mm'lik bir zon elde etmişlerdir ancak bizim çalışmamızda ise 10 mm' lik bir zon çapı ölçülmüştür. Taşkın ve ark.' ları alglerin metanol ekstrelerinden, *M. luteus* türüne karşı 13 ± 1.0 mm, *E. faecalis* türüne karşı 10.33 ± 1.15 mm, *E. aerogenes* türüne karşı $13.66 \pm 1,52$ mm ve *E. coli* türüne karşı 11.66 ± 1.15 mm zon çapı bulmuşlardır. Her iki çalışmanın ortak türlerinden, *E. faecalis* ve *E. coli* türlerine karşı herhangi bir aktivite saptanmamıştır. Sonuç olarak, aktiviterler arasında belirgin farklılıklar vardır. Taşkın ve ark.(2007), belirgin inhibisyon zonu elde ettiği ekstraktlarda, aynı türlere karşı bizim çalışmamızda herhangi bir zon bulunmamıştır. Bunun nedeni mevsimsel farklılık, istasyon farklılığı, kullanılan ekstrakt miktarı gibi değişkenler olabilmektedir. Khaleafa ve ark. (1975), antifungal özellikler gösteren alglerin antibiyotik aktiviterlerinin, bahar boyunca ve erken yaz döneminde oldukça yüksek olduğunu fakat kışın ve sonbaharda önemsiz olduğunu bulmuştur. Hornsey ve Hide (1974 ve 1985) *Dictyota dichotoma* türünün, *Staphylococcus aureus* türüne karşı aktivitesinin kışın olduğunu göstermiştir. Benzer bir aktivite *Dilsea carnosus* ve *Ascophyllum nodosum* için de görülmüştür.

İkinci alg türümüz olan *Sargassum acinarium* türü, 10 farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinliğini yönünden değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Çalışmamızda soksile ve çalkalama yöntemine göre elde ettiğimiz metanol özütlerinde belirgin aktiviterler belirlenmiştir. En yüksek aktivite *B. subtilis* türüne karşı (15mm – 11 mm) elde edilmiştir. *E. coli* türüne karşı metanol özütlerinden, 11 mm'lik bir inhibisyon zon çapı ölçülürken, çalışılan diğer türlerde ise belirgin aktiviterler saptanmamıştır. Soksile yöntemi ile elde edilen kloroform özütlerinde antimikrobiyal etkinlik çalışmaları bazı türler için bir kez yapılmış ve örnek yetersizliği nedeni ile en az iki tekrarlı olarak yapılamayan çalışma sonucu 'Denenmedi' olarak verilmiştir. Patra ve ark.(2008) , yaptıkları çalışmada *Sargassum sp.* türünü 3 farklı mikroorganizma (*B. subtilis*, *E. coli* ve *S. aureus*) türüne karşı denemişler ve sonuçta, en yüksek aktiviteyi *B. subtilis* türüne karşı (18 mm zon çapı) göstermiş olduğunu saptamışlardır. Örnekten 2 mg ve 4 mg konsantrasyonunda madde özüt olarak disklerle emdirmişler ve 4 mg lık disklerde daha yüksek aktivite olduğunu saptamışlardır. Ampicillin antibiyotik diski ile kıyaslandığında, ekstrakt en fazla *E. coli* türüne karşı etkinlik göstermiştir. Patra ve ark.(2008) verdiği sonuçlar, bulunan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Üçüncü alg türümüz olan *C. compressa* türünün antimikrobiyal etkinliğine ait sonuçlar Tablo 4.3.'te verilmiştir. Belirgin tek inhibitör etki *E. faecalis* türüne karşı (20 mm) gözlenirken, diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Ibtissam ve ark. , 2009

yılında Fas kıyılarından topladıkları türler ile yaptıkları bir çalışmada *C. compressa* türünü 5 farklı mikroorganizma türüne karşı test etmişler ve sonuçta türün herhangi bir aktiviteye sahip olmadığını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada sadece *E. faecalis* türüne karşı aktivite gözlenirken, Ibtissam ve ark.(2009) bu türe karşı herhangi bir aktivite saptamamışlardır. Diğer türlerin sonuçları benzerlik gösterirken bu türün aktivitesinde farklılık olması yine toplanılan bölge ile toplama ve ayıklama koşullarının etkisinin olduğunu destekler niteliktedir. *Cystoseira* cinsinden en çok çalışılan diğer tür *Cystoseira tamariscifolia* türüdür. Abourriche ve ark., 1999 yılında, *C. tamariscifolia* türünün hegzan, etil eter ve diklorometan ekstraktlarının farklı antimikrobiyal aktiviteler gösterdiklerini saptamışlardır. Belirli miktarlarda ekstrakt dört farklı mikroorganizmaya karşı (*Agrobacterium tumefaciens*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) denenmiş ve sonuçta etanol ekstrelerinde en yüksek aktivite saptanmıştır. Souhaili ve ark. 2004 yılında *C. tamariscifolia* türünün metanol, etanol ve hegzan ekstraktlarını maya, küf ve onların mikotoksinleri üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır ve sonuç olarak etanol ekstraktının çalışılan tüm türleri (*S. cereviceae*, *Kluveromyces sp.*, *Debaryomyces sp.*, *Rhodotorula sp.*, *C. albicans*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*) inhibe ettiği ve metanol ve hegzan ekstrelerinde herhangi bir aktivite gözlenmediği belirtilmiştir.

Diğer türümüz olan *Codium fragile ssp. tomentosoides* türünün antimikrobiyal etkinliğine ait sonuçlar Tablo 4.4' te gösterilmiştir. Çalkalama ve soksile yöntemine göre elde edilen metanol ekstrelerinde belirgin zonlar saptanmış ancak çalkalama yöntemi ile elde edilen özütlerde, soksile yöntemine göre elde edilenlere kıyasla daha az inhibisyon etkisi gözlenmiştir. Örneğin, *E. faecalis* türüne karşı çalkalama yöntemi ile elde edilen ekstraktan 8 mm'lik bir inhibisyon zon çapını ölçtüğümüz halde, soksile yönteminde 24 mm'lik bir zon çapı ölçülmüştür. Aynı şekilde *B. cereus* türüne karşı soksile yönteminde 22 mm 'lik bir zon çapı belirlenmiş ancak çalkalama yönteminde 16 mm'lik bir zon çapı saptanmıştır. Yine soksile yöntemi ile elde edilen metanol özütlerinde, *S. aureus* (9mm), *E. cloacea* (18 mm) ve *E. coli* türüne (19 mm) karşı belirgin inhibisyon zonları ölçülmüş ancak çalkalama yöntemi ile elde edilen metanol özütlerinde bu mikroorganizmalara karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Sonuç olarak *Codium fragile* türünün metanol ve klorofom ekstrelerini kıyasladığımızda metanol ekstrelerinde daha yüksek aktivite gözlendiğini, yöntem açısından bakıldığında ise, soksile yöntemi ile ekstraksiyonun sonuçlarının daha iyi sonuçlar sağladığını söyleyebiliriz. Ibtissam ve ark. (2009), yapmış oldukları çalışmada, *C. fragile* türünün metanol ekstraktlarının, denen 5 farklı mikroorganizmadan (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *E. faecalis* ATCC 29213) sadece *S. aureus* türüne karşı 20 mm'nin üzerinde bir zon göstererek, belirgin aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada ise metanol ekstresinin *S. aureus* türüne karşı sadece 9 mm'lik bir inhibisyon etkisinin olduğu bulunmuştur.

Beşinci alg taksonu olan *E. linza* var. *lanceolata*, iki farklı ekstraksiyon yöntemi ve iki farklı çözügen kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.5 ' te gösterilmiştir. Çalkalama yöntemi ile elde edilen metanol ekstraktlarında *S. aureus* (15mm), *B. subtilis* (11mm) ve *P. vulgaris* türüne karşı (29 mm) en yüksek aktiviteler gözlenmiştir. Ancak soksile yöntemi ile ekstraksiyonda *E. linza* türü inhibitör etkiler göstermemiş, sadece *P. vulgaris* türüne karşı (14 mm) daha düşük bir zon çapı ölçülmüştür. Soksile yöntemi ile elde edilen klorofom ekstrelerinde, özellikle *E. coli*'ye karşı 20 mm zon çapı ile en yüksek aktivite gösterilmiştir. *E. coli* türüne karşı metanol ekstraktlarında ise 7 mm -9 mm olmak üzere küçük inhibitör etkiler saptanmıştır. Sonuç olarak *E. linza* türü için, en yüksek aktivite çalkalama yöntemi ile elde edilen metanol özütlerinde gözlenmiştir. Tuney ve ark. tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada, dietil eter çözügeni kullanılarak, *E. linza* türünün kuru ve yaş örnekleri ekstrakte edilmiş ve sonuçta denenen türlere karşı yaş örneklerde, oldukça yüksek aktivite gözlenmiştir. Örneğin *E. faecalis* türüne karşı 45 mm, *S. aureus*'a karşı 51 mm ve *E. coli*'ye karşı 22 mm zon çapı ölçülmüştür. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve çözügen tipi yanında, örneklerin ekstraksiyon öncesi kuru ya da yaş olması da oldukça önemli olmaktadır. Genel olarak taze ve yaş örneklerden alınan bir miktar örneğin aktivitesi daha yüksek olmaktadır. Bu durum örneklerin içerisinde yer alan, hidrojen peroksitler, terpenoidler ve brom-eter bileşikler gibi uçucu antimikrobiyal bileşiklerden kaynaklanabilir olmasıyla beraber, antimikrobiyal etkinliği olan bazı bileşenlerin uygulanan kurutuma prosesi süresince aktivitelerini kaybetmeleri olabilir (Tuney ve ark., 2006). Yine Sukatar ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada, *E. linza* türüne ait diklorometan, kloroform, hegzan ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesine bakmışlar ve en yüksek aktiviteler metanol ve klorofom ekstraktlarında gözlenmiştir. Aynı çalışmada *S. aureus* türüne karşı metanol ekstraktları 25 mm'lik bir zon çapı ile inhibisyon gösterdiği halde, *B. cereus* türüne karşı 9,5 mm, *B. subtilis* türüne karşı ise 9 mm'lik inhibitör etki gözlenmiştir. Sukatar ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları çalışma sonuçları ile çalışma sonuçlarımız benzerlik göstermektedir.

Diğer alg türümüz olan *J. longifurca* ekstrelerinin antimikrobiyal etkinliğine ait sonuçlar tablo 4.6' da gösterilmiştir. Sonuçlarda da belirtildiği gibi, sadece soksile yöntemi ile ekstraksiyon sonrası elde edilen metanol ekstresinde *E. faecalis* türüne karşı 14 mm olarak belirgin bir zon çapı ve aktivite gözlenirken, diğer yöntem ve çözügenlerle elde edilen özütlerde herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Karabay-Yavaşoğlu ve ark. (2007), yapmış oldukları çalışmada, *J. rubens* türünün metanol ve kloroform ekstraktlarında belirgin inhibisyon zonları saptanmıştır. Soksile yöntemi ile yapılan ekstraksiyon sonrası özütler 1mg, 2 mg ve 4 mg konsantrasyonunda madde olacak şekilde seyreltilmiştir. 4 mg konsantrasyonunda madde içeren metanol ve klorofom ekstrelerinde en yüksek aktiviteler gözlenmiştir. Özellikle *S. aureus* (21 mm), *S.*

faecalis (14 mm), *B. cereus* (13 mm) türlerine karşı inhibitör etki gözlenmiştir ve sonuçların ekstraksiyonda kullanılan çözen tipine bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir. Kumar ve Rengasamy (2000), kırmızı makro alglerin klorofom ekstraktları ile klorofom:metanol (2:1 v/v) ekstraktlarının, en yüksek antibakteriyal aktivite gösterdiklerini saptamışlardır. Karabay-Yavaşoğlu ve ark. (2007) ve Kumar ve ark. (2000) bulduğu sonuçlar çalışmamızı destekler niteliktedir. Buna karşın, Gonzales del Val ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışmada, *J. rubens* ve *J. adhaerescens*'in metanol ekstraktlarının, *Psuedomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecium*, *Mycobacterium smegmatis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Aspergillus fumigatus* mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkilerinin olmadığını belirtmişlerdir. Bulunan sonuçlar ile yapılan diğer çalışmalar arasında ki farklılıklar, çalışılan türlerin ürettiği sekonder metabolitlerin çeşitliliği ve oranı ile ilgili olabildiği gibi (Tariq, 1991) mevsimsel çeşitliliğe bağlı olarak ta değişebilmektedir (Hornsey ve Hide, 1974).

Ülkemizde ve dünyada antimikrobiyal aktivite çalışmaları bilimsel alandaki gelişmeleri takiben, hızla devam etmektedir. Etken maddenin hassas tespiti için çalışmalar arttırılarak, tüm fiziko kimyasal parametreler kullanılarak değerlendirmeler yapılmalıdır. Kontrollü laboratuvar koşullarında yapılacak olan deneylerin sonuçlarının daha verimli olması beklenmektedir. Kapalı sistemlerde yapılacak deneylerin sonuçları ve kontaminasyon riskine bağlı kayıplar da önemli ölçüde engellenebilmektedir. Antimikrobiyal bir ajanın etkinliğinin çalışma koşulları yanında birçok ekolojik faktöre bağlı olduğunu unutmadan, çalışmalar sürekli hale getirilmelidir. Sekonder metabolitler özellikle eldesi ile ekonomik olduğu düşünülen alg türleri tarafından üretildiğinde önem kazanmaktadır. Doğal kaynak olarak nitelendirdiğimiz makro alglere yönelmemizin en temel nedenlerinden birisi de ekonomik olarak bulunma ve toplanma güçlüğüdür. Algleri kontrollü laboratuvar ortamında yetiştirmek ve aynı fiziksel parametrelere maruz bırakarak etkinlik değerlendirme çalışmaları yapmak oldukça fazla ek maliyetler getirecektir. Bu nedenle bulundukları bölgeye ve mevsime bağlı olarak tarama yapmak ve en verimli olduğu mevsim ve istasyondan toplanan örnekler ile, ileri farmasotik araştırmalara yönelmek en doğrusu olacaktır. Türlerin bulundukları ekolojik koşulların, onların antimikrobiyal etkinliğinde önemli olduğu unutulmamalıdır çünkü sekonder metabolitler genel olarak bir savunma mekanizması olarak tanımlanabilirler ve bir tür ne kadar güç koşullarda kalırsa savunma mekanizmasını da o kadar güçlü tutmaya çalışacaktır.

Çalışmanın ikinci kısmında, belli istasyonlardan seçilmiş olan 6 makroalg türün antioksidan kapasitesi üzerine araştırmalar yapılmıştır. Araştırma aglerin ürettiği sekonder metbolitlerden olan antioksidan moleküllerin varlığı ve işlevi ile ilgili olarak, asıl hücre içi savunmada etkili olan enzimlerin etkinliği ve devamında lipid peroksidasyonunun varlığını saptamaya yönelik olarak

yapılmıştır. Glutasyon peroksidaz düzeyi spektrofotometrik olarak, malondialdehid düzeyi ise HPLC tekniği kullanılarak ölçülmüştür.

Günümüzde hastalıkların tedavisi için yeni yöntemler araştırılmakta ve bu konuda birçok bilimsel çalışma yapılmaktadır fakat bir diğer önemli konu da yaşamı sürdürme ve hastalıkları önleme yolunda ki çabalarımızdır. Beslenme, yaşamın sürekliliği açısından vazgeçilmez temel gereksinimimiz olduğu için, hastalıklardan korunma ve yaşamı sağlıklı sürdürme amacı da beslenme ile ilişkilendirilerek, sağlığımız açısından yararlı besin kaynakları arayışına gidilmiştir. Yaşam için gerekli olan solduğumuz oksijen, vücutta serbest radikaller adını verdiğimiz oksidanların oluşmasına neden olur ve serbest radikaller hücrelerde hasara neden olan bir dizi reaksiyon başlatmak için yeterlidirler. Antioksidanlar ise serbest radikaller ile reaksiyona girerek onların zararlı etkilerinden vücudu korurlar ve hastalığın başlangıcında hastalık riskini engellerler.

Vücudumuzda belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta sürekli belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar.

Antioksidanların yararlı etkilerinin bulunuşuna bağlı olarak, doğal antioksidan kaynakları üzerine çalışmalar yapılmıştır. Sebze ve meyveler birçok doğal antioksidan içerirler (Cao. ve ark.,1996). Doğal antioksidan bileşikler; sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve ark. 1990). Antioksidan bileşikler bakımından karasal gıdalı besinlerin yanında mikro ve makro alg türleri de önemli bir yere sahiptir.

Mikroalgler içerdikleri çeşitli antioksidan vitaminler bakımından zengindir. Tokoferoller (E vitamini), askorbik asit(C Vitamini), karotenoidler, boflavonoidler ve retinoidler karasal kaynaklı ürünlerde ve alglerde bulunabilen antioksidan bileşiklerdir. İnsan vücudunda tokoferol sentezlenmediği için dışarıdan alınmak zorundadır ve vücuda alınan tokoferol ince barsakta emilir ve lenf yolu ile dolaşıma katılır. E vitamininin antioksidan özelliği, serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonunu inhibe etmesinden ileri gelir. Çok güçlü antioksidan etkiye sahip pigment, astaksantini hücre içinde yüksek miktarda biriktirme özelliğine sahip olan *Haematococcus pluvialis* (*Chlorophyceae*)'in kapalı sistemlerde (panel ya da tübüler fotobiyoreaktörler) üretimi yapılmaktadır (Gökpınar ve ark.,2006).

Mikroalg türlerinin yanı sıra çalışma konumuzu oluşturan makroalgler de yüksek antioksidan etkiye sahip bileşikler içermektedir. Alglerdeki yüksek antioksidan etki glutatyon, askorbik asit, α -tokoferol, β -karoten, flavonoidler, hidrokinonlar, fikosiyaninler, prolin, mannitol, myoinositol, fenolik bileşikler ve poliaminler gibi enzimatik olmayan antioksidan bileşikleri yüksek düzeyde içermesinden ileri gelir (Mallick ve Mohn, 2000). Örneğin kahverengi alglerden 11, yeşil alglerden 1 ve kırmızı alglerden 5 tür olmak üzere toplam 17 makroalg türü üzerinde yapılan bir araştırmada *Sargassum* türünün en yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Matsukawa ve ark., 1997). Dünyada bu alanda yapılan çalışmalar hızla artmaktadır; doğal kaynaklara yönelim ve hammaddenin doğada hazır bulunuşu da sağlık temelinde yapılan çalışmalara büyük ivme kazandırmaktadır.

İnsanlarda yaşlanma ve kronik hastalıklar karmaşık biyolojik süreçler sonucunda oluşur. Bu karmaşık süreçleri anlamak için çeşitli hipotezler öne sürülmüş ve bunlar deneysel olarak test edilmiştir. Yaşlanma ile ilgili olarak ileri sürülen teoriler son yıllarda moleküler genetik ve deneysel tekniklerde sağlanan ilerlemeler ile açıklanmaya başlanmıştır. Reaktif oksijen türlerinin hücrede giderek artan bir şekilde oluşturduğu zararlar esas olarak yaşlı hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerindeki değişimleri kapsar. Yaşlanma ile ilgili öne sürülen teorilerden en çok dikkat çeken “serbest radikaller” teorisidir. Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkar. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu katabolik reaksiyonların yanı sıra yağlı diyetler, sağlıksız beslenme, sigara, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır. Serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya neden olurlar. Bu bakımdan antioksidanlar, hücrede tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Yapılan araştırmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymuştur (Gökpınar ve ark. 2006).

Organizma, serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı intrasellüler ve ekstrasellüler savunma mekanizmalarına sahiptir. Öncelikle intrasellüler savunma sistemi etkili olmaktadır. Antioksidan savunma esas olarak üç antioksidan enzimle (superoksit dismutaz-SOD, katalaz-CAT, glutatyon peroksidaz-GPx) sağlanmaktadır. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında rol oynamaktadır. Selenyum, glutatyon peroksidazın önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Ağız yolu ile alınan selenyum GPx ve Cat etkisini in vivo olarak artırıp serbest radikallerin etkisini ortadan kaldırdığı belirtilmiştir (Halliwell ve Gutteridge,1989). Glutatyon peroksidaz ve diğer enzim aktiviteleri organizmada antioksidan durumundaki

değişikliğin saptanmasında kullanılmaktadır. Bu enzimatik savunmalar yeterli olmayıp, lipid peroksidasyonu başlarsa düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları, yağ asitleri yerine kendileri yükseltgenerek reaksiyonların devam etmesini önlemeye çalışmaktadır. Lipit peroksidasyonu ürünü olan MDA, moleküler oksijen azalması yaparak süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur ki bu ürünler de hücre ve dokularda hasar yaratırlar. Malondialdehit (MDA) ölçümü lipid peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesi için en sık başvuru testtir. Serbest MDA'nın direkt tayini en güvenilir şekilde yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle yapılmaktadır.

Lipid peroksidasyon ürünleri DNA hasarına ve Na⁺/K⁺ ATPaz ve glutamat taşıyıcıları gibi proteinlerin inhibisyonuna neden olur. Artan lipid peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu epoksitler oluşur. Bunlar hücre içinde nükleofilik merkez ile spontan olarak reaksiyona girip DNA, RNA ve proteinlere kovalent olarak bağlanır. Böyle bir reaksiyon sitotoksisiteye, alerjiye, mutajeniteye veya karsinogenezise neden olabilir. Lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA' nın artması proteinlerin inhibisyonuna neden olacağından, bu durum devamında hücre hasarı meydana getirecektir. Malondialdehid miktarlarının, protein miktarlarına oranı tablo 4.12'de gösterilmektedir. Tabloda belirtildiği üzere, MDA/mg(protein) olarak en yüksek oran, *S. acinarium* türünde saptanmıştır, en düşük oran ise *L. obtusa* örneğinde gözlenmektedir. En yüksek malindaldehid miktarı *J. longifurca* türünde saptanmış (Tablo 4.9) ancak toplam protein üzerine etkisi göz önünde bulundurulduğunda, en yüksek etki *S.acinarium* (2,228 mmol/mgr) türünde gözlenmektedir. Sonuçta protein miktarı bir düzeltme faktörüdür ve örneklerin protein hacmi ile birlikte yorumlanması gerekmektedir. Lipid peroksidasyonunun en yüksek derecede *S. acinarium* türünde, daha sonra sırasıyla *C. barbata*, *J. longifurca*, *C. racemosa*, *P. pavonica* ve en düşük miktarda da *L. ontusa* türünde gözlemlendiğini söyleyebiliriz (Tablo 4.12). Elde edilen sonuçları MDA/mgr protein olarak değerlendirdiğimizde, en yüksek değer *S. acinarium* türünde mevcut olup, bu türümüzün daha fazla oksidana maruz kaldığını ya da antioksidan kapasitesinin zayıf olduğunu söyleyebiliriz. Alınan örneklerin kirliliğinin en az olduğu sahil bölgesinden ve kış mevsiminde toplandığı göz önünde bulundurulursa ve daha kirli bölgelerden toplanan *P. pavonica* (yaz mevsimi) ile kıyaslanırsa, lipid peroksidasyonunun kısacası hücre hasarının yüksek bulunduğu, *S. acinarium* türünün antioksidan kapasitesinin düşük olduğu söylenebilir.

Örneklerin enzim etkinliği yani Glutasyon Peroksidaz (GPX) aktivitesine ait sonuçlar Tablo 4.8'de gösterilmiştir. Sonuçta en yüksek GPX aktivitesi, *P. pavonica* daha sonra sırasıyla *S. acinarium*, *J. longifurca*, *C. racemosa*, *L. obtusa* ve *C. barbata* türlerinde gözlenmiştir. Lipit peroksidasyonu yönünden en yüksek, enzim etkinliği yönünden de, oldukça yüksek GPx aktivitesi içeren *S. acinarium* türünün, diğer antioksidan moleküller yönünden zayıf olduğunu,

sadece enzim etkinliğinin oksidanlara karşı etki mekanizmasında yeterli olmadığını belirtebiliriz. Stres koşullarını değerlendirdiğimizde, en yüksek GPX aktivitesi saptanan *P. pavonica* türü Çeşme istasyonundan kış aylarında toplanmıştır. Diğer türlerden *S. acinarium* hariç olmak üzere, tümü Çeşme bölgesinden farklı istasyonlardan toplanmıştır, istasyonların kirlilik koşulları dikkate alındığında sonuçlar çok ta anlamlı görünmemektedir fakat en yüksek aktivitenin bulunduğu *P. pavonica* türü balık çiftliklerinin olduğu bölgeden toplanmıştır ve bu bölge diğerlerine göre daha kirlidir. Enzim aktivitesinin artmış olması, antioksidan kapasitedeki artışında bir göstergesidir. Kirli bölgelerden toplanan ve GPX aktivitesi yüksek, MDA miktarı düşük olan *P. pavonica* türünün, antioksidan savunmasında artış gözlemlendiğini bulunduğu ekolojik ortama bağlayabiliriz. Yine aynı istasyondan toplanan *J. longifurca* türünde de GPX aktivitesi yüksek, lipid peroksidasyonu düşük bulunmuştur. *J. longifurca* türünün de antioksidan kapasitesinin, denenen diğer türlere göre yüksek olduğunu belirtebiliriz. Örneklerin stres koşullarına ışık açısından bakıldığında, *P. pavonica*, *C. barbata* ve *S. acinarium* kış aylarında toplanmıştır diğer türler ise baharda toplanmıştır. *P. pavonica* ve *S. acinarium* türlerinin GPX aktiviteleri yüksektir ancak *C. barbata* örneğinin glutatyon peroksidaz aktivitesi yüksek bulunmuş olsaydı, ışık toleransına göre türler antioksidan kapasiteleri yönünden değerlendirilebilirdi. Ancak bu durumdaki sonuçlar anlamlı korelasyon sağlamamaktadır.

Fotosentetik bikilerde, reaktif oksijen türleri hücresel sinyaller ve metabolik aktivitelerin regülasyonu gibi birçok metabolik olayda önemli etkiye sahiptir. (Hippeli ve ark.,1999). Cavas ve Yurdakoc (2005) çalışmasında enzim etkinliği ile güneş ışınları ve suyun sıcaklığı arasında bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Sonuçta enzim etkinliğinin güneş ışınları yada su sıcaklığı arasında önemli bir bağlantı olmadığını saptamışlardır, enzim etkinliğinin bakteriyal bir etki ile değişim gösterebileceği düşünülmüştür. Enzim etkinliği birçok stres faktörüne bağlı olarak birçok araştırmada çalışılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda enzim etkinliği ile stres faktörlerinin doğrudan ilgisinin olmadığı, başka faktörlerin de etkilerinin araştırılması gerektiği saptanmıştır.

Çalışmamız kapsamındaki makro alg türleri için, antioksidan kapasiteleri yönünden yorumlamalar yapılmıştır ancak kesin olarak bir türün antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için, türlerin kontrollü bir laboratuvar ortamında yetiştirilmesi ve hepsinin eşit derecede oksidana maruz bırakılması gerekmektedir. Laboratuvar koşullarında eşit derecede oksidana maruz kalmış türlerin, MDA miktarları antioksidan kapasiteleri yönünden daha verimli bilgiler verebileceği bilinmektedir. Ancak makro alg türlerinin, mevsimlere ve istasyonlara bağlı olmaksızın toplanarak değerlendirildiği çalışmanın, antioksidan çalışmalara yön verebilmesi açısından bir ön çalışma olması hedeflenmiştir. Bir antioksidan ajan araştırması yapılırken öncelikle türün bulunduğu ortam koşulları içerisinde oksidatif strese yanıtı araştırılmalıdır çünkü türün ilk toplandığı ve hasat edildiği alan kendi ekolojik ortamıdır ve bu ortamda vermiş olduğu

yanıt tamamıyla kendi hücresel yanıtı olacaktır. Eğer kendi koşullarında bir tür, bir oksidana karşı anlamlı bir yanıt veriyorsa ikinci aşama olarak, kontrollü bir laboratuarda farklı oksidantlara maruz bırakılarak deneysel çalışmalara devam edilmelidir. Makro alglerde, etken bir antioksidan maddenin varolduğunu ve yapılacak ileri seviyedeki araştırmalarla bunların saptanabileceğini umuyoruz.

6. ÖNERİLER

Ülkemizde birçok insan hekimlere ve ilaçlara ulaşmakta ciddi zorluklar yaşamaktadır. Buna bağlı olarak, insanların çoğu bitkilerin yapraklarından, çiçeklerinden, saplarından değişik özütler ve sıvı halde formlar elde ederek, kanserden diyabete kadar birçok hastalığın tedavisinde bunları kullanmaktadırlar. Bilimsel yaklaşımdan oldukça uzak bu durum, toplumun büyük kesiminin bilimsel bilgiyi kullanmadaki yetersizliğine de ortaya çıkarmaktadır, bilimsel temeli olmayan bu tür bilgileri toplumda birçok yetersiz insan tarafından kullanılması yanında, aktar kültürüne çok yakın olan bilim adamlarının olması da bir o kadar şaşırtıcıdır. Sağlık otoritesi olarak Sağlık Bakanlığının ve meslek odalarının bu tür tedavi yaklaşımı sergileyenler konusunda daha dikkatli olmaları gerekmektedir. Bir molekülün ilaç olabilmesi için, her şeyden önce belli bir hastalıkta, bir indikasyonda faydalı olabileceğini öngören bir hipotez olması gerekir. Bu hipotezi destekleyen bir dizi bilimsel bulgu sonrası, etken madde ilaç olarak değerlendirmeye alınabilmektedir (Goodman&Gilman,2001).

Sürekli artan hastalıklar ve yeni tedavi yaklaşımları yeni antibiyotiklerin ve antioksidan molekülleri araştırma çalışmaları bilimsel sürece de hız kazandırmıştır ve bu alanda yeni türlerin arayışı sürekli devam etmektedir. Algler son yıllarda bu konuda çalışılan yeni tür grupları arasında sayılabilir. Ekolojik olarak bulunma güçlüğünün olmaması, hasatının kolay olması da bu konuya yönelimi arttırmıştır. Çalışmamızda ülkemizin alg türleri yönünden zenginliğini göz önüne alarak belirlediğimiz türlerde antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerin saptanması hedeflenmiştir. Tüm kıyılarımızda mevcut alglerin potansiyel birer kaynak olduğunu unutmadan, araştırmalar yoğunlaştırılmalıdır. Etkin bir antimikrobiyal ya da antioksidan madde varlığının tespiti doğal kaynaklara yönelimi arttıracaktır ve yeni farmasotik çalışmalara yön verecektir. Tüm dünya ülkelerinde alternatif antibiyotik ve antioksidan bileşenleri aranmakta ve maddi boyutları düşünüldüğünde ekonomik yönden daha uygun olabileceği düşünülen alg türlerine ve bitki türlerine yönelim savunulmaktadır. Etken maddeyi doğal yollardan elde etmek ve eldesi için kolay hızlı yöntemler geliştirmek, ülke ekonomisine büyük katkı sağlayacaktır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarımız sonucu elde ettiğimiz bulgulara göre en etken madde *Codium fragile* türünden elde edilmiştir. Dünyada ve ülkemizde yapılan birçok çalışmada, kahverengi alglerin öncelikle en etkili antimikrobiyal maddelere sahip oldukları bilinmekteydi ancak yeşil alglerden olan *C. fragile ssp. tomentosoides* türünde bu tür bir etkinlik saptanması

oldukça önemli bir veri olmaktadır. Bu türün toplandığı istasyona bağlı bir durum olabilir ki; tür farklı istasyonlardan, farklı mevsimlerde toplanarak tekrar antimikrobiyal aktivite testleri yapılmalı ve veriler kıyaslanmalıdır. Genel olarak tüm istasyonlardan elde edilen türlerde benzer sonuçlar elde edildiğinde, türün ileri farmasotik araştırmalarla kimyasal içeriği ve içerisinde ki etken madde saptanmaya çalışılmalıdır. Etken maddenin, belli bir miktar örneğin içinde bulunma miktarı ve etken maddenin elde edilmesi için, hasat edilmesi gereken toplam alg miktarı belirlenmeli ve ekonomik olduğu düşünülürse, hayvan deneyleri ile sonuçlar desteklenmelidir.

Yine yeşil alglerden *Enteromorpha linza* türünde, *E. coli* ve *Proteus vulgaris*'e karşı anlamlı sonuçlar bulunmuştur. Bu sonuçlar ve yapılan diğer çalışmaların sonuçları da göz önünde bulundurularak, ileri çalışmalar yapılması önerilmektedir.

Antioksidan kapasite araştırma çalışmalarımız ile ilgili olarak, enzim etkinliği glutatyon peroksidaz aktivitesi yönünden en etkin tür, *P. pavonica* örneğinde saptanmıştır (13,775 U/L), bunu sırası ile *S. acinarium* (12,401 U/L), *J. longifurca* (11,272 U/L) türleri izlemiştir. Sıralamaya baktığımızda sonuçların türlerin dahil olduğu taksonomik sınıflarla ilgisi olmadığı, en yüksek ve en düşük aktivitenin kahverengi alglerde görüldüğü saptanmıştır. Lipid peroksidasyon düzeylerine baktığımızda ise en fazla oksidatif strese etkilenerek lipid peroksidasyonunu arttırmış olan türümüz ise, *S. acinarium* türüdür. Bu tür ile ilgili olarak, çalışmalar oksidan düzeyleri belli kontrollü bir laboratuvar ortamında tekrar edilerek ileri farmasötik araştırmalara geçilmelidir.

Sonuç olarak, antimikrobiyal ve antioksidan madde arayışında öncelikle, yapılan diğer bilimsel çalışmalar göz önünde bulundurularak etkili olabileceği düşünülen yeni türler seçilmeli, türlerin yayılış alanları ve mevsimsel dağılımı gibi fizyolojik koşullar da dikkate alınarak tüm türlerde ön tarama yapılmalıdır. Eğer araştırılan türlerde anlamlı sonuçlar bulunursa, ekolojik koşullar kontrollü laboratuvar ortamında değerlendirilerek ikinci aşama kaydedilmelidir. Sonuçlar yine etken madde yönünden anlamlı bulunursa, hayvan deneyleri ile hipotez desteklenmelidir. Etken madde, etik kurulca kabul edilmiş belli hayvanlar üzerinde de etkinlik gösteriyorsa son aşama olarak insan deneyleri yapılabilir. Ancak bu süreçleri genel anlamda tamamlayan bir madde, bir hastalığın tedavisinde etken madde olarak kabul edilebilmektedir. Kıyılarımızdaki alg türlerinin zenginliğini düşünerek, bilimsel çalışmaların aşamalı olarak bu süreçlerden geçmesi ve yeni tür arayışının yaygınlaşması önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Abourriche, A., Charrouf, M., Berrada, M., Bennamara, A., Chaib, N., Francisco, C., 1999. Antimicrobial activities and cytotoxicity of the Brown alga *Cytoseira tamariscifolia*. *Fitoterapia* 70, 611 – 614.
2. Adams, N.M. ,1994. *Seaweeds of New Zealand. An Illustrated Guide*. pp. 360, 116 pls. Christchurch: Canterbury University Press.
3. Agarwal ,R., Chase,S.D,2002. Rapid, fluorometric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *Journal of Chromatography B*,775,121-126.
4. Ahmad, V.U. , M.S. Ali, 1992. Chemical constituents of marine red alga *Laurencia pinnatifida* Lamour., *Hamdard Medicus*, XXXV(3), 5-15.
5. Andrews, J,M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48,S1,5-16.
6. Anngadiredja ,J. ,Andyani,R., Hayati and Mawanah,2004. Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands. *Journal of Applied Phycology*,Vol.9,pp 477-479.
7. Apel,K and Hirt,H.,2004. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction, *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 55: 373-399.
8. Asada, K. , 1999. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev.Plant Physiol. Mol. Biol.*50,601-639.
9. Atay D. ,1978. Deniz yosunlarını Değerlendirme Olanakları. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Başbakanlık Basımevi, Ankara p.1–128.
10. Athanasiadis, A. , 1987. A survey of the seaweeds of the Aegean Sea with taxonomic studies on species of the tribe Antithamnieae (Rhodophyta). pp. i-vii, [1]-174. Gothenburg: University of Gothenburg.
11. Awad, N.E., 1998. Phytochemical and Biological Studies on the Gren Alga *Enteromorpha intestinalis* Link., *Egypt. J. Pharm.*,39, 303 – 322 .
12. Aydın, M., 2004. Kandida cinsi mantarlar (*C. albicans*). Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji. Sa: 1109, Güneş Yayınevi,Ankara.

13. Baslow, M.H. ,1969. A Study of Toxins and other Biologically Active Substances of Marine Origin, *Marine Pharmacology*, 35, 293 – 298.
14. Benzer,F. ,Ozan, S.T. ,2003. *Fasciola hepatica* Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci*,27: 657-661.
15. Ben Maiz, N., Boudouresque, C.-F. and Quahchi, F. 1987. Inventaire des algues et phanérogames marines benthiques de la Tunisie. *Giornale Botanico Italiano* 121: 259-304.
16. Bilgehan, H. , 1992. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 1. baskı, Fakülteler Kitabevi.
17. Borek C. , 1993. Molecular mechanisms in cancer induction and prevention. *Environ. Health Perspect.* ,101:237-245.
18. Bozkurt, H., Güdücüoğlu,H. , Kurtoğlu, M.G., Körkoca, H., Çiftçi, İ.H., Aygül,K., Berktaş, M., 2005. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus Vulgaris* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları, *Van Tıp Dergisi*: 12 (2):145-148, 2005.
19. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3426-3431.
20. Caraus, I., 2002 . The algae of Romania. *Studii si Cercetari, Universitatea Bacau, Biologie* 7: 1-694.
21. Cavaş,L.,Yurdakoç,K. ,2005. An investigation on the antioxidant status of the invasive alga *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque,Huisman, et Boudouresque (Caulerpales, Chlorophyta). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*325, 189-200.
22. Challenger, F. , Simpson, MI.1948. Studies on biological methylation, Part 12, A precursor of the dimethyl sulphide evolved by *Polysiphonia fastigata*, Dimethyl-2-carboxyethylsulfonium,hydroxide and its salts. *J. Chem. Soc.* 3:1591–1597.
23. Chan, W.K.M.; Decker, E.A.; Chow, C.K.; Biossonneault, G.A. Effect of Dietary Carnosine onEndogenous Antioxidant Concentrations and Oxidative Stability of Rat Skeletal Muscle. *Lipids* 1994, 29,461-466.

24. Cheeseman KH, Slater TF, 1993. An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin 49(3):481-493.
25. Cirik, S., Cirik,Ş., 2004. Limnoloji. Ege Üniv. Su ürünleri Fak.Yayınları no:21. İZMİR.
26. Cirik, S., Zeybek, N., Aysel, V. And Cirik, S. ,1990. Note préliminaire sur la végétation marine di l'île de Gökçeada (Mer Egée Nord, Turquie). *Thalassografica* 13 (suppl. 1): 33-37.
27. Coyle,M.B.,2005.Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing,Departments of Laboratory Medicine and Microbiology,University of Washington,Seattle, Washington 98195
28. Crasta,P.J.,Raviraja,N.S. and Sridhar,S.R.,1997. Antimicrobial activity of some marine algae of southwest coast of India. Indian Journal of Marine Sciences,26,201-205.
29. Çavdar, C., Sifil,A., Çamsarı, T., 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve antioksidan Savunma, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association ; 3-4: 92-95.
30. Çetin, H, 2007. Yenidoğan ratlarda Amikasinine bağlı Deneysel Böbrek Hasarı ve Antioksidanların Rolü, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı, Uzmanlık Tezi, 80s, Isparta.
31. Çetingül,V.,1993. Ekonomik Değerdeki Bazı Deniz Alglerinin Kimyasal İçeriklerinin Saptanması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Biyoloji A.B.D.,159s, İzmir.
32. Çetingül V, Aysel V, Dural B, Güner H.,1994. An Investigation on the Soluble Carbohydrate and Protein Amounts of Some Red Algae Collected from Different Sites of Izmir Bay. Fac.of Fish. 11 (41): 11–18.
33. Çetingül V, Aysel V, Kurumlu-Kuran Y.,2000. Biochemical investigation and heavy metal contents of *Cladophora dalmatica* Kütz. and *Ceramium ciliatum* (Ellis) Ducl. var. *robustum* (J.Ag) from Aegean Sea (Turkish coast). Turkish J. Marine Sciences. 6 (1): 9–22.
34. Demain, A. L., 1999. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 52, 455-463.
35. Dixon P.S,1982, Rhodophycota. In synopsis and classification of living organisms, Vol.I pp. 61-79. Mc Graw-Hill, New York.

36. Ehresmann DW, Deig EE, Hatch MT, Di Salvo EH, Vedros NA. ,1997. Antiviral substances from California marine algae. J. Phycol. 13: 37–40.
37. Einav, R., 2007. Seaweeds of the eastern Mediterranean coast. pp. [i-vi],[1-5] 6-266. Ruggell, Liechtenstein: A.R.G. Gantner Verlag K.G.
38. El-Masry, M.H., Mostafa M.H.,İbrahim,A.M.M. and El-Naggar,M.M.A.,2005. Active Biological materials İnhibiting Tumor İnitiation Extracted from Marine Algae. Egytpitian Journal of Aquatic Research,Vol. 31,1.
39. Eloff, J.N., 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts bacteria. Planta Med. 64, 711-713.
40. Ely R, Supriya T, Naik CG., 2004. Antimicrobial activity of marine organisms collected off the coast of South East India. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. ; 309: 121–127.
41. Erdem,B., Tekeli,A., Şahin,F., Koyuncu,E., Bayramova, M., Karasartova, D., 2007. Türkiye'de İzole Edilen Salmonella enterica Serotip Typhimirium Suşlarının Plazmit Profilleri ve Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analizi. İnfeksiyon Dergisi; 21 (3): 105-115.
42. Erden,M.,1992. Serbest Radikaller, Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri, 12, 201-207.
43. Ertan ÖO, Gülyavuz H, Turna İ, Savaş İ., 1995. Antalya Körfezinde Bulunan *Padina pavonia* (L.) Gaillon 1847'nın Kimyasal Bileşiminin Mevsimsel Değişimi. II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kong. Bildirileri, Ankara, 220–227.
44. Ertan ÖO, Turna İ, Gülyavuz H, Savaş S, Morkoyunlu A, Ateş Ş.,1997. Bazı Makroalglerin Kimyasal içeriğinin Mevsimsel değişimi. S.D.Ü. Eğirdir Su Ürn. Fak. Derg.; 5: 140–153.
45. Faulkner,DJ.,1984. Marine Natural Products: Metabolites of Marine Invertebrates, *Nat. Prod. Rep.*, 1, 251.
46. Fırat C, Öztürk M, Taşkın E, Kurt O.,2007. *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J.Agardh' nın (Chlorophyceae=Yeşil Algler) Biyokimyasal İçeriği. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi. 24(1–2): 89–91.

47. Fitton JH. , 2006. Antiviral properties of marine algae. In: Critchley AT, Ohno M, Largo DB (eds) World seaweed resources. Windows & Macintosh. ETI Information Services, Workingham, U.K.. 7 pp.
48. Freile-Pelegrín Y, Morales JL.,2004. Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. Bot. Mar. ; 47: 140–146.
49. Gallardo, T., Gómez Garreta, A., Ribera, M.A., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Boudouresque, C.-F., 1993. Check-list of Mediterranean Seaweeds, II. Chlorophyceae Wille s.l.. *Botanica Marina* 36: 399-421, 1 fig, 1 table.
50. Glombitza,K.W.,1969. Antibacterial components in algae, Helgol. wiss. Meeres.; 19: 376–384.
51. Gómez Garreta, A., Gallardo, T., Ribera, M.A., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Boudouresque, C.-F., 2001. Checklist of the Mediterranean seaweeds. III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Botanica Marina* 44: 425-460.
52. Gonzalez, A.G.; Darias,V and Estevez,E. 1982. Chemo-theraeutic activity of polyhalogenated terpens from Spanish algae. J. Planta Medica, 44:44 - 46.
53. Gonzalez del Val, A., Platas, G., Basilio, A. ,2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). Int. Microbiol. 4: 35-40.
54. Goodman and Gilman, 2001. The Pharmacological Basis of Therapeutics (10th edition). J. G. Hardman & L. E. Limbird (eds), McGraw Hill .
55. Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T.,Durmaz, Y.,2006. Algal Antioksidanlar, EÜ Su Ürünleri Dergisi, 23, 85 – 89.
56. Gutteridge, J.M., Halliwell B., 1989. The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation in Biological Systems, Trends Biochem. Sci.; 15: 129-135.
57. Gutteridge, J.M.,1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. Chem Biol Inter 91:133-40.

58. Günaydın,B. , Çelebi,H.,2003. Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller ve antioksidanlarla İlişkileri.Anestezi Dergisi 2003; 11 (2): 87 – 98.
59. Güner, H., Aysel, V., Sukatar, A. & Öztürk, M.,1985. Türkiye Ege Denizi Florası. I. Mavi-yesil, yesil, esmer alger kapalı tohumlular. *Doga Bilim Dergisi, Ser. A*, 9: 272-282.
60. Güner, H.,Aysel,V. 1996. Tohumuz Bitkiler Sistematiği, I. Cilt, Ege Üniversitesi Fen Fak. Kitaplar Serisi No:108, 251 s.
61. Gürgün, V.,Halkman,K., 1990. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri; Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no 7. Ankara, 2. Baskı.
62. Güven, K.C. , Öztig, F. 1971. Über die marinen Algen an den Küsten der Türkei. *Botanica Marina* 14: 121-128.
63. Haas, P. ,1935. Liberation of methyl sulphide by seaweed, *Biochem. J.*, 29, 1297 – 1299
64. Haliki,A. , Denizci, AA. , Çetingül, V. ,2005. An investigation on antifungal activities of some marine algae (Phaeophyta, Rhodophyta). *EU J. Fish. Aquatic Sci.* 22: 13–15.
65. Halliwell,B.,& Gutteridge, J.M.C., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemistry journal* 219, 1-14.
66. Halliwell B, Gutteridge J.M.C.,1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Second ed 1983; 19: 234, Clarendon Press, Oxford.
67. Halliwell B. 1994. Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52:253-265.
68. Halliwell B. Antioxidants, 1997.The basics what are they and how to evaluate them. *Adv Pharmacol* ,38:3-20.
69. Hammer K. A., Carson C.F., and Riley T. V.,1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology* , 86, 985-990.
70. Hardy, FG., Guiry, MD.,2003. *A Check-list and Atlas of the Seaweeds of Britain and Ireland*. London: British Phycological Society. pp. 435.
71. Haroun, RJ. , Gil-Rodríguez MC, Díaz de Castro J, Prud'homme van Reine WF. ,2002. A Checklist of the Marine Plants from the Canary Islands (Central Eastern Atlantic Ocean). *Botanica Marina.*; 45: 139–169.

72. Helms, M., P. Vastrup, P. Gerner-Smidt, and K. Molbak. 2002. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium. *Emerg. Infect. Dis.* 8:490-495.
73. Hilmi,Ş. ,1994. Oksidanlar ve antioksidanlar. *THTDrg*, 48:1-2,44-49.
74. Hippeli, S., Heiser, I., and Elstner, E. F. ,1999. Activated oxygen and free oxygen radicals in pathology: New insights and analogies between animals and plants. *Plant Physiol. Biochem. Paris*, 37, 167–178.
75. Hoek, C. Van den. , Mann, D.G., Jahns, H.M., 1995. An introduction to phycology. Cambridge Univ. Press, 1-627.
76. Hong, YL., Yeh, SL., Chang, CY., Hu, ML., 2000. Total plasma malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid tests and an improved high performance liquid chromatography-based method. *Clin Biochem.*;33(8):619-25.
77. Hornsey, I.S. and Hide, D., 1974. The Production of Antimicrobial Compounds By British Marine Algae – Antibiotic Producing Marine Algae. *Br. phycol. J.*9:353-361.
78. Hornsey, I.S. and Hide, D., 1985. The Production of Antimicrobial Compounds by British Marine Algae. IV Variation of Antimicrobial Activity with Algal Generation, *Br. Phycol. J.*,20, 21 – 25.
79. Ibtissam,C.,Hassane,R.,Jose,M.,Francisko,D.S.,Jose Antonio, G.V., Hassan,B. and Mohamed,K.,2009. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco, *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (7), pp. 1258-1262.
80. İkiz, Yüksel, 2006. Reaktif Boyar Maddelerle Boyanmış Pamuklu Dokumaların yıkama, Ter ve Sürtme Haslıklarının Gözle ve spektrofotometre ile Değerlendirilmesi, Yüksek lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
81. John, D.M., Prud'homme van Reine, W.F., Lawson, G.W., Kostermans, T.B. & Price, J.H., 2004. A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 127: 1-339, 1 fig.

82. Jorgensen, J.H, Turnidge, J.D, Washington, J.A.,1999. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: Murray PR, Tenover FC, Baron EJ, Pfaller MA, Yolen RH, ed. Manual of clinical microbiology, 7th ed.. Washington,DC: ASM Press;1526-1543.
83. Kaleli,D.,Özkaya,D.F., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 17. Bölüm .
84. Kang,K., Park,Y.,Hwang,J., Kim, H.S., Lee, G.J.and Shin, H.C., 2003. Antioxidative Properties of Brown Algae Polyphenolic and Their Perspectives as Chemopreventive Agents Against Vascular Risk Factors, Arch Pharm, Vol 26, No:4 pp.286-293.
85. Karabay-Yavaşoğlu, N.U., Sukatar, A, Özdemir, G., Horzum, Z. ,2007. Antimicrobial activity of volatile components and various extracts of the red alga *Jania rubens*. Phytother. Res. ,21: 153–156.
86. Kaur,C. , Kapoor, H.C.,2001. Antioxidants in fruits and Vegetables-the millenniums health, International Journal of Food Science and Technology.
87. Kayser,H .F.,Bienz, K. A., Eckert,J., Zinkernagel,R. M.,2002.Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Kitabevi, Genişletilmiş ve gözden geçirilmiş 9. Baskı.
88. Keeton,W.T., Gould,J.L., 1999. Biological Science, 163.s.
89. Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. and Levin ,E.D.,1998. Oxidative Stress in Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems, *Environmental Health Perspectives* Volume 106, Number 7.
90. Khaleafa, A.E., Kharboush, A., Metwalli, A., Mohsen, F. and Serwi, A.,1975. Antibiotic fungicidal action from extracts of some seaweeds, *Bot. Mar.*, 18, 163 – 165
91. Koch, R. 1881. In Milestones in Microbiology: 1556 to 1940, translated and edited by Thomas D. Brock, ASM Press. 1998, p101.
92. Koç, E, Üstün,A.S, 2008. Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Dergisi, 24(1-2) 82-100.

93. Kuda, T., Tsunekawa, M. , Hishi, T. and Araki, Y., 2004. Antioxidant properties of dried 'kayamo-nori', a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). Food Chemistry , Volume 89, Issue 4, 617-622.
94. Kuda,T. , Tsunekawa, M.,Goto,H. and Araki, Y.,2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of food composition and Analyses, 18, 625-633.
95. Kumar, KA. , Rengasamy, R., 2000. Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. BotMarina 43: 409–415.
96. Kuyucu,N.,2007. Antibiyotik Direnci. Çocuk Enf. Dergisi, Özel Sayı 1; 33-8.
97. Lampinen J., 2005. Continuous Antimicrobial susceptibility testing in drug discovery. DrugPlus International, p:1-3.
98. Lee, Y. & Kang, S. ,2001. A catalogue of the seaweeds *in Korea*. pp. [8], 1-662. Jeju: Cheju National University Press.
99. Levring T, Hoppe HA, Schmid OJ. 1969. Marine Algae, A survey of research and utilization. Cram, De Gruyter & CO., Hamburg.
100. Lim, S. N.; Ooi, V. E. C.; Cheung, P. C. K.; Ang, P. O., Jr.,1998. Antioxidative activities of methanol extracts from some marine macroalgae of Hong Kong. Abstracts of the International Symposium on Progress and Progress and Prospect of Marine Biotechnology; Ocean University of Qingdao: Qingdao, China, p 76.
101. Lohrmann,N., Logan,B.A., and Johnson,A.S., 2004. Seasonal Acclimatization of Antioxidants and Photosynthesis in *Chondrus crispus* and *Mastocarpus stellatus*, Two Co-Occurring Red Algae With Differing Stress Tolerances, *Biol. Bull.* **207**: 225-232.
102. Mallick, N., Mohn, F.H. , 2000. Reactive Oxygen species: response of algal cells. J. Plant Physiol. 157: 183-193.
103. Matsukawa, R., Dubinsky, E., Kishimoto, E. , Masaki, Y., Takeuchi, T. M., Chihara, Y. Yamamoto, E. Niki, I. Karube,M., 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. J Appl.Phycol. 9: 29-35.

104. Maxwell, SRJ. ,1995. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49:315-61.
105. Mayers, I., Johnson, D.,1998. The nonspecific inflammatory response to injury. *Can J Anaesth* ,45:871-9.
106. McCord, J., Fridovich, I.,1969. Superoxide dismutase, an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 244:6049-6055,
107. McDermott, P. F., Walker, R. D. and White, D. G. , 2003. Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *Int. J. Toxicol.* 22:135-143.
108. Mtolera MSP, Semesi AK.,1996. Antimicrobial activity of extraxts from six green algae from Tanzania. *Cur. Trends Mar. Bot. Res. ; East Afr. Reg.* pp. 211–217.
109. Nakipoğlu, M. ve Otan, H., 1992. Tıbbi Bitkilerin Flavonitleri, *Anadolu, J. of AARI*, 4 (1), 70-93.
110. Nelson, W.A.,1999. A revised checklist of marine algae naturalised in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 37: 355-359.
111. Souhaili, N., Lagzouli, M., Faid, M.,Fellat-Zerrouck,K., 2003. Inhibition of growth and mycotoxins formation in moulds by marine algae *Cystoseira tamariscifolia*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (1), pp. 71-75.
112. Öğretmen,Ö.,Y.,2007. Orta Karadeniz Bölgesi'nden Toplanan Farklı kırmızı alg Türlerinden Agar-Agar Üretimi ve Kalitesinin Belirlenmesi Üzerine Bir araştırma,Yüksek lisans Tezi, Samsun.
113. Öner,M.,1987. Mikrobiyal Ekoloji, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova,İzmir,282 syf.
114. Özdemir ,G., Horzum, Z., Sukatar, A., Karabay-Yavaşoğlu, NU.,2006. Antimicrobial activities of volatile components and various extracts of *Dictyopteris membranaceae* and *Cystoseira barbata* from the Coast of Izmir, Turkey. *Pharmaceutical Biol.* , 44: 183–188.
115. Öztürk, M.,1984. Türkiye ' nin Ege ve Akdeniz Kıyılarındaki Phaeophyta (Kahverengi Algler) Üyelerinin Yayılımı ve Taksonomisi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik A.B.D., 118

116. Öztürk, M.,1988. Türkiye'nin Ege ve Akdeniz kıyılarındaki Cutleriales, Sphacariales, Scytosiphonales ve Dictyotales üyelerinin yayılışı ve taksonomisi. Doğa Türk Botanik Dergisi. , 12(2): 154–163.
117. Öztürk, M.,1996. Taxonomy and distribution of Fucales (Phaeophyta) members on Aegean and Mediterranean coasts of Turkey. Tr. J. Botany. , 20: 109–118.
118. Paglia, B.E. , Valentine, W.N.,1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med , 1: 158-169.
119. Papenfuss, G.F., 1964. Catalogue and bibliography of Antarctic and Sub-Antarctic benthic marine algae. In: *Bibliography of the Antarctic Seas*. (Lee, M.O. Eds) Vol.1, pp. 1-76. Washington D.C.: American Geophysical Union.
120. Patra,J.K., Rath, S.K., Jena,K.,2008. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (Sargassum sp.) Extract: A Study on İnhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. Turk J. Biol, 32, 119-125.
121. Perez, R.M., Avila, J.G., Perez, S., Martinez, A., Martinez ,G.1989. Antimicrobial activity of some American algae, Journal of ethnopharmacology. 01/05/199005/1990; 29(1):111-6.
122. Pratt, R. ,Daniels. T.C.T,Eiler,J.J ,Gunnison ,J. B., Kumler,W. D., ONETO, J.F., Strait, L. A.,Spoehr H. A., Hardin,G. J. HARDIN, Milner ,H. W., Smith,J. H. C., and Strain, H. H. ,1946. Chlorellin, an antibacterial substance from chlorella, Science, Vol: 99, pp 351-352.
123. Pratt, D.E., Hudson, B.J.F., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants.; Hudson B.J.F., Ed.; Elsevier; Amsterdam, pp 17-192.
124. Ribera, MA., Garreta, AG., Gallardo, T., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G.1992, Check-list of Mediteeanean Seaweeds, I. Fucophyceae. Botanica Marina.; 35: 109–130.
125. Roberto, G., Baratta, M.T. , Biondi, D M. , Amico, V. , 2001. Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus Cystoseira in a micellar model system . J Appl.Phycol. 13: 403-407.
126. Rubinstein, I., John, L., 1974. Sterols of the Siphonous Marine Alga *Codium fragile*, *Phytochemistry*, 13, 481 – 484.

127. Salvador, N., Gómez-Garreta, A., Lavelli, L., Ribera, MA.,2007. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina.* ; 71: 101–113.
128. Saydam, N.,1995. İnsan akciğer tümörlerinde, glutatyon, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferazın doku düzeylerinin tayini. Yüksek Lisans tezi,DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
129. Schwimmer, M, Schwimmer, D.,1955, The role of algae and plankton in medicine, Grunaand Straton, New York.
130. Silva, P.C.,1979. The benthic algal flora of central San Francisco Bay. In: *San Francisco Bay: the Urbanized Estuary.* (Conomos, T.J. Eds), pp. 287-345. San Francisco: Pacific Division, American Association for the Advancement of Science.
131. Silva, PC., Basson, PW., Moe, RL.,1996.Catalogue of The Benthic Marine Algae of The Hindistann Ocean. University of California Publications in Botany., Vol. 79. Pp: 1259.
132. Souhaili, N., Mohamed, L., Mohamed, F., Khadija, F.Z., 2004. İnhibiton of growth and mycotoxins formation in moulds by marine algae *Cystoseira tamariscifolia*, African J. Of Biotechnology Vol.3(1), pp. 71-75.
133. Sukatar, A., 1983. İzmir Körfezi'nde Yayılış Gösteren Bazı Laurencia LAM (Rhodophyta, Ceramiales) Türlerinin Sistematiği. E. Ü. Fen Fakültesi Dergisi Seri B. Supplement Cilt I. s.280-288.
134. Sukatar, A., 1992. Güney Ege (Çeşme-Marmaris Arası) Kıyılarındaki Ekonomik Değerleri Olan Alglerin Ekolojisi (Doktora Tezi).
135. Sukatar, A., 2001. Studies on the Algal Productivity in South Aegean Region of Turkey E.U.Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Vol.18 Issue (1-2): pp.213-223.
136. Sukatar, A. , Karabay-Yavaşoğlu,U., Özdemir,G., Horzum,Z .2006.Antimicrobial activity of volatile component and various extracts of *Enteromorpha linza* (Linnaeus) J. Ag. from the coast of Izmir, Turkey. *Annals of Microbiology*, Vol.56, issue 3,pp.275-279.
137. Şimşek,F.,1999. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi, 8:42-47.

138. Tariq, V.N., 1992. Antifungal activity in crude extracts of marine red algae. *Mycol. res.*, 95:1433-1435.
139. Taşkın, E., 1999. İskenderun körfezi (Hatay Sahili) Makroalgleri, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 165 s.
140. Taşkın, E., Öztürk, M., 2005. Kahverengi Alglerin Taksonomisi ve Türkiye'deki Türlerin Değerlendirilmesi. Ulusal Su Günleri 2005 (28-30 Eylül 2005, Trabzon) *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 4: 137-144.
141. Taşkın,E., Öztürk,M., Taskin,E., Kurt,O.,2007. Antibacterial activities of the Aegean Sea(Turkey). *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (24), pp. 2746-2751.
142. Taşkın E, Öztürk M, Kurt O, Öztürk M.,2008. The check-list of the marine flora of Turkey. Koeltz Sci. Books, Koenigstein, Germany. pp: 1–87.
143. Taylor, W.R.,1960. Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. pp. xi + 870, 14 figs, 80 plates. Ann Arbor: The University of Michigan Press.
144. Tiwari, R.P. , Bharti, S.K. , Kaur, H.D. Dikshit & G.S. Hoondal, R.P.,2005. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. *Indian J Med Res* 122, pp 80-84.
145. Todar,K., 2008. Pathogenic *E. coli*, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
146. Tunail, N., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları.Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 03. Bölüm, 06. Kısım.
147. Tüney, İ., Çadircı,B.H., Ünal, D., Sukatar, A. ,2006.Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (İzmir, Turkey). *Turk J Biol.* , 30: 1–5.
148. Vacca, D. D., and R. A. Walsh, 1954. The antibacterial actvity of an extract obtained from *Ascophyllum nodosum*. *J. Am. Pharm. Assoc.* 43:24-26.
149. Vairappan, C.S., 2003. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae, *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biomolecular Engineering*, 20: 255 - 259.
150. Van Den Hoek ,C. ,Mann,D.G. and Jahns, H.M. ,1995. *Algae. An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge.

151. Varaldo, P.E.,2002. Antimicrobial resistance and susceptibility testing: an evergreen topic, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50, 1–4.
152. Vlachos, V., Critchley, AT., Von Holy, A.,1999. Differential antibacterial activity of extracts frommselected southern African macroalgal thalli. *Bot. Mar.* ; 42: 165–173.
153. Waldeck, AR. , Stocker, R.,1996. Radical-initiated lipid peroxidation in low density lipoproteins: insights obtained from kinetic modeling. *Chem Res Toxicol* 9:954-964 .
154. Wallentinus, I., 2002. Exotics Across the Ocean - EU Concerted Action (MAS3 CT970111)
155. Wise, R. ,1998. Science, medicine, and the future: thedevelopment of new antimicrobial agents. *British Medical Journal*317, 643–4.
156. Woods,G.L., Washington, J.A.,1995. The Clinician and the Microbiology Laboratory. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. Churchill Livingstone, New York.
157. Wynne MJ., 2005. A Checklist of Benthic Marine Algae of the Tropical and Subtropical Western Atlantic: second revision, Beihefte zur Nova Hedwigia. , 129: 1–152.
158. Yazıcı,Y. ,Aydın,F.,Tosun,İ., Kaklıkkaya,N., Çaylan,R.,Köksal,İ.,2004.Klinik Örneklerden İzole Edilen *Enterobacter* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 34:29-32.
159. Zahra,R ., Mehrnaz,M., Farzaneh, V. and Kohzad,S. ,2007. Antioxidant activity of extract from a brown alga, *Sargassum boveanum*. *African Journal of Biotechnology* Vol.6 (24),pp. 2740-2745

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Yeri ve Tarihi : Isparta, 31.05.1980

Lisans, Bitirme Tezi : Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çevre Biyolojisi Öğretim Programı, 1998-2002, “ Soğutma Suyu Sistemlerinde Biyolojik Problemler”

Yüksek Lisans ve Tezi : Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim dalı, Mikrobiyoloji bilim dalı, 2003-2005. “EgeDenizi'nden Toplanan Bazı Makro Alglerin Çeşitli Ekstraktlarının Farmakolojik Aktivitelerinin İncelenmesi ”

Medeni Durum : Evli