



**KUZEYDOĞU AKDENİZ'DEN İZOLE EDİLEN FARKLI
MİKROALG TÜRLERİNİN ANTİOKSİDAN PROTEİN VE
ŞEKER İÇERİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİL YAMAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
ARALIK - 2022**

**KUZEYDOĞU AKDENİZ'DEN İZOLE EDİLEN FARKLI
MİKROALG TÜRLERİNİN ANTİOKSİDAN PROTEİN VE
ŞEKER İÇERİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİL YAMAN
ORCID ID: 0000-0002-7574-363X

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. ELİF EKER DEVELİ
ORCID ID: 0000-0003-0174-1903

İKİNCİ DANIŞMAN
PROF. DR. YÜKSEL KELEŞ
ORCID ID: 0000-0001-8651-8385

MERSİN
ARALIK - 2022

ÖZET

KUZEYDOĞU AKDENİZ'DEN İZOLE EDİLEN FARKLI MİKROALG TÜRLERİNİN ANTIOKSİDAN PROTEİN VE ŞEKER İÇERİKLERİNİN İNCELENMESİ

Kuzeydoğu Akdeniz'den izole edilmiş beş mikroalg türünün; *Helicotheca tamesis*, *Haslea silbo* Gastineau, *Nitzschia navis-varingica*, *Asterionellopsis glacialis* ve *Spirulina* cf. *platensis* toplam antioksidan kapasitesi, klorofil *a*'sı, marker pigment, protein, glikoz ve fruktoz içerikleri araştırılmıştır. Aynı şartlar altında yetiştirilen bu türlerden en yüksek klorofil *a*, fukokasantin, toplam antioksidan kapasitesi, askorbat ve askorbat peroksidaz aktivitesine sahip olanının *N. navis-varingica* olduğu tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada tespit edilen en yüksek toplam antioksidan kapasite, *N. navis-varingica*'da 57 mg g⁻¹ askorbik asit eşdeğeri olarak bulunmuştur ve bu değer, literatürde verilen en yüksek değerden yaklaşık 20 kat daha yüksek bulunmuştur. *Spirulina* cf. *platensis*'in en yüksek fenol ve protein içeriğine sahip tür olduğu görülmüştür. Fakat bu değerler literatür değerlerinden fazla değildir. *H. silbo* en yüksek CUPRAC radikal süpürme kapasitesine sahip olmuştur. *H. tamesis* en yüksek glikoz içeriğine sahip türken, *H. silbo* türler arasında en yüksek fruktoz konsantrasyonuna sahip tür olarak ölçülmüştür. Fenol içeriği, radikal süpürme kapasitesi, glikoz ve fruktoz miktarı bakımından ikinci en önemli tür gene *N. navis-varingica* olmuştur. Toplam süperoksit dismutaz aktivitesi en yüksek olan türün *A. glacialis* olduğu tespit edilmiştir. Bu değer de literatürde bulunan en yüksek değerden daha fazla bulunmuştur. Bulunan değerler literatürdekiler ile karşılaştırıldığında klorofil *a* miktarlarının göreceli olarak düşük sayılabilecek seviyelerde olduğu, fenol miktarlarının orta seviyelerde olduğu, toplam antioksidan kapasitesi açısından yüksek olduğu, askorbik asit miktarlarının literatür değerlerinin üzerinde olduğu, glikoz ve fruktoz değerlerinin bu çalışmada maksimum değerden düşük olduğu görülmüştür. Protein konsantrasyonu literature göre daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan besin elementi miktarının (F/2 Medyum) başka çalışmalarda kullanılan Zarrouk medyum gibi besi yerlerine göre düşük olması protein oranlarının düşük olmasına neden olmuş olabilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, pigmentler, protein, glikoz, fruktoz, klorofil *a*

Danışman: Prof. Dr. Elif EKER DEVELİ, Prof. Dr. Yüksel KELEŞ, Mersin Üniversitesi, Matematik ve Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PROTEIN AND SUGAR CONTENT OF MICROALGAL SPECIES ISOLATED FROM THE NORTHEASTERN MEDITERRANEAN SEA

Antioxidant capacity, chlorophyll *a*, marker pigment, protein, glucose and fructose content of five microalgal species, *Helicotheca tamesis*, *Haslea silbo*, *Nitzschia navis-varingica*, *Asterionellopsis glacialis* and *Spirulina* cf. *platensis* isolated from the northeastern Mediterranean Sea have been investigated. The species having the highest total antioxidant capacity, ascorbate and ascorbat peroxidase activity was detected as *N. navis-varingica*. The highest antioxidant capacity, which was found in *N. navis-varingica* as 57 mg g⁻¹ ascorbic acid equivalent, is about 20 times higher than the maximum value given in literature. *Spirulina* cf. *platensis* was observed to have the highest phenol and protein levels. However, the values are not higher than literature values. *H. silbo* had the highest CUPRAC radical scavenging activity. *H. tamesis* was the species having the highest levels of glucose concentration while *H. silbo* had the highest fructose content among other species. *N. navis-varingica* was the second most important species in terms of phenol content, radical scavenging capacity, glucose and fructose quantity. The species having the highest total superoxide dismutase activity was *A. glacialis*. This value is higher than maximum total SOD activity value given in literature. When these values were compared with the ones in the literature, chlorophyll *a* concentrations were relatively low, phenol concentrations were at moderate levels, total antioxidant capacity was high, ascorbic acid concentrations were also relatively high, glucose and fructose was low. Protein concentrations were found low compared to the ones recorded in literature. This can be due to the culture medium (F/2 medium) used in the present study has much lower concentrations of nutrients compared to the medium such as Zarrouk used in other studies.

Key words: Antioxidants, pigments, protein, glucose, fructose, chlorophyll *a*

Advisor: Prof Dr. Elif EKER DEVELİ, Prof. Dr. Yüksel KELEŞ. Mersin University, Mersin

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminde ve çalışmamın yürütülmesinde bana her türlü olanağı sağlayan, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Elif Eker DEVELİ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında ve tezimin düzeltilmesine değerli katkıları olan jüri üyeleri ve Prof. Dr. Yüksel KELEŞ'e, Dr. Öğr. Üyesi Korhan ÖZKAN'a şükranlarımı sunar analiz aşamasında laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Emine Akdeniz'e teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım İlker Tunur'a teşekkürler ederim. Çalışmamızda marker pigmentlerinin ölçümleri ODTÜ-Deniz Bilimleri Enstitüsü tarafından Deniz Ekosistem ve İklim Araştırmaları Merkezi (DEKOSİM)'nin katkıları ile yapılmıştır. Pigment ölçümlerinde emeği geçen Dr. Hasan Örek ve Şehmuz Başduvar'a da minnettarız.

Tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili eşim Dilek Yaman'a ve aileme sonsuz teşekkür ederim. Bu tez çalışması, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2022-1-TP2-4550 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Önemi ve Amacı	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Antioksidanlar	3
2.2. Süperoksit Anyonu	4
2.3. Hidrojen Peroksit	5
2.4. Singlet Oksijen	6
2.5. Askorbik Asit	6
2.6. Karotenoidler	7
2.7. Fenolik Birleşikler	7
2.8. Protein	8
2.9. Glikoz	8
2.10. Fruktoz	9
2.11. Çalışmada Kullanılan Mikroalg Türleri ve Heterotrof Türler İle İlgili Geçmişte Yapılan Araştırmalar	9
2.11.1. Diyatomlar	9
2.11.1.1. Asterionellopsis glacialis (Castracane) Round	9
2.11.1.1.1. <i>Haslea silbo</i> Gastineau, Hansen ve Mouget	9
2.11.1.2. Helicotheca tamesis (Shrubsole) Ricard	10
2.11.1.3. Nitzschia navis varingicia Lundholm et Moestrup	10
2.1.2. Siyanobakteri	10
2.1.2.1. Spirulina cf. platensis (Gomont) Geitler	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Mikroalg Örnekleri	12
3.2. Mikroalg Örneklerinin Hazırlanması	17
3.3. Analitik Yöntemler	17
3.4. Toplam Klorofil	17
3.5. Karotenoidler	17
3.6. Toplam Çözünür Fenolikler	19
3.7. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)	19
3.8. CUPRAC (kuprik iyon radikal süpürme kapasitesi)	20
3.9. Askorbik asit	20
3.10. Antioksidan enzimlerin ekstraksiyonu	20
3.11. Süperoksit Dismutaz (SOD, EC.1.15.1.1) Aktivite Tayini	20
3.12. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini	21
3.13. Glikoz analizi	21
3.14. Fruktoz analizi	21
3.15. Protein analizi	21
3.16. Antioksidan Enzimlerin Aktivitesi	21
3.17. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini	21

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Bulgular	23
4.1.1. Klorofil <i>a</i>	23
4.1.2. Toplam Çözünür Fenolikler	25
4.1.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)	25
4.1.4. CUPRAK Radikal Süpürme Kapasitesi	26
4.1.5. Askorbik Asit Konsantrasyonu	26
4.1.6. APX (Askorbat Peroksidaz) Analizi	27
4.1.7. S.O.D. (Süperoksit Dismutaz Aktivitesi)	27
4.1.8. Toplam Glikoz Miktarı	29
4.1.9. Toplam Fruktöz Miktarı	30
4.1.10. Protein Konsantrasyonu	30
4.2. Tartışma	31
5. SONUÇLAR	34
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	50



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Deneyde kullanılan türler.	13



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Asterionellopsis glacialis</i> ışık mikroskobu fotoğrafı.	15
Şekil 3.2. <i>Haslea silbo</i> ışık mikroskobu ve SEM	15
Şekil 3.3. <i>Haslea silbo</i> kültürünün erlen içindeki görüntüsü	16
Şekil 3.4. <i>Helicotheca tamesis</i> ışık mikroskobu görüntüsü.	16
Şekil 3.5. <i>Nitzschia navis-varingica</i> ışık mikroskobu görüntüleri	16
Şekil 3.6. <i>Nitzschia navis-varingica</i> SEM mikroskobu görüntüleri.	17
Şekil 3.7. <i>Spirulina cf. platensis</i> 'in ışık mikroskobu görüntüsü.	17
Şekil 3.8. <i>Spirulina cf. platensis</i> 'in erlenler içinde pembe-mor renk kültür görüntüsü.	18
Şekil 3.9. Santrifüjlenen örneklerin liyofilizatör ile kurutulması.	18
Şekil 3.10. Karatoneidlerin jel kromatografisi	20
Şekil 4.1. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin klorofil <i>a</i> miktarları.	26
Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan kültürlerdeki indikatör pigmentlerin miktarları	26
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan kültürlerin aynı yetiştirme şartlarında bolluk değerleri	27
Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan kültürlerdeki indikatör pigmentlerin hücre başına düşen miktarları.	27
Şekil 4.5. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin fenol miktarları.	28
Şekil 4.6. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi.	29
Şekil 4.7. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin CUPRAC radikal süpürme kapasitesi.	29
Şekil 4.8. Askorbik asit konsantrasyonları.	30
Şekil 4.9. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin askorbat peroksidaz aktivitesi.	31
Şekil 4.10a. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin toplam SOD aktivitesi.	32
Şekil 4.10b. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin Mn SOD aktivitesi.	32
Şekil 4.10c. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin Cu/Zn SOD aktivitesi.	32
Şekil 4.11. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin glikoz miktarları.	33
Şekil 4.12. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin fruktoz miktarları.	33
Şekil 4.13. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin protein miktarları	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simge	Tanım
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
YÖK	Yükseköğretim Kurulu
MEÜ	Mersin Üniversitesi
FBE	Fen Bilimleri Enstitüsü
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
KAT	Katalaz Enzimi
AP	Askorbat Peroksidaz



1. GİRİŞ

Mikroalgler çevrelerindeki stres faktörlerine milyarlarca yıldır eşsiz bir şekilde adapte olabilmış, evrimsel olarak en yaşlı bitkilerdir (Raja vd., 2008). Zor yaşam koşullarına (yüksek veya düşük sıcaklık, yüksek veya düşük ışık şiddeti, besin elementi eksikliği, predasyon, parazitizm, diğer türler ile rekabet vb.) dayanabilmek için farklı adaptasyon ve savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Gigova vd., 2016). Bu mekanizmalar arasında hücrelerin yapısal ve işlevsel içeriklerinin (protein, karbonhidrat, yağ ve pigment) oran ve kompozisyonunun değiştirilmesi, enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemlerinin aktivasyonu, sitotoksik, antibakteriyal ve çeşitli sekonder metabolitleri (isoprenoids, toksinler vb.) içeren alelokimyasal etkiler gelir (Gigova vd., 2016). Yüzyıllardır bilinmesine karşın mikroalgler son yıllarda insanların doğal, güvenilir ve çevre dostu kaynaklara olan talebinin artması ile tekrar ilgi odağı haline gelmiştir (Spolaore vd., 2006; Gigova vd., 2016). Zengin çoklu doymamış yağ asitleri, polisakkarit, protein, vitamin, mineral, antioksidan ve pigment içerikleri nedeniyle mikroalgler gıda takviyesi olmanın yanında günümüzde sağlık, tıp ve eczacılık alanlarında, kozmetik, tekstil ve tarım endüstrilerinde de kullanılmaktadır (Spolaore vd., 2006; Raja vd., 2008; Gigova vd., 2016). Mikroalgler zengin çeşitliliğe sahiptir. Tahmini olarak ~72,500 civarında tür olduğu (Guiry, 2012), ancak bunlardan sadece ~20 türün biyoteknoloji çalışmalarında aktif olarak kullanıldığı görülmektedir (Raja vd., 2008; Gigova ve Marinova, 2016). Ticari olarak en çok kullanılan ve yetiştirilen türler *Spirulina*, *Chlorella*, *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Botryococcus*, *Phaeodactylum*, ve *Porphyridium*'dur (Raja vd., 2008).

1.1. Çalışmanın Önemi ve Amacı

Mikroalgler zengin çeşitliliği ve içerdiği faydalı antioksidanlar, amino asit, yağ asitleri ve karbonhidratlar ile insanlar ve pek çok canlı için önemli ve gelecek vaadeden gıda kaynağı olabilir. Aynı zamanda mikroalgler hali hazırda tıp, eczacılık, kozmetik, tekstil ve besicilik alanlarında da kullanılmaktadır (Spolaore vd., 2006; Raja vd., 2008; Gigova vd., 2016). Fakat ticari olarak kullanılan tür sayısı sınırlıdır. Farklı araştırmalar ile yüksek verim alınabilecek ve değerli kimyasal bileşenlere sahip yeni türlerin keşfi bu devamlı kullanılan türlere alternatif türlerin bulunmasını sağlayacaktır. Mikroalglerin antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinmesine rağmen literatürde mikroalglerin fenolik birleşiklerinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi ile ilgili oldukça sınırlı sayıda çalışmanın olduğu belirlenmiştir (Herrero vd., 2006; Cirulis vd., 2013; Safafar vd., 2015). Ticari olarak satılan antioksidanların hemen hepsi kara bitkilerinden elde edilmektedir (Rong 2010; Safafar vd., 2015). Oysaki mikroalglerin çok daha çeşitli doğal antioksidan kaynağı olduğuna inanılmaktadır (Li vd., 2007). Mikroalglerin biyoteknolojik kullanım açısından yüksek bitkilere ve meyvelere göre avantajı hızlı büyümeleri, tek hücreli olmaları ve fazla miktarlarda üretim için az yer kaplamaları şeklinde sıralanabilir. Kuru ağırlık başına düşen antioksidan miktarları karşılaştırıldığında da mikroalglerin kara

bitkilerine benzer, hatta daha yüksek oranlarda antioksidan miktarına sahip olduğu gözlemlenmiştir (Sansone ve Brunet, 2019).

Bu çalışmada araştırılan mikroalg türleri siyanobakterilerden *Spirulina* cf. *platensis* ile diyatomlardan *Haslea silbo*, *Nitzschia navis-varingica*, *Helicotheca tamesis* ve *Asterionellopsis glacialis*'i içermektedir. *Spirulina* hariç diğer türlerin antioksidan kompozisyonu ve miktarları ile ilgili literatürde herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmada kullanılacak olan *Spirulina* cf. *platensis* ve diğer türler denizden izole edilmiştir ve yüksek tuzluluk seviyesinde üretilmektedir. Tatlı su kaynaklarının azaldığı günümüzde deniz suyunda yetiştirilen mikroalgler su kaynaklarının sınırlı kullanımını da sağlayacaktır. Ayrıca elimizdeki *Spirulina* izolatının literatürde bulunan diğer veriler ile karşılaştırılması sağlanacaktır.



2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Antioksidanlar

Oksijen aerobik yaşam için gerekli bir atom olsa da hücrelerde metabolik faaliyetler sonucunda moleküler oksijenden üretilen reaktif oksijen türleri (ROT) eğer organizmaların antioksidan savunması tarafından etkisiz hale getirilmezse oksidatif strese neden olabilmektedir (Halliwell, 1994, 2007; Assunção vd., 2017). ROT dokularda hasara ve sonuç olarak da kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi rahatsızlıklara yol açmaktadır (Li vd., 2007; Sansone ve Brunet 2019; Goiris vd., 2012).

Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip molekül reaktif olarak adlandırılır ve buna serbest radikal ismi verilir (Birben vd., 2012, Assunção vd., 2017). Reaktif oksijen türleri süper oksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2), ve singlet oksijeni (1O_2) içerir (Carocho ve Ferreira 2013).

ROT'un ana hedefi lipitler, nükleik asitler (RNA ve DNA) ve proteinlerdir (Hultqvist vd., 2009; Sansone ve Brunet 2019).

Antioksidanlar reaktif oksijen türlerini süpüren, oksidatif zararı engelleyen ve tamir eden ve dolayısıyla hedef dokuları veya molekülleri oksidatif hasardan koruyan maddelerdir (Halliwell, 2007; Sansone ve Brunet 2019).

İnsan vücudu enzimatik (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz) ve enzimatik olmayan (örneğin glutatyon, melatonin, bilirubin, albumin) doğal endojen antioksidan savunma mekanizmasına sahiptir (Benzie 2000; Huang vd., 2005; Ndhlala vd., 2010; Assunção vd., 2017; Karabulut ve Gülay, 2016). Bunun yanında insan vücudu kendisi için gerekli bazı antioksidanları (örneğin C vitamini, E vitamini, β -karoten, folik asit) üretememektedir ve bu yüzden bunları yiyeceklerden temin etmek zorundadır (Benzie 2000; Holt vd., 2009; Karabulut ve Gülay, 2016).

Antioksidanlar temel olarak vitaminleri (Vitamin B, D, E ve C), karotenoidleri (karoten, ksantofil) ve polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler) içerir (Oroian ve Escriche 2015).

Hem sentetik hem de doğal antioksidanlar yiyeceklerin raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır (Goiris 2012). Fakat sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olması şüpheleri (Pokorny 1991) nedeniyle doğal olanlarının kullanılması yönünde çalışmalar sürmektedir (Goiris vd., 2012). Pek çok antioksidan kara bitkilerinden (bibriye, çay, üzüm çekirdeği, kakao vb.) elde edilse de tek hücreli mikrolgler antioksidanlar için ümit vaadeden bir kaynaktır (Li vd., 2007; Hajimahmoodi vd., 2010). Çünkü mikroalg çeşitliliği, fotosentetik aktivitesi, büyümesi, üretkenliği ve kültürde değiştirilebilen metabolik esnekliği fazladır (Coulombier vd., 2021).

Mikroalgler reaktif oksijen türlerini kloroplastlarda ve mitokondride elektron taşıma zincirinde oksidaz ve peroksidaz gibi enzimlerin aktivitesi ve klorofil gibi bazı fotosentezleyicilerin aktivitesi sonucunda üretir (Saed-Moucheshi vd., 2014). Yani ROT önemli ölçüde kloroplast ve mitokondride üretilirken peroksizomlarda da üretilir (Cirulis vd., 2013; Coulombier vd., 2021). Alg antioksidanları enzimleri, yağda çözünür birleşikleri (karotenoid, Vitamin E) ve C vitamini, fikobiliproteinler, polifenoller gibi suda çözünür bileşikleri içerir (Shalaby 2015; Assunção vd., 2017).

Asitlilik, metaller, UV ışınları ve besin sınırlaması, pek çok yeşil mikroalg ve siyanobakteri türünde antioksidan üretimini tetiklemektedir (Gauthier vd., 2020).

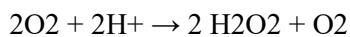
Antioksidanlar farmasötik ve nutrasötik endüstrilerinde, kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (Natrah vd., 2007; Sansone ve Brunet 2019; Bulut, 2020).

2.2. Süperoksit Anyonu

Hücrelerde süperoksit (O₂·-) kloroplastlar, peroksizomlar, apoplast, mitokondri elektron taşıma zinciri ve plazma zarı gibi farklı hücresel kompartımanlarında oluşur (Lamb ve Dixon, 1997). Süperoksit anyonunun en önemli kaynağı Mehler reaksiyonu sonucunda kloroplastlardır. Bu reaksiyon sırasında O₂ fotosentetik elektron taşıma zincirinde elektronlar tarafından azaltılır (Allen ve Hall, 1973). Oluşturulan O₂·- sonra çoğunlukla Cu-Zn SOD'un faaliyetiyle hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürülür (Asada, 2006). Böylece, SOD, O₂·-'nin hücrelerde ve biyokimyasal süreçlerde yer alma olasılığını ve ömrünü belirler. Kloroplastlar O₂·- 'lerin meydana geldiği tek yer değildir. O₂·-, peroksizomlarda 2 farklı kaynaktan meydana gelir, ksantin oksidaz enziminin etkisiyle peroksizomal matrikste (Sandalio, vd., 1998) ve elektron taşıma zinciri (ETC) tarafından peroksizomal membranda oluşturulur (Sairam ve Saxena, 2000). Peroksizomlar sinyal moleküllerinin önemli bir kaynağı olarak düşünülebilir çünkü bu organel içerisindeki birçok antioksidanın varlığından dolayı O₂·- ve H₂O₂ 'yi hızla üretme ve ortadan kaldırma kapasitesine sahiptir Son olarak, O₂·- sitozolde ksantin dehidrogenaz ve aldehit oksidaz enzimlerinin faaliyetiyle sitozolde meydana getirilir (Zarepour vd., 2010).

Strese bağlı olarak hücrelerde oluşan süperoksit radikalleri SOD enziminin katıldığı reaksiyonla H₂O₂ ' ye dönüştürülür (Robatzek ve Somssich, 2001). SOD antioksidatif stres savunma mekanizmasının anahtar enzimidir ve O₂·- serbest radikalini O₂ ve H₂O₂ ' ye dönüştürdüğünden O₂·- ve H₂O₂ 'nin hücre içerisindeki değişimlerini doğrudan belirler. SOD enzimi; bakır-çinko (Cu/Zn SOD), demir (Fe SOD) ve manganez (Mn SOD) içeren izoenzimler olarak metal kofaktörlerine göre sınıflandırılırlar (Asada, 2006).

SOD



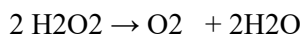
2.3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit hücrelerde stres koşulları altında farklı fizyolojik süreçlerde görev alan bir sinyal molekülü olarak önemli roller oynar (Quan vd., 2008). Bunlar senesens sürecinin düzenlenmesi, patojen saldırılarına karşı korunma, düşük ışık altında stres yoğunluğunun azaltılması ve kuraklık stresinin azaltılmasıdır (Ishibashi vd., 2011). Hidrojen peroksit hücrelerde iki olası yolla meydana gelir: SOD enziminin katalizlemesiyle süperoksit radikalının değişmesi ve amino, oksala oksidazlar gibi oksidazlar yoluyla (Hu vd., 2003). Hidrojen peroksit düzeyi hassas ayarlı bir ağ gibi enzimatik yolla ve antioksidanlar tarafından kontrol altında tutulur ve aşırı miktardaki birikimi önlenir. Hücre içerisinde SOD'lar ve farklı hidrojen peroksit süpüren enzimler arasındaki dengenin kararlı haldeki hidrojen peroksit düzeyinin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Diğer ROT'larla karşılaştırıldığında hidrojen peroksit en stabil ve en az reaktif olan ROT'tur, ve membranları kolayca geçebilir, bu özellikleri hidrojen peroksiti iyi bir sinyal molekülü yapar. Hidrojen peroksit bitkilerde değişken roller oynar; çeşitli biyotik ve abiyotik streslerin düzenlenmesi (Quan vd., 2008) ve yüksek konsantrasyonlarda, hücre degradasyonuna katkıda bulunduğu zaman hücre ölümü ve senesensin son aşamaları sırasında önemli rollere sahiptir.

Farklı abiyotik ve biyotik streslere karşı tolerans kazanmada hidrojen peroksitin önemli rollerini gösteren birçok çalışma vardır (Ishibashi vd., 2011). Son zamanlarda, hidrojen peroksit uygulanmasıyla antioksidan enzimlerin aktiviteleriyle yüksek sıcaklık ve düşük ışık ile uyarılan oksidatif strese karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Düşük ışık oksidatif stresi uyarır (Sielewiesiuk, 2002), böylece ROT'ları artırır ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Hidrojen peroksitin dışarıdan uygulanması bitkide kuraklık stresine karşı tolerasyonunda rol oynadığı bilinen oligosakkaritlerin biyosentezinde görev alan anahtar enzimlerin mRNA seviyelerinde artışa neden olmuştur.

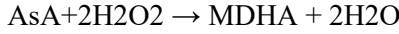
Katalaz (KAT), SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucunda oluşan ve kuvvetli bir antioksidant olan H₂O₂'nin hücrede birikimini önleyen etkili bir enzimdir (Dixit vd., 2001). Katalaz enzimi H₂O₂'yi su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Bu enzimin, substrata ilgisi düşük olmasına karşın yüksek katalitik aktiviteye sahiptir.

KAT



H₂O₂'nin yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilmekte ve H₂O₂'nin suya indirgenmesini sağlamaktadır (Beyer, 1994). Askorbat peroksidaz (AP), askorbat- glutatyon döngüsünde hidrojen peroksiti suya indirgemekle görevlidir. Bu sırada askorbat, monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) tarafından monodehidroaskorbata (MDHA) okside olur.

AP



Bununla birlikte MDHA'nın iki molekülü enzimatik olmayan yol ile MDHA'ya ve dehidroaskorbata (DHA) oransız olarak dönüştürülür. DHA, dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) tarafından askorbata (AsA) indirgenir. Bu reaksiyondan sonra ise redükte glutatyon (GSH), DHAR'ın etkisi ile okside glutatyon (GSSG) dönüşür ve GSSG, GR tarafından GSH'ye geri indirgenir (Shalata vd., 2001).

2.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen çok yüksek düzeyde reaktiftir, uyarılmış durumda moleküler oksijenin yüksek düzeydeki reaktif formudur oksijen ve klorofilin triplet hali arasındaki bir tepkime ile oluşturulabilir (Krieger-Liszkay, 2005). Hidrojen peroksit ve süperoksit radikalinin oluşumundan farklı olarak, singlet oksijenin oluşumunda oksijene bir elektron taşınması eşlik etmemiştir. Bunun yerine, paylaşılmamış elektronlardan birisi daha yüksek enerjili bir yörüngeye çıkması için teşvik edilmiştir (Gill, 2010). Singlet oksijen ayrıca farklı abiyotik stresler altında da oluşturulur. Diğer ROT'lara benzer olarak singlet oksijen de ikili etkiye sahiptir. Bir oksitleyici ajan olarak çeşitli biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilir, zarara sebep olup buna bağlı olarak hücre ölümüne sebep olabilir (Op den Camp vd., 2003). Ayrıca, farklı genlerin ifadeleri aktive edilmesinde sinyal görevi de olabilir. Yüksek reaktivite ve saf su içindeki yarı ömrünün 3,1 ile 3,9 µs gibi kısa olması (Krasnovsky, 1998), sonucu olarak singlet oksijen çoğunlukla yakın çevresindeki moleküllerle etkileşime girebilecek niteliktedir ve bu özelliği bir sinyal molekülü olarak rol oynamasını mümkün kılar. Fotosentez sürecinde ortaya çıkan singlet oksijen önemli ölçüde karotenoidler ile etkileşerek ortadan kaldırılır. Bu nedenle karotenoidlerin fotosentetik yapıların korunmasındaki rolü kritik öneme sahiptir. Singlet oksijen bir toksin olarak hareket etmekten ziyade birçok stres tepki yolunu aktive eden bir sinyal molekülü olarak hareket eder. Son zamanlarda, singlet oksijenin Arabidopsis bitkisinde β-siklositralin etkilemesi yoluyla singlet oksijenin fotooksidatif strese karşı artan toleranstan sorumlu olabileceği rapor edilmiştir

2.5. Askorbik Asit

Askorbik asit ya da C vitamini bitkiler tarafından sentezlenen ve suda çözünür bir antioksidandır (Coulombier vd., 2021). Sitosol ve kloroplastlarda bulunur. Süperoksit, hidroksil ve singlet oksijen türlerini electron transfer ederek nötralize eder. Bunun yanında askorbat-glutatyon döngüsünde hidrojen peroksiti detoksifiye eder. Pek çok enzimde kofaktör olarak görev yapar (Del Mondo vd., 2020) ve fotosentezde, hormone biyosentezinde ve antioksidan rejenerasyonunda görev alır. Askorbik asit fotoprotektif ksantofil döngüsünde de-epoksidaz enziminin kofaktörü olduğu için bitkinin yüksek ışıktan korunmasına yardımcı olur (Smerilli vd., 2017).

2.6. Karotenoidler

Karotenoidler doğada en yaygın olarak bulunan pigmentlerdir. Alglerde, bitkilerde, mantarlar ve bakterilerde 1100 den fazla bu gruba giren molekül tanımlanmıştır (Takaichi, vd., 2011; Novoveská vd., 2019). Terpenoid ailesinden yağda çözünür molekülüdür. Karotenoidler temel olarak tilakoid membranlarda pigment-protein kompleksi içinde yer alır fakat bazı mikroalg türlerinde kloroplastların stromasında lipid globülleri içinde (astaksantin ve beta-karoten) birikebilir (Coulombier vd., 2021). Bazı karotenoidler mikroalg gruplarının kemotaksonomik sınıflandırmasında marker pigment olarak kullanılır.

Karotenoidlerin bir görevi ışık enerjisini klorofil a ya transfer etmek iken diğer bir görevi reaktif oksijen türlerini inaktive ederek ve bunları oluşumunu engelleyerek fotosentetik sistemi korumaktır (Huang, vd., 2017). Karotenoidlerin hücreleri koruması triplet klorofili kuşak ederek membranı fiziksel olarak stabilize etmesi ile gerçekleşir (Novoveská vd., 2019). Karotenoidler singlet oksijeni direk olarak deaktive edebilmektedir [Edge vd., 1997]. Aynı zamanda serbest radikallerle de reaksiyona girebilmektedir.

Karotenoidler (Astaksantin, zeaksantin, lutein, β -karoten ve fukoksantin) insan sağlığı için antioksidan ve antienflamatuar olarak kullanılabilir (Zhang vd., 2014; Gigova vd., 2016; Novoveská vd., 2019). Fukoksantin kanser önleyici ve antiproliferatif etkisi bilinmektedir (Kumar vd., 2013b). Ayrıca bağışıklık sistemini uyarmakta ve çeşitli hastalıklara karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Özellikle astaksantin kronik enflamasyon hastalıkları, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar, metabolik sendrom, diyabet, mide-bağırsak hastalıkları ve karaciğer bozukluğu, nörodejeneratif hastalıklar, göz ve cilt rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıma potansiyeline sahiptir (Ambati vd., 2014). C-Fikosiyanin *Spirulina* tarafından sentezlenir ve antibakteriyel, antiviral, antikanser, antienflamatuar, antidiyabetik ve antikanser özelliklere sahiptir (Gardeva vd., 2014; Gigova vd., 2016).

2.7. Fenolik Birleşikler

Fenolik birleşikler kara bitkilerinde antioksidanların önemli bir sınıfıdır ve bunlar göreceli olarak kompleks flavonoidlerdir (Goiris vd., 2012). Flavonoidler direk OH, HOCl, singlet oksijen ve lipid peroksid radikallerini metal şelatlama ile süpürerek ve lipoksijenazı inhibe ederek, lipid peroksidasyonunu engellemektedirler (Pietta, 2000). Fakat mikroalglerde bulunan fenolik birleşikler ile ilgili literatürde çok az bilgi bulunmaktadır (Goiris vd., 2012). Şimdiye kadar mikroalglerde tespit edilen ana moleküller phloroglucinol ve fenolik asitlerdir. *Haslea* cinsi tarafından salgılanan marennin de ilginç serbest olmayan radikal ve antioksidan bir polifenoldür (Coulombier vd., 2021). Toplam fenolik birleşik miktarı mikroalglerde kara bitkilerine göre düşük seviyelerde bulunmuş olsa da (Cai vd., 2004)

karotenoid miktarı olarak karşılaştırılabilir seviyede bulunmuştur. Fenoller enzimatik olmayan antioksidanlar sınıfına girmektedir (Shebi vd., 2013).

2.8. Protein

Mikroalgler %70'e varan protein, %70' varan karbonhidrat ve %50'ye varan lipid içeriğine sahip olabilmektedir (Debnath, 2021; Becker, 2007; Das, 1998). Yaklaşık 20 mikroalg türüne ait (klorofit, diyatom, siyanobakteri ve kırmızı alg) farklı suşlar da dahil edilerek ortalamalar alındığında protein, karbohidrat ve lipid içerikleri sırasıyla %44, %18 ve %14 olarak hesaplanmıştır (Debnath, 2021; Becker, 2007; Das, 1998). Bazı alg grupları (örneğin *Spirulina*) proteince zenginken bazıları daha fazla oranda karbohidrata ve lipite sahiptir (örneğin; *Dunaliella*, *Chlorella*, *Porphyridium*).

2.9. Glikoz

Glikoz en bol bulunan monosakkarittir ve karbonhidratların yapı taşıdır (Hantzidiamantis ve Lappin, 2021). Bütün organizmalar için en önemli enerji kaynağıdır. İnsan kanında glikoz kan şekeri olarak dolaşır. Bitkilerde glikozun depo formu nişasta ve amilopektin iken hayvanlarda glikojendir. Bitkiler ve algler tarafından fotosentez sonucu karbondioksit ve sudan güneş ışığı kullanılarak üretilir.

Mikroalgler iki amaçla karbohidrat üretir: hücre duvarı yapımında yapısal bileşen olarak ve hücre içi depo maddesi olarak (Cheng vd., 2017). Depo maddesi olarak karbohidratlar mikroalglerle enerji sağlar ve geçici süreliğine ihtiyaç durumunda karanlıkta hayatta kalmasına yardımcı olur (Khan vd., 2016). Mikroalgal karbohidratlar biyoyakıt, özellikle biyohidrojen üretiminde kullanılmaktadır (Pragya vd., 2013). Mikroalglerin karbohidrat içeriğini etkileyen faktörlerin besin miktarı, tuz stresi, ışık şiddeti, sıcaklık ve metabolizma olduğu belirtilmektedir (Andreeva vd., 2021; Corrêa vd., 2018).

Stres şartları altında örneğin besin elementi sınırlaması ve yüksek ışık, mikroalglerin fikse edilen fazla karbonu glikoz olarak dışarı salabildiği rapor edilmiştir (Kennedy vd., 2022). Bu şartlarda mikroalgerin protein miktarının azaldığı, yağ asiti ve karbonhidrat oranlarının ise arttığı, glikozun ana karbonhidrat haline geçtiği belirtilmiştir (Suarez Ruiz vd., 2020).

Glikoz konsantrasyonlarının fotosentezi bloke etmek için 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (DCMU) ile muamele edilen örneklerde denenen tüm ışık şiddetlerinde düştüğü gözlemlenmiştir.

Karbonhidratların bir sınıfı olan ekstraselüler polimerik maddelerin (EPS) hücre hareketi, biryere yapışma ve büyük organizmaların avlamasından kaçınma gibi çeşitli rollerde görev aldığı belirtilmektedir (Underwood ve Kromkamp 1999; Staats vd., 2000; Cook vd., 2007; Kennedy vd., 2022). Bu EPS ler polisakkaritleri, uronik asiti ve sülfatlı şekerleri içermektedir (Underwood ve Paterson 2003; Bellinger vd., 2009; Oakes vd., 2010; Rivaró vd., 2021).

2.10. Fruktoz

Fruktoz pekçok bitkide ve mikroalgde var olan bir monosakkarittir (Johnson ve Conforti, 2003; El-Naggar vd., 2016). Bitkilerde çoğunlukla bir molekül glikoza bir molekül fruktozun bağlanarak oluşturduğu sakkaroz (sükroz) formunda bulunur. Ticari olarak şeker kamışı, mısır ve şeker pancarından elde edilir. Fruktozun göreceli olarak tatlılığı çay şekerinden yani sükrozdan 1.2-1.8 kat daha fazladır (Hanover ve White, 1993). Karaciğerde fruktoz kullanımı insulin ile düzenlenememektedir (Basciano vd., 2005). Aşırı fruktoz tüketiminin insulin direncine sebep olduğu çeşitli kaynaklarda belirtilmektedir (Basciano vd., 2005; Malik ve Hu, 2015).

Kuzey Denizi'nin kuzeyinde bir fitoplankton patlaması esnasında ölçülen glikoz:fruktoz oranının 1.8 ile 2 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Ittekkot vd., 1981).

2.11. Çalışmada Kullanılan Mikroalg Türleri ve Heterotrof Türler İle İlgili Geçmişte Yapılan Araştırmalar

2.11.1. Diyatomlar

2.1.1.1. *Asterionellopsis glacialis* (Castracane) Round

Arafit pennat bir diyatomdur. Denizel, kozmopolit, planktonik bir türdür (Hasle ve Syvertson 1997). *Asterionella japonica* Cleve ile sinonimdir. Hem valva (ön yüzey) hem de girdle (kuşak veya yan taraf) açısından bakıldığında hücrelerin uç kısımlarının farklı oldukları görülür. Hücreler birbirine genişlemiş valva yüzeyi tarafından bağlanarak yıldız şeklinde spiral zincirler oluşturur. Bu genişlemiş uç taraf girdle açısından bakıldığında üçgen şeklinde, valve açısından bakıldığında az çok yuvarlağımsıdır (Hasle ve Syvertson 1997). Bazal kısımda bir iki kloroplast bulunur ve zaman zaman yüksek bolluk seviyelerine (>1 milyon hücre L^{-1}) ulaşır (Cupp 1943).

2.11.1.1. *Haslea silbo* Gastineau, Hansen ve Mouget

Bu tür Kanarya adaları, Kuzey Karolina, Napoli Körfezi ve Güney Adriatik Denizi ve kuzeydoğu Akdeniz kıyıları gibi çeşitli coğrafik bölgelerde bulunmuş ve ilk defa 2021 yılında isimlendirilmiştir (Gastineau vd.,2021). *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen (Gastineau vd., 2014b) gibi bu tür de marennin adı mavi renkte suda çözünebilir, antibakteriyel ve antiviral özellikte bir pigment üretmektedir (Gastineau vd., 2012a; Gastineau vd., 2014b). Literatürde mevcut başka mavi *Haslea* türleri de yer almaktadır. Bunlar *H. provincialis* (Gastineau vd., 2016), *H. karadagensis* (Gastineau vd., 2012b) ve *Haslea nusantara*'dır (Prasetya vd., 2019). Marennin serbest radikal temizleme özelliğine de sahip alelopatik bir birleşiktir (Pouvreac vd.,2006a). pH artışı ile pigmentin rengi maviden yeşile dönmektedir (Robert vd., 2002). Marennin ilk defa *Haslea ostrearia* türünde Fransa'nın batısında istiridyeciliklerinde istiridyelerin mavi-yeşil renkte görülmesi ve araştırılması neticesinde bulunmuştur

(Gaillon, 1820, Gastineau vd., 2012a; Poulin vd., 2019b). Mavi-yeşil renkteki istridyeler insanlar tarafından daha fazla beğenilmekte ve diğerlerine göre daha yüksek ücretle alıcı bulmaktadır (Poulin vd., 2019). Türün kullanım alanları kozmetik, akuakültür, besin ve sağlık olarak sıralanabilir.

Marenninin yüksek konsantrasyonlarda bazı omurgasız canlıların üremesini yavaşlattığı, larva gelişimini geciktirdiği ama yetişkin bireyleri etkilemediği rapor edilmiştir (Falaise vd., 2019). Bunun yanında balık solungaç hücre dizileri üzerine herhangi bir negatif etki bulunamamıştır (Falaise vd., 2019). *Haslea* cinsi mavi olmayan türleri de içermektedir (Massé vd., 2001).

2.1.1.2. *Helicotheca tamesis* (Shrubsole) Ricard

Helicotheca tamesis (Shrubsole) Ricard tropik ve ılıman kıyı sularında bir türdür (Hernández-Becerril vd., 2013). *Helicotheca* Ricard cinsi tek bir türe sahiptir; *Helicotheca tamesis* orijinalinde Shrubsole tarafından *Streptotheca tamesis* olarak adlandırılmış, daha sonra *Helicotheca* olarak sınıflandırılmıştır (Ricard, 1987). Kurdela şeklinde zincir oluşturan bir türdür. Zincirler DNA ipliği gibi helezon şeklinde perivalvar aksis boyunca kıvrılır. Çok sayıda kloroplast içerir. Lineer veya oblong, orta kısmı şişkin valvaya sahiptir (Hasle ve Syvertson, 1997).

2.1.1.3. *Nitzschia navis varingicia* Lundholm et Moestrup

Nitzschia navis varingica Lundholm et Moestrup domoik asit (DA) ve domoik asit izomerlerini üretebilen bentik bir diyatomdur. DA üretmeyen suşları da bulunmaktadır (Bates vd., 2018). İlk defa Viyetnam'da 1997 yılında karides havuzlarında tespit edilmiştir (Lundholm ve Moestrup, 2000). Daha önce Viyetnam, Avustralya, Japonya, Taylve, Filipinler, Malezya ve Endonezya gibi çeşitli batı Pasifik bölgelerinde gözlemlenmişken (Kotaki vd., 2000; Kotaki vd., 2004; Kotaki vd., 2008; Tan vd., 2016, Higgins vd., 2003; Romero vd., 2008; Thoha vd., 2012) Akdeniz'de ilk defa 2016 senesinde, Türkiye kıyılarında kaydedilmiştir (Ayaz vd., 2018). Domoik asit mikroalglerden bir diğer diyatom cinsi olan *Pseudo-nitzschia*'da da bulunabilmektedir ve besin zincirinin üst basamaklarına beslenme ile artan miktarlarda taşınması sonucu memelilerde zehirlenmeler gerçekleşebilmektedir. Bu toksin hafıza kaybı ve yön bulamama gibi sağlık problemlerine, hatta ölüme neden olabilmektedir (Bates vd., 2018).

2.1.2. Siyanobakteri

2.1.2.1. *Spirulina cf. platensis* (Gomont) Geitler

Spirulina (=Arthrospira) filament oluşturan spiral şekilli bir siyanobakteri türüdür. 1000 yıldan fazla bir süredir besin maddesi olarak kullanılmaktadır (Koru ve Cirik, 2003; Stanic-Vucinic vd., 2018). Tanımlanmış 53 tane *Spirulina* türü bulunmaktadır (Guiry ve Guiry 2019). En yaygın ve en çok araştırma yapılan türü *S. platensis*'dir (Habip vd., 2008). Alkalın tatl su, acı su ve tuzlu su gibi pek çok ortamda bulunabilmekte, daha çok tropik ve subtropik alanlarda yaygın olarak gözlemlenmektedir (Stanic-Vucinic vd., 2018). Faydaları arsında bağışıklık sistemini düzenleyici, anti-enflamatuvar,

antioksidan, antiviral, kanser önleyici özelliklere sahip olması, kalp damar hastalıkları için yararlı olması gelmektedir (Khan vd., 2005; Capelli ve Cysewski, 2010; Asghari vd., 2016; Demirel vd., 2018). Bu nedenle tıp ve kozmetik sektöründe aynı zamanda, insan ve hayvan gıdası olarak biyoteknoloji alanında en çok kullanılan türlerden biridir (Koru ve Cirik, 2003; Asghari vd., 2016). Bu siyanobakteri türü esansiyel amino asitlerin tümüne sahiptir ve yüksek oranda sindirilebilir protein içerir (Capelli ve Cysewski, 2010). *Spirulina*'nın protein içeriği %65'tir (Moorhead ve Capelli, 2011). Bu oran pek çok gıda maddesine kıyasla oldukça yüksektir. Örneğin kurutulmuş sütün protein içeriği %36, soya ununun %37, tavuğunki %24, balığınki %24, dana etinin %22 ve yer fıstığının %26 olarak bulunmuştur (Moorhead ve Capelli, 2011; Barka ve Blecker, 2016). Ayrıca *Spirulina* A, K ve B vitaminlerine, minerallere, yağ asitlerine, klorofile, karotenoidlere, fikosiyanine, sülfolipitlere, glikolipitlere ve çeşitli enzimlere de sahiptir Stanic-Vucinic vd., 2018; Capelli ve Cysewski, 2010; Asghari vd., 2016).

Spirulina, besin içeriği bakımından muazzam görünmektedir. Sütten %180 daha fazla kalsiyum, tofudan (soya peyniri) %670 daha fazla protein, havuçtan %3100 daha fazla beta karoten ve ıspanaktan %5100 daha yüksek demir bulunmaktadır (Capelli ve Cysewski, 2010). NASA *Spirulina*'nın uzayda iyi bir besin kaynağı olması ile ilgili araştırmalar gerçekleştirmiştir (Capelli ve Cysewski, 2010). 2004 yılında Çin'de *Spirulina* üretimi ile (41 570 ton) 16,6 milyon dolarlık bir gelir sağlanmıştır (Habip vd., 2008).

Bu türün farklı ortam şartlarında 3-5 mg g⁻¹ fenolik içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir (Al-Rashad vd., 2016). Bir derleme çalışmasında *Spirulina*'nın 1 gram kuru ağırlığında 30 mg klorofil, 15 mg toplam karotenoid, 519 mg toplam fikosiyanın, 1080 U SOD dismutaz olduğu rapor edilmiştir (Asghari vd., 2016). *Spirulina platensis* türünün C vitamini içeriği kış döneminde subtropik bir iklimde havuzlarda yaza göre daha yüksek 39.31 ± 3.63 mg/100 g olarak bulunmuştur (Işık vd. 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Mikroalg Örnekleri

Mikroalg türleri 2016-2019 arasında Erdemli (36°36' N, 34°19' E) ve Mersin (36°47' N, 34°35' E) kıyısından alınan örneklerden izole edilmiştir. Örnekler 100 ml'lik Erlenler içinde F/2 Medyum kullanılarak, 20°C sıcaklık ve ~30-40 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şartlarında 12:12 gece gündüz döngüsü ile yetiştirilmiştir. F/2 Medyum 0.45 μm sellüloz asetat filtre ile süzölmüş deniz suyu ile hazırlanmış ve otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Kullanılan deniz suyunun tuzluluğu ~38'dir.

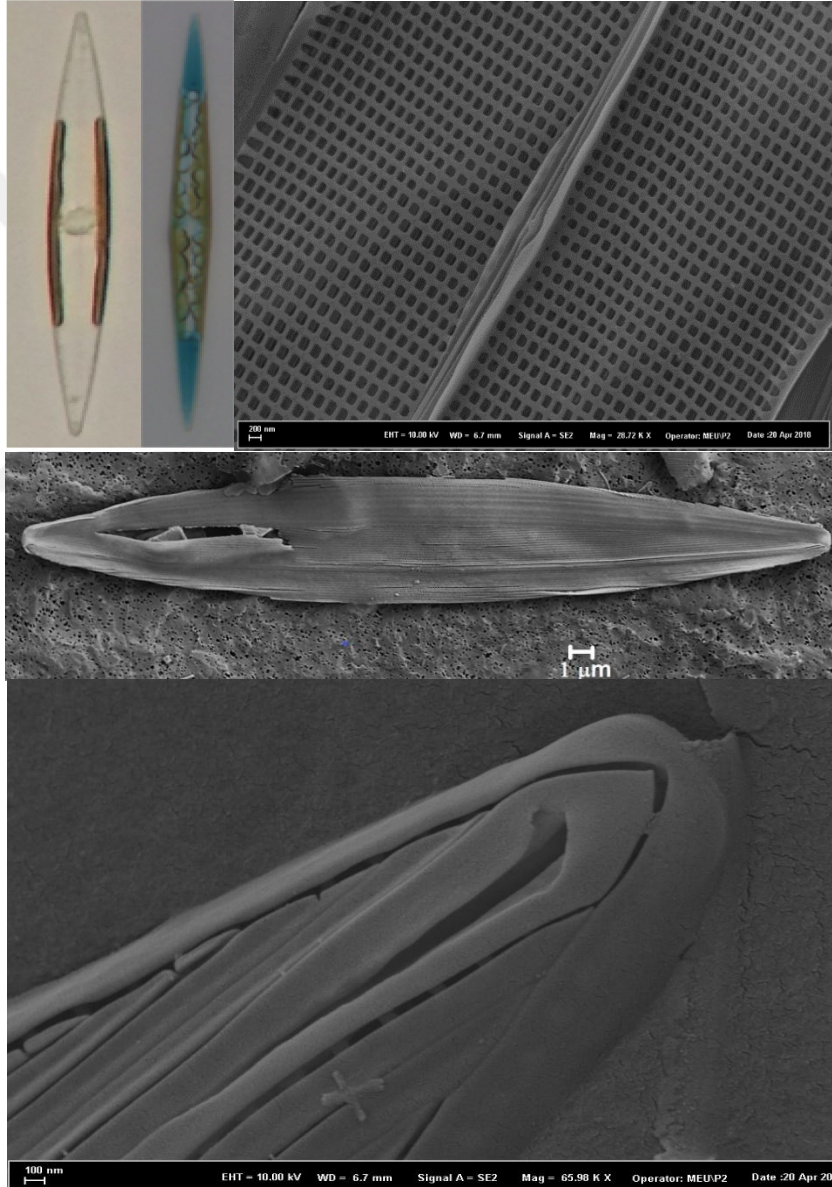
Çalışmada Kuzeydoğu Akdeniz kıyı sularından izole edilen ve aksenik olmayan mikroalg türlerinden diyatom *Helicotheca tamesis* (Shrubsole) M.Ricard, *Haslea silbo* Gastineau, Hansen ve Mouget, *Nitzschia navis-varingica* Lundholm ve Moestrup, *Asterionellopsis glacialis* (Castracane) Round, ve siyanobakteri *Spirulina cf. platensis* (Gomont) Geitler antioksidan, protein ve glikoz-fruktoz analizinde kullanılmıştır (Tablo 3.1, Şekil 3.1-3.7).

Tablo 3.1. Deneyde kullanılan türler.

1-Asterionellopsis glacialis (Diyatom)	İlk kez 1886'da <i>Asterionella glacialis</i> olarak tanımlanmış, 1990 yılında <i>Asterionellopsis glacialis</i> olarak değiştirilmiştir. <i>Asterionella japonica</i> Cleve sinonim olarak kabul edilir. Soğuk ve ılıman bölgelerde bulunan kozmopolit bir türdür.
2-Haslea silbo (Diyatom)	İlk kez yeni bir tür olarak 2021 yılında tanımlandı. Marennin adı verilen sekonder bir metabolizma ürünü olan mavi renkte pigment salgılamaktadır. Kuzey Karolina, Adriatik Denizi, Napoli Kıyısı ve Mersin kıyı sularında bulunmuştur.
3-Helicotheca tamesis (Diyatom)	İlk olarak 1891'de <i>Streptotheca tamesis</i> olarak tanımlanmış, 1987'de <i>Helicotheca tamesis</i> olarak ismi değiştirilmiştir. Sıcak ve ılıman bölgelerde yaygındır.
4-Nitzschia navis-varingica (Diyatom)	<i>Nitzschia navis varingica</i> Lundholm et Moestrup domoik asit üretebilen, bentik bir diyatom. Batı Pasifik'te yaygın bir türdür. Akdeniz'de ilk 2016 yılında Erdemli kıyısında tespit edilmiştir.
5-Spirulina cf. platensis (Siyanobakteri)	<i>Spirulina</i> (=Arthrospira) ipliksi, spiral şekilli bir siyanobakteri cinsidir. Genellikle bütün kıtalarda tropikal ve subtropikal bölgelerde mineralce zengin alkalın göllerde bulunsa da oldukça tuzlu (40-45) sularda da bulunabilmektedir.



Şekil 3.1. *Asterionellopsis glacialis* ışık mikroskobu fotoğrafı.



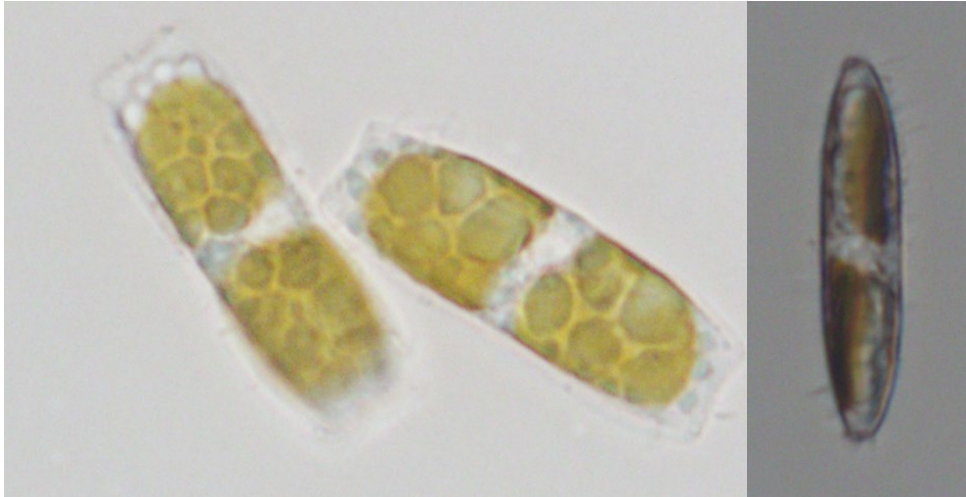
Şekil 3.2. *Haslea silbo* ışık mikroskobu ve SEM fotoğrafları



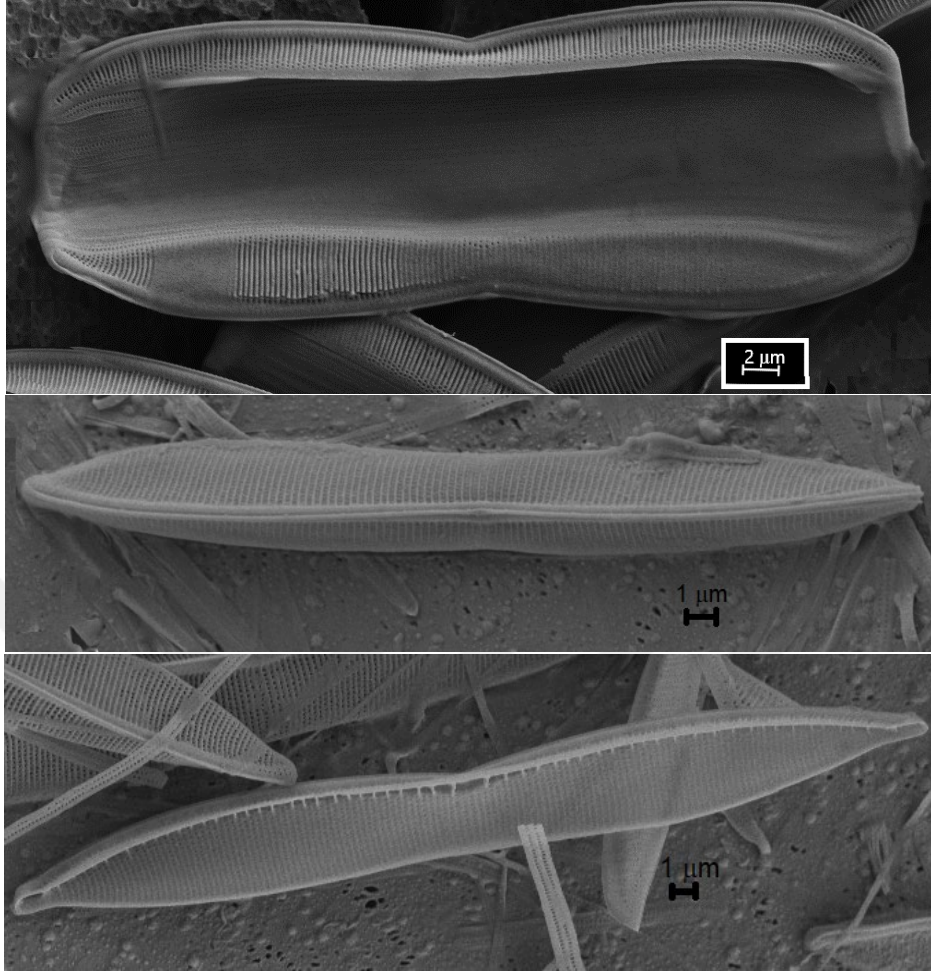
Şekil 3.3. *Haslea silbo* kültürünün erlen içindeki görüntüsü.



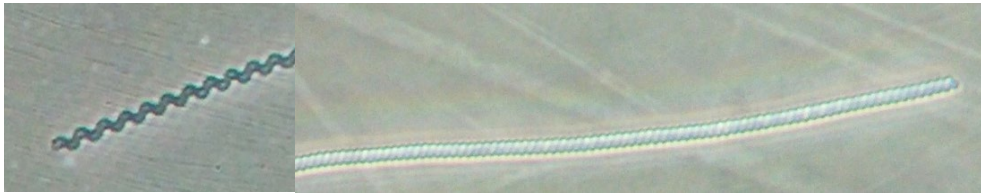
Şekil 3.4. *Helicotheca tamesis* ışık mikroskobu görüntüsü.



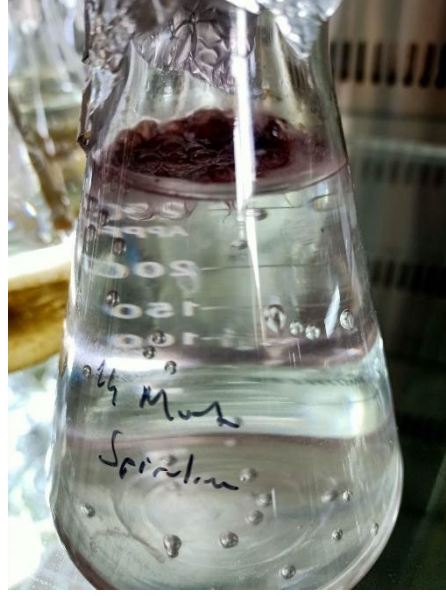
Şekil 3.5. *Nitzschia navis-varingica* ışık mikroskobu görüntüleri.



Şekil 3.6. *Nitzschia navis-varingica* SEM mikroskobu görüntüleri.



Şekil 3.7. *Spirulina cf. platensis*'in ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 3.8. *Spirulina cf. platensis*'in erlenler içinde pembe-mor renk kültür görüntüsü.



Şekil 3.9. Santrifüjlenen örneklerin liyofilizatör ile kurutulması.

3.2. Mikroalg Örneklerinin Hazırlanması

Kültür ortamında yetiştirilen mikroalg örnekleri yetiştirme ortamı ile birlikte 10 dakika boyunca 4000 g'de santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Kültür ortamındaki tuzu uzaklaştırmak için çökelti üzerine 10 ml saf su koyularak tekrar santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Konsantre edilen mikroalg hücreleri 24 saat boyunca -80°C'de depolandıktan sonra liyofilizatörde kurutulmuştur (Şekil 2.7). Dondurularak kurutulan örnekler analize kadar -20°C'de korunmuştur.

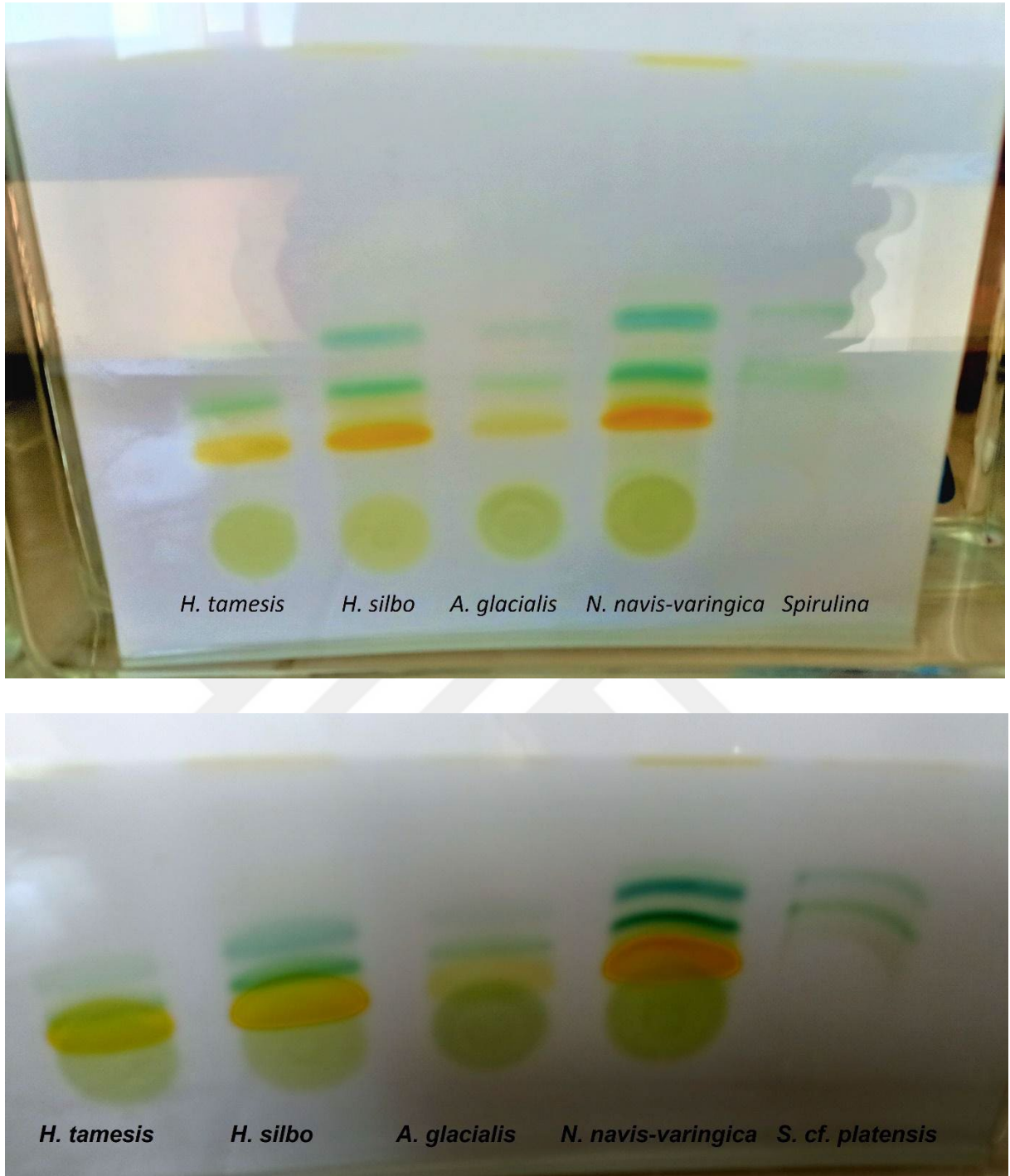
3.3. Analitik Yöntemler

3.4. Toplam Klorofil

Liyofilizatörde kurutulmuş mikroalg hücrelerinden alınan 50 mg'lık örneklerde klorofil ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi için örnekler üzerine 3 ml soğuk metanol ilave edilmiş ve homojenizatör ile yüksek devirde 30 s süreyle parçalanmıştır (Şekil 3.7). Elde edilen ekstrakt 4 °C sıcaklıkta 4000 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Ekstraktan 100 µL alınıp 2.9 ml metanol ile sulandırılmış ve metanol ile sıfırlanmış spektrofotometrede 665 ve 652 nm'lik dalga boylarında 3 tekrarlı olarak ölçülmüştür. Örneklerin toplam klorofil ve klorofil *a* miktarı Porra vd. (1989)'nin 22.12A $665 + 2.71A_{665}$ ve 16,29*A₆₆₅-8,54*A₆₅₂ eşitliği kullanılarak µg g⁻¹ kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır.

3.5. Karotenoidler

Karotenoid (β-karoten ve ksantofil) kompozisyonunu belirlemek için 50 mg kuru örnek 3 ml metanol kullanılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra 4 °C'ta 4000 g'de santrifüj edilmiştir. Ekstrakt rotari evaporatör balonlarına konularak, vakum altında yoğunlaştırılan örnekler 1 ml kloroformda çözülerek ependorf tüplerine alınmıştır. Örnekler silika jel tabakalara mikropipetle 100 µl yüklenmiştir. Silika jel tabakalar 20 kısım aseton, 30 kısım dietil eter, 60 kısım n-hexan'dan oluşan çözelti içerisine yerleştirilmiş, bir saat yürütülerek bantlar tamamen ayrıştırılmıştır (Şekil 3.10). (Moore, 1974).



Şekil 3.10. Karatoneidlerin jel kromatografisi

Marker Pigmentlerin Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile incelenmesi

F/20 ortamında, 20°C sıcaklık ve $\sim 30-40 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ışık şartlarında 12:12 gece gündüz döngüsü ile yetiştirilen örneklerin pigment analizi ODTÜ-Deniz Bilimleri Enstitüsü tarafından DEKOSİM projesi katkısıyla ölçülmüştür. 9 ml örnek Whatman 25 mm Ø GF/F filtreler ile süzölmüştür. Daha sonra %90'lık HPLC grade aseton ile ekstrakte edilmiş ve 1 dk sonikasyona tabi tutulmuştur

(Barlow vd., 1997, modifiye edilmiştir). Daha sonra -20 °C derecede bir gece bekletilerek santrifüj edilmiştir. Örnekler cam kahvrengi vialler içine alınarak HPLC cihazının otomatik örnekleyicisi içine yerleştirilmiştir. Otomatik örnekleyici örnekler içine 200 µL ekstrakt ve 200 µL 1 M amonyum asetat iyon eşleme solüsyonu koymaktadır (Mantoura ve Llewellyn, 1983). Tamponlanan ekstrakt (100 µL) Thermo Hypersil MOS-2 C8 kolonu (150 × 4.6 mm, 3 µm partikül boyu, 120 Å por çaplı ve 6.5% karbon içeren) içindeki döngüye katılmaktadır. Burada pigmentlerin ayrımı Yücel vd., (2017) ve Barlow vd., (1997)'da anlatıldığı gibi binary hareketli faz sistemi kullanılarak lineer gradient ile hesaplanır. 13 farklı mikroalg pigmenti 440 nm absorbans kullanılarak Agilent variable wavelength detektör ile tespit edilmiştir (Mantoura ve Llewellyn, 1983). Pigment konsantrasyonları eksternal standart eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Jeffrey vd., 1997). Kullanılan 13 farklı standart klorofil *a*, klorofil *b*, klorofil *c*2, peridinin, 19-butanoyloxyfucoxanthin, fucoxanthin, 19-hexanoyloxyfucoxanthin, diadinoxanthin, alloxanthin, lutein, zeaxanthin, divinyl klorofil-*a* ve β-karotendir (DHI company, Denmark). İncelenen örneklerde bu pigmentlerin hepsi bulunmamaktadır.

3.6. Toplam Çözünür Fenolikler

Suda çözünür fenoliklerin miktarlarını belirlemek için 50 mg örnek 3 ml metanol içerisinde homojenize edilip, 15 dakika boyunca kaynatılmıştır. Daha sonra 4 °C'ta 4000 g'de 10 dakika santrifüj edilip, süpernatant evaporatörde buharlaştırılmış ve örnekler 10 ml saf su içinde çözülmüştür. Bu ekstraktın 0,2 ml'lik alikotu 5 ml su bulunan bir tüpe eklenmiş, üzerine 0.2 ml Folin- Ciocalteu'dan ve 1 ml %20'lik Na₂CO₃ ilave edilip (pH 7), ilave edilerek karıştırılacaktır. Standartlara da 0.2 ml Folin- Ciocalteu ve 1 ml Na₂CO₃ eklenmiştir.

Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 650 nm'deki absorbans değerleri okunmuş ve gallik asit standartı (20, 40, 60, 80 ppm) kullanılarak hesaplama işlemi yapılmıştır.

3.7. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Liyofilize materyalden tartılan 50 mg lık kısım 3 ml soğuk metanol içinde homojenize edilmiştir. Ekstrakt 4 °C'ta 4000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant toplam antioksidan kapasiteyi belirlemek üzere analiz edilmiştir. İçerisinde 0,6 M H₂SO₄, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat (50 ml su, 1.75 ml H₂SO₄, 0.25 mg NaPO₄) bulunan belirteç çözelti hazırlanır. Ekstraktın 200 µl si üzerine 2.8 ml belirteç çözelti eklenerek tüp karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Örnekler ve askorbik asit standartları birlikte 90°C de 90 dakika inkübasyondan sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve 695 nm dalgaboyunda absorbansları belirlenmiştir. Toplam antioksidan kapasite askorbik asit eşdeğeri olarak standart eğriden hesaplanmıştır (Prieto vd., 1999).

3.8. CUPRAC (kuprik iyon radikal süpürme kapasitesi)

Santrifüjlenerek deniz suyundan ayrılan ve liyofilize edilerek kurutulan mikroalgler (50 mg) 3 ml metanol ile süspanse edilmiştir. Daha sonra homojenizatör ile parçalanmış ve 24 saat buzdolabında bekletilmiştir. Radikal süpürme kapasitesinin belirlenmesi için solüsyon 1 (Cu(II) 0.01 M (0.170gr/100 ml) 0.426 gr CuCl₂ · 2H₂O 250 ml suda çözülür), solüsyon 2 (Amonyum asetat tamponu pH: 7), solüsyon 3 (Neocuprion (Nc) solüsyonu 0.039 gr Nc %96 lık 25 ml alkolde çözülür), 1 ml saf su ve 0.1 mL ekstrakt karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 50°C de 20 dk inkübasyondan sonra soğutulmuştur (Apak vd., 2004). Gallik asit standartları kullanılarak 450 nm dalgaboyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.9. Askorbik asit

40 mg kurutulmuş mikroalg hücreleri 4°C'ye soğutulmuş 2 ml %10 (w/v) trikloroasetik asit içinde homojenize edildi ve 4000 g de 5 dk santrifüjlenmiştir. Berraklaşan çözeltiden alınan 200 µl lik bir kısım 500 µl fosfat tampon (pH 7, 150 mM + 5 mM EDTA) ve 100 µl ditiotrehitol (10 mM) ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi. Karışımın 50 µl si 2.95 ml diklorofenol indolifenol (DCPIP) çözeltisine (13 mg/g DCPIP + 3 g/L sodyum asetat) eklendi. Spektrofotometrede 520 nm deki absorbans azalması ölçülmüştür. Askorbat içeriği standart eğriden hesaplandı ve sonuçlar mg/g kuru ağırlık olarak ifade edilmiştir.

3.10. Antioksidan enzimlerin ekstraksiyonu

Mikroalg hücreleri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır. Deniz suyundan ayrılan hücreler, düşük basınç altında liyofilize edildi. 40 mg kurutulmuş mikroalg örneği 5 mL 0.1 M fosfat tamponu (pH 7) ile homojenize edilmiştir. Tampon 0,1 mM EDTA ve 100 mg PVP içermektedir. Saf ekstrakt +4°C'de, 5 dk, 4500 g'de santrifüj edilmiş ve süpernatant aktivite ölçümler için -20 °C de saklanmıştır.

3.11. Süperoksit Dismutaz (SOD, EC.1.15.1.1) Aktivite Tayini

300 µl örnek üzerine 2,4 mL fosfat tamponu, 1 mL sodyum karbonat, 200 µL L-Methionin, 100 µL nitro blue tetrazolium (NBT), ve 100 µL ribofilavin eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Örnekler 10 dk süreyle 25 °C ışık altında tutulmuştur. Spesifik enzim aktivitesi U/mg-1 protein olarak belirlenmiştir. Bir birim SOD aktivitesi 560 nm'de spektrofotometrede ölçülen NBT redüksiyon hızının %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak belirlenmiştir. Bir birim (Unit), 25 °C'de 1 dk 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim (SOD) miktarını göstermektedir (Beyer ve Fridovich, 1987).

3.12. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini

Askorbat peroksidaz aktivitesi için 2.6 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7), 30 µL EDTA (0.1 nM), 150 µL askorbik asit (0.5 mM), 30 µL H₂O₂ (0.5 mM) ve son olarak 200 µL enzim ekstraktının eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. 290 nm de askorbik asitin oksidasyonundan kaynaklanan absorban azalması 10-30 sn arasında kaydedilmiştir (Bonnet vd., 2000).

3.13. Glikoz analizi

50 mg örnek 3 ml metanol içerisinde homojenize edilip 4000 devirde 10 dk santrifüjlenmiştir. Örnekten alınan 100 µl lik kısım üzerine 900 ml saf su konulmuştur. Üzerine 2 ml soğuk antron çözeltisi (50 ml H₂SO₄ içinde 75 mg antron çözülür) basınçlı olarak eklenip ve tüp karıştırıcıda kuvvetle karıştırılmıştır. 90°C de 5 dk inkübe edilip, ısıtılmış ve 620 nm de absorbasları ölçülmüştür. Glikoz standartları ile çizilen standart eğriden glikoz miktarı hesaplanmıştır. Bu yöntemde serbest glikoza ek olarak sakkaroz glikozu da belirlenmektedir.

3.14. Fruktoz analizi

50 mg örnek 3 ml metanol içerisinde homojenize edilip 4000 devirde 10 dk santrifüjlenmiştir. Örnekten alınan 100 µl lik kısım üzerine 900 ml saf su konulmuştur. Üzerine 2 ml soğuk antron çözeltisi (50 ml H₂SO₄ içinde 75 mg antron çözülür) basınçlı olarak eklenip tüp karıştırıcıda kuvvetle karıştırılmıştır. 40°C de 30 dk inkübe edilmiştir. Isıtılmış ve 620 nm de absorbasları ölçülmüştür. Fruktoz standartları ile çizilen standart eğriden fruktoz miktarı hesaplanmıştır. Bu yöntemde serbest fruktoza ek olarak sakkaroz fruktozu da belirlenmiştir (Halhoul ve Kleinberg 1972)

3.15. Protein analizi

50 mg kuru örnek üzerine 5 ml %80 aseton eklenmiştir ve 10 dk çalkalanmıştır. 4000 g ile 5 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant atılmıştır. Kalıntı üzerine 0.1 mM tris-HCl tamponundan (pH 8) 2 ml konulmuştur. Çalkalanarak süspanse edilmiştir. 4000 g de 5 dk santrifüjlenip süpernatant alınmıştır (Jordan vd., 1992). Ekstraktın protein içeriği BSA ile hazırlanan standartların kullanımı ile Lowry vd. (1951) yöntemine göre belirlenmiştir.

3.16. Antioksidan Enzimlerin Aktivitesi

Mikroalg hücreleri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır. Deniz suyundan ayrılan hücreler, düşük basınç altında liyofilize edilmiştir. Kuruyan örnekler tartılıp soğukta saklanmıştır.

3.17. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini

Askorbat peroksidaz aktivitesi için 2.6 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7), 30 µL EDTA (0.1 nM), 150 µL askorbik asit (0.5 mM), 30 µL H₂O₂ (0.5 mM) ve son olarak 200 µL enzim ekstraktının

eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. 290 nm de askorbik asitin oksidasyonundan kaynaklanan absorbands azalması 10-30 sn arasında kaydedilmiştir (Bonnet vd., 2000).

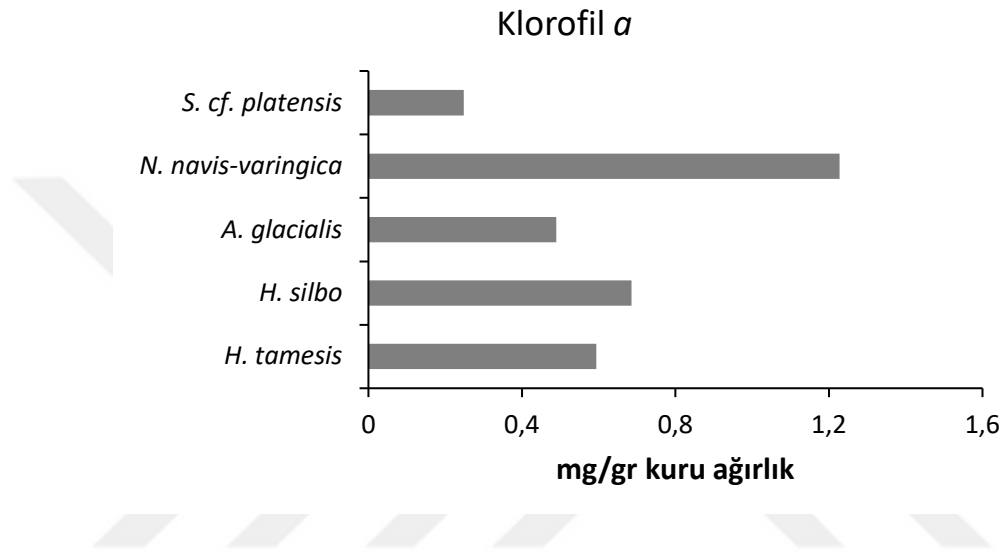


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

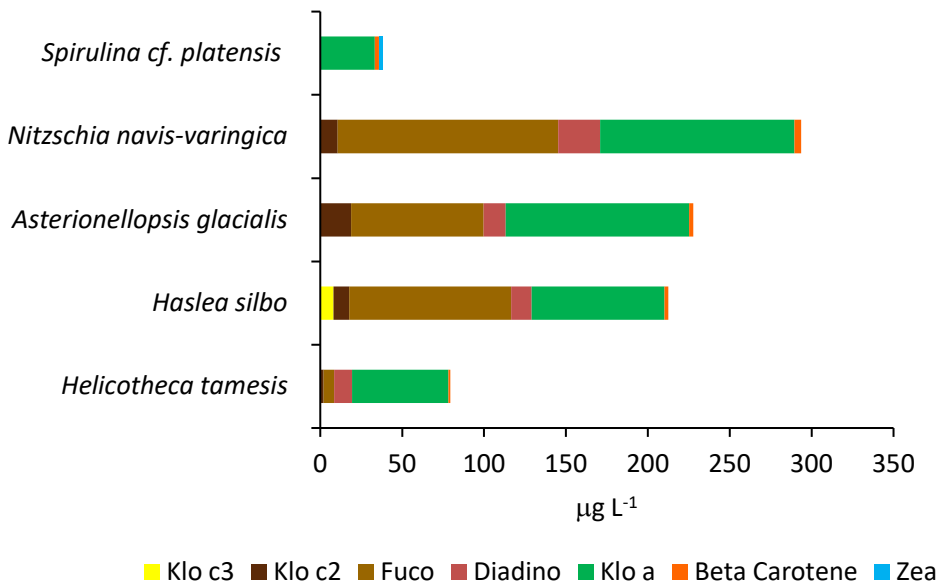
4.1. Bulgular

4.1.1. Klorofil *a*

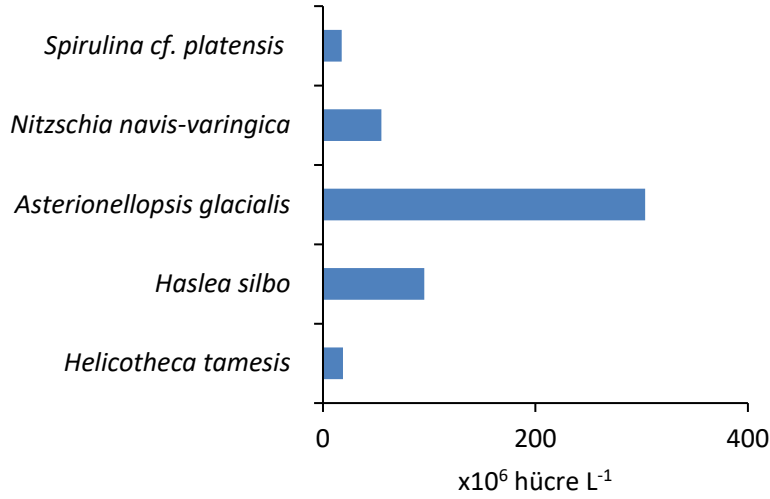
İncelenen beş mikroalg türünden; *Helicotheca tamesis*, *Haslea silbo*, *Nitzschia navis-varingica*, *Asterionellopsis glacialis* ve *Spirulina cf. platensis* en yüksek yoğunlukta klorofil *a*'ya sahip olan türün *Nitzschia navis-varingica* olduğu görülmüştür (Şekil 4.1).



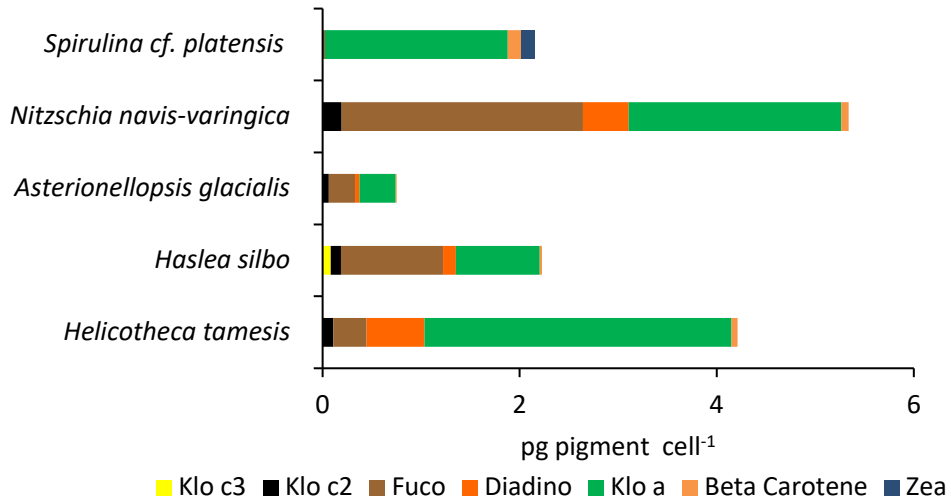
Şekil 4.1. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin klorofil *a* miktarları.



Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan kültürlerdeki indikatör pigmentlerin miktarları



Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan kültürlerin aynı yetiştirme şartlarında bolluk değerleri.

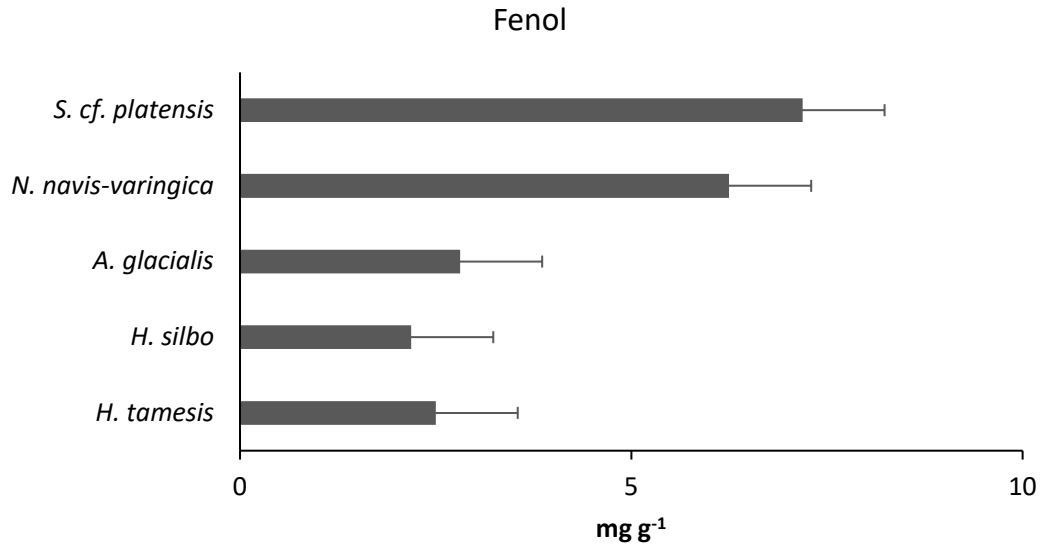


Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan kültürlerdeki indikatör pigmentlerin hücre başına düşen miktarları.

Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi yöntemi ile ölçülen pigment miktarları incelendiğinde, spektrofotometrik ölçümde olduğu gibi en yüksek pigment konsantrasyonuna sahip türün *N. navis-varingica* olduğu görülmüştür. Bazı örneklerdeki Fukoksantin miktarının klorofil *a* miktarını geçtiği görülmüştür. En düşük pigment konsantrasyonuna sahip tür *Spirulina cf. platensis* olarak bulunmuştur. *Haslea silbo*'da Klorofil *c2*'ye ek olarak Klorofil *c3*'ün de bulunduğu tespit edilmiştir. Her bir türün hacmi ve litredeki konsantrasyonu farklıdır. En yüksek bolluk değerine sahip olan tür *A. glacialis*'tir. İkinci yüksek bolluğa sahip tür *H. silbo*'dur. Pigment konsantrasyonu hücre sayısına bölündüğünde de hücre başına düşen en yüksek pigment oranı *N. navis-varingica*'ya ait olduğu görülmüştür. Bu türden sonra en yüksek hücre başına pigmente sahip tür *H. tamesis* olmuştur.

4.1.2. Toplam Çözünür Fenolikler

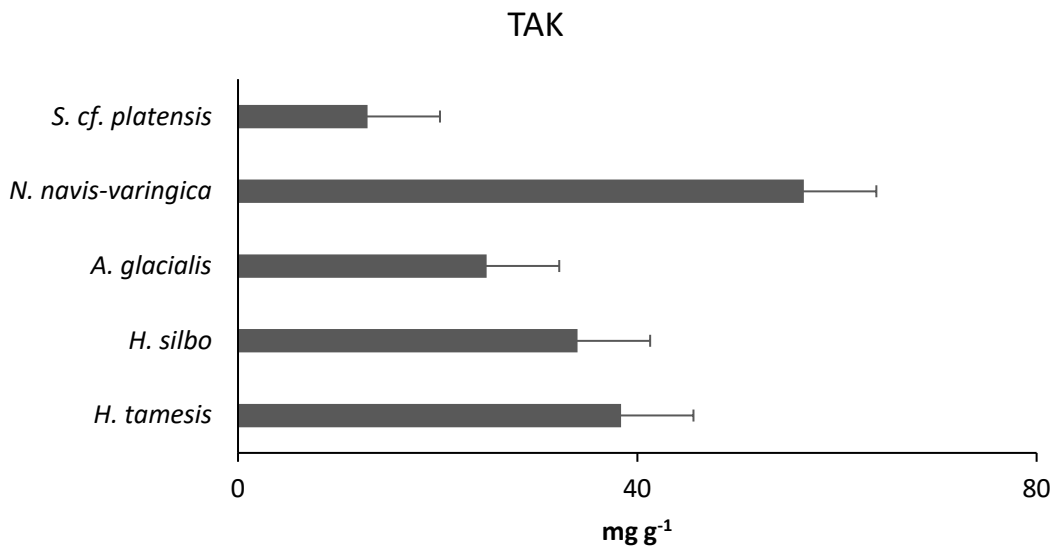
Toplam çözünür fenol miktarları incelendiğinde en yüksek konsantrasyonlara *Spirulina cf. platensis* ve *N. navis-varingica*'nın sahip olduğu anlaşılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 4.5. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin fenol miktarları.

4.1.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)

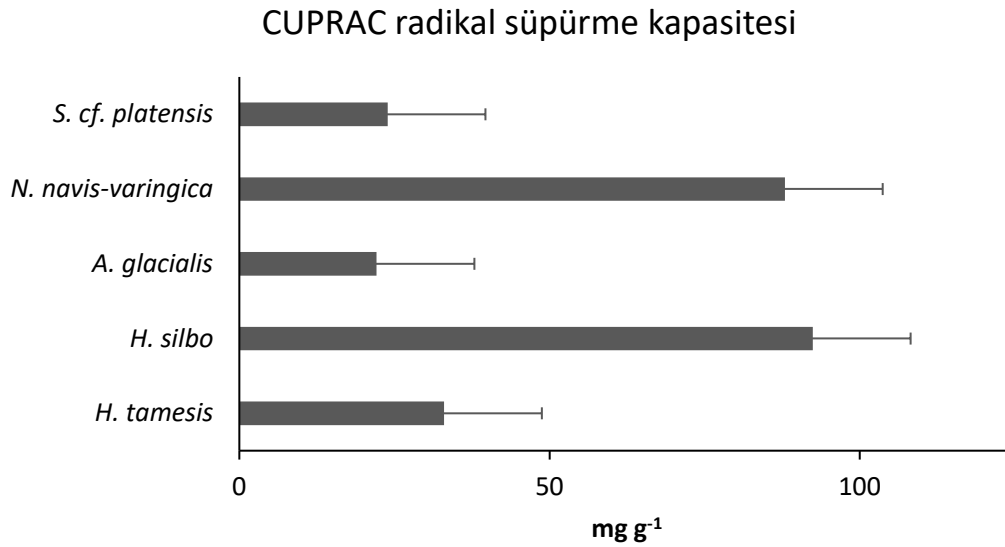
Toplam antioksidan kapasitesi incelendiğinde en yüksek antioksidan konsantrasyonuna sahip olan türün gene *N. navis-varingica* olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi.

4.1.4. CUPRAK Radikal Süpürme Kapasitesi

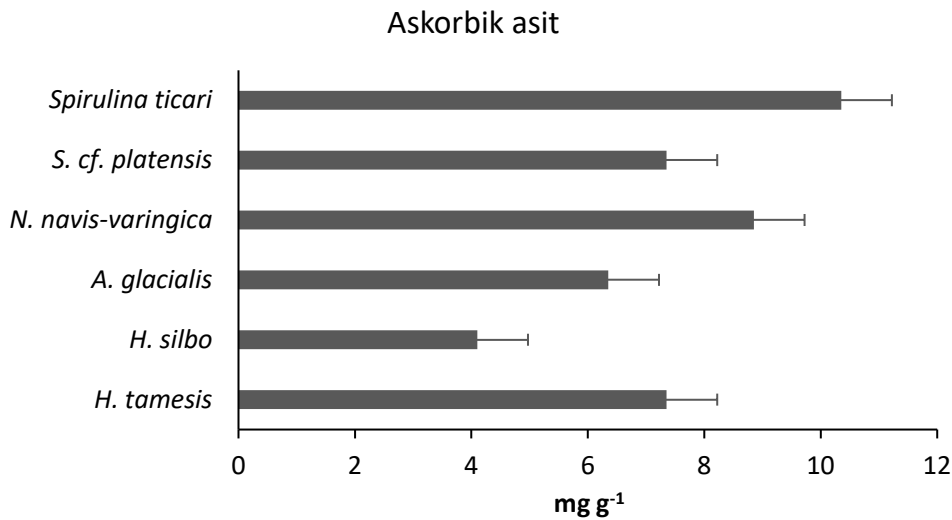
Radikal süpürme kapasitesi CUPRAK yöntemi ile araştırıldığında *Haslea silbo* ve *N. navis-varingica*’nın birbirine benzer derecede yüksek kapasitelere sahip olduğu izlenmiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin CUPRAK radikal süpürme kapasitesi.

4.1.5. Askorbik Asit Konsantrasyonu

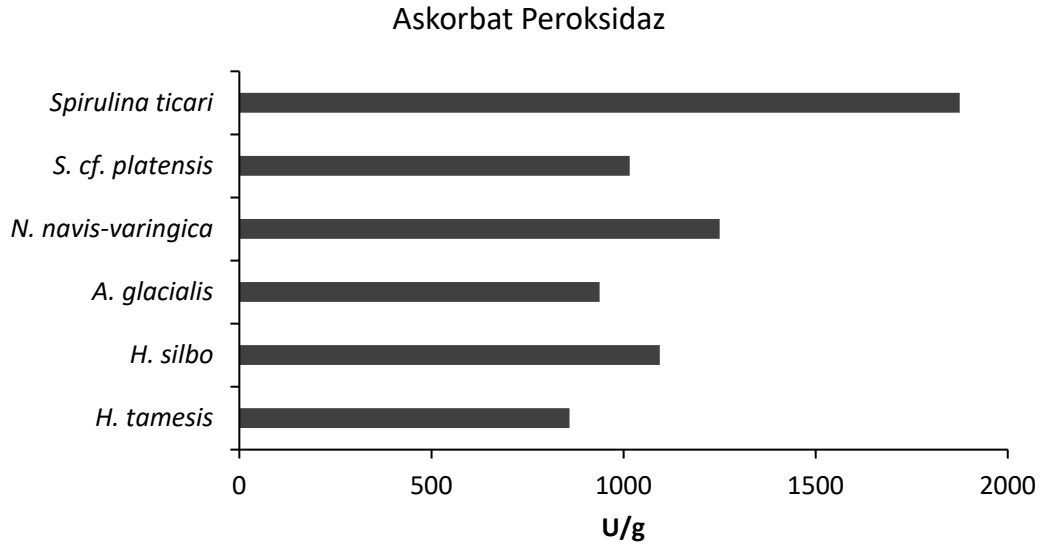
En yüksek askorbik asit konsantrasyonu *N. navis-varingica*’da ölçülmüştür. *Spirulina cf. platensis* ve *Helicotheca tamesis* türleri *N. navis-varingica*’yı izlemiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Askorbik asit konsantrasyonları.

4.1.6. APX (Askorbat Peroksidaz) Analizi

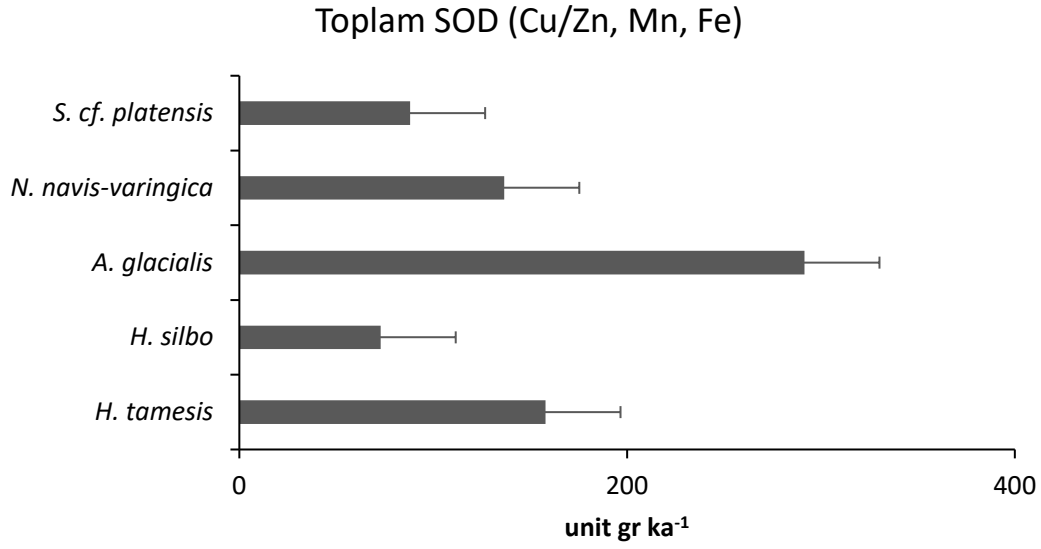
Türlerin askorbat peroksidaz aktiviteleri göreceli olarak birbirine yakın bulunmuştur. En yüksek askorbat peroksidaz aktivitesine *N. navis-varingica*'nın (1250 U g^{-1}) sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.9.).



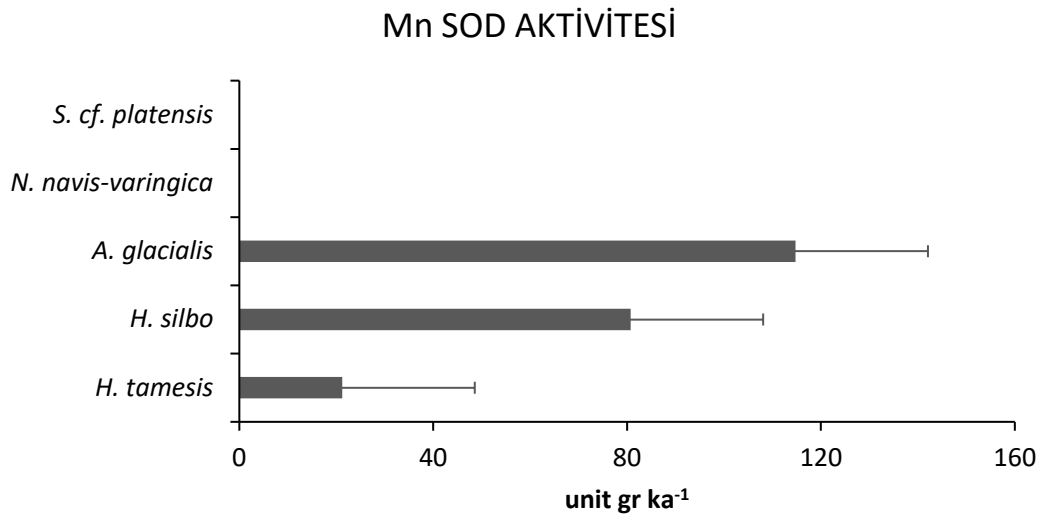
Şekil 4.9. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin askorbat peroksidaz aktivitesi.

4.1.7. S.O.D. (Süperoksit Dismutaz Aktivitesi)

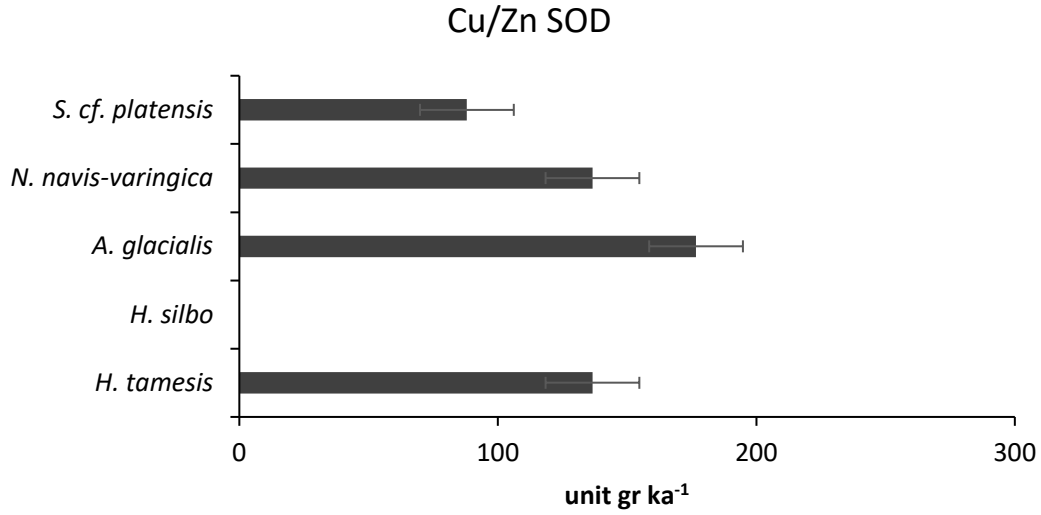
En yüksek toplam SOD aktivitesine sahip olan türün *Asterionellopsis glacialis* olduğu gözlemlenmiştir. Bunu takip eden türün *Helicotheca tamesis* olduğu görülmüştür. *H. silbo*'nun en düşük toplam SOD aktivitesine sahip olduğu anlaşılmıştır. *A. glacialis*'in Mn SOD ve Cu/Zn SOD aktiviteleri de en yüksek olarak bulunmuştur (Şekil 4.10 a-c).



Şekil 4.10a. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin toplam SOD aktivitesi.



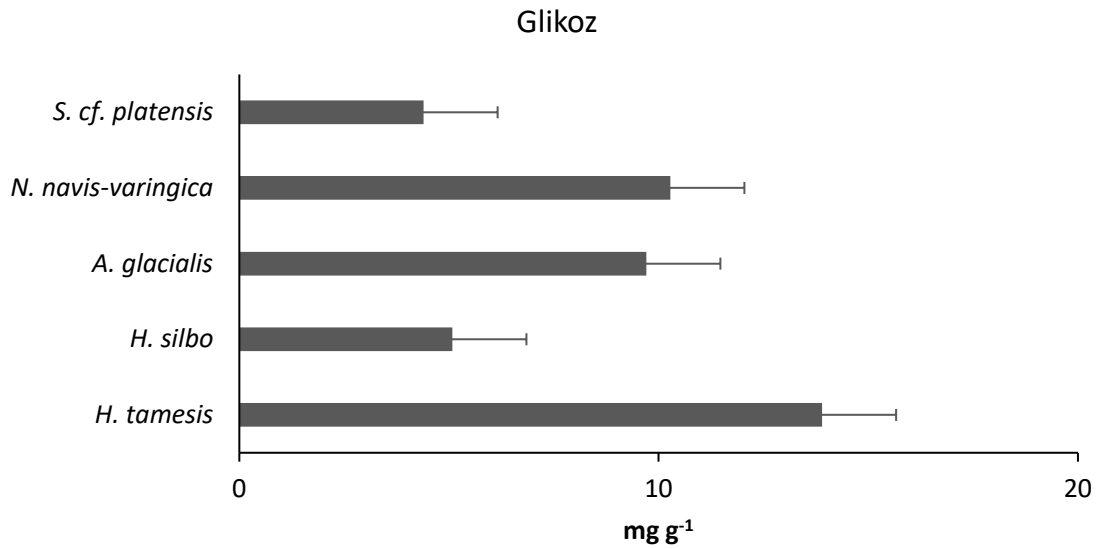
Şekil 4.10b. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin Mn SOD aktivitesi.



Şekil 4.10c. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin Cu/Zn SOD aktivitesi.

4.1.8. Toplam Glikoz Miktarı

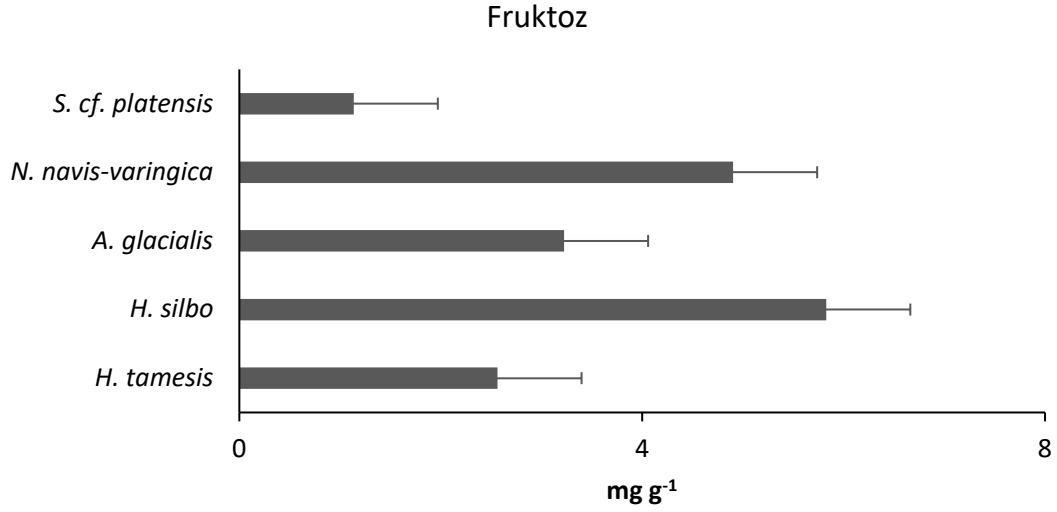
En yüksek glikoz konsantrasyonuna sahip tür *Helicotheca tamesis* olarak bulunmuş, bu türü sıralama olarak *N. navis-varingica* ve *Asterionellopsis glacialis* izlemiştir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin glikoz miktarları.

4.1.9. Toplam Fruktoz Miktarı

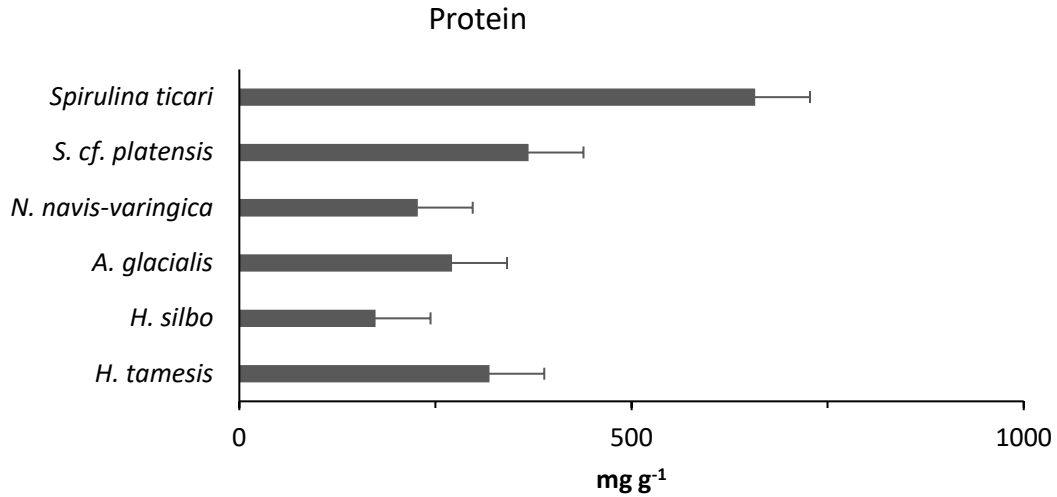
Toplam fruktoz konsantrasyonu en fazla olan türler *H. silbo* ve *N. navis-varingica* olarak bulunmuştur (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin fruktoz miktarları.

4.1.10. Protein Konsantrasyonu

Protein konsantrasyonları incelendiğinde en yüksek toplam proteine sahip olan türün *S. cf. platensis* olduğu görüldü. Bu türü *H. tamesis* ve *A. glacialis* izledi (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Dondurularak kurutulan mikroalg örneklerinin protein miktarları.

4.2. Tartışma

İncelenen *Helicotheca tamesis*, *Haslea silbo*, *Nitzschia navis-varingica*, *Asterionellopsis glacialis* ve *Spirulina cf. platensis* türleri arasında en yüksek klorofil *a* ve *c* içeriğine sahip olan türün *Nitzschia navis-varingica* olduğu belirlenmiştir. Kuru ağırlık başına düşen klorofil *a* miktarı 1,23 mg olarak hesaplanmıştır. *Spirulina cf. platensis* en düşük klorofil *a*'ya sahip tür olarak bulunmuştur. Farklı mikroalg türlerinde ölçülen klorofil *a* değerinin literatürde 0.2 ile 18 mg g⁻¹ arasında değiştiği rapor edilmiştir (Gao vd., 2017; Kumar Saha vd., 2013; Yusof vd., 2021). Klorofil *a* miktarının ışık şiddeti ile ters orantılı olarak, besin elementi miktarı ile ise doğru orantılı olarak değiştiği bilinmektedir (Geider, 1987; Laws ve Bannister, 1980). Ayrıca klorofil *a* miktarları farklı taksonomik sınıflarda ve türlerde de farklılık gösterebilir (Sathyendranath vd., 2009).

Bu çalışmada en yüksek toplam çözünür fenol miktarına sahip türler *Spirulina cf. platensis* ve *N. navis-varingica* olarak ölçülmüştür. Fenol miktarları sırasıyla 7 ve 6 mg GAE g⁻¹ olarak bulunmuştur. Literatürde çok sayıda mikroalg türünde toplam fenolik değerlerinin 0.1 mg GAE ka ile 45 mg GAE ka arasında değiştiği rapor edilmiştir (Ahm vd., 2014; Bulut 2020; Demirel vd., 2018; Goiris vd., 2012; Hemalatha vd., 2013; Li vd., 2007; López-Hernández 2020; Roy vd., 2021; Yüksel vd., 2021). Literatürde en yüksek fenol içeriğine sahip olan cinsler yeşil alglerden *Chlorella*, *Desmodesmus* ve *Hindakia tetrachotoma*, siyanobakterilerden *Nostoc* olarak kaydedilmiştir. Bu türler dışında fenol miktarlarının genellikle 1-5 mg GAE g⁻¹ arasında değiştiği görülmüştür.

Çalışmamızda *N. navis-varingica*'nın en yüksek toplam antioksidan kapasitesine sahip tür olduğu gözlemlenmiştir. Bu türde 57 mg g⁻¹ TAK değeri ölçülmüştür. *Helicotheca tamesis* (38 mg g⁻¹) ve *Haslea silbo* (25 mg g⁻¹) türleri *N. navis-varingica*'yı takip ederek ikinci ve üçüncü yüksek TAK'a sahip olmuşlardır. Literatürde farklı türlere ait TAK değerlerinin gram kuru ağırlık başına 1.4-2.58 mg askorbik asit eş değeri arasında değiştiği rapor edilmiştir (Assunção vd., 2017; Hemalatha vd., 2013; Saranya vd., 2014; Abdel-Karim 2020). Literatür değerleri ile karşılaştırıldığında bu türlerin antioksidan kapasitelerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Haslea silbo ve *N. navis-varingica*'nın benzer oranlarda CUPRAK radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu iki türün ~90 mg g⁻¹ Gallik Asit eşdeğerinde radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur. Arguelles (2021) *Chlorella minutissima* türünün CUPRAC yöntemi ile radikal süpürme kapasitesini 13.9 µg ml⁻¹ olarak askorbik asitinkini ise 46.3 µg ml⁻¹ olarak rapor etmiştir (Zaharieva vd., 2022, Arguelle vd., 2017, Akar vd., 2019).

En yüksek askorbik asit konsantrasyonuna sahip tür 8.85 mg g⁻¹ değeriyle *N. navis-varingica* olarak bulunmuştur. *H. tamesis* ikinci en yüksek askorbat içeriğine sahip tür olarak tespit edilmiştir. Literatürde farklı türlere ait askorbik asit konsantrasyonunun 0.1-18 mg g⁻¹ arasında değiştiği rapor edilmiştir

(Brown ve Miller, 1992; Işık vd., 2006; Del Mondo vd., 2020; Running, 1984; Yusof vd., 2021). Çalışmamızda bulunan değerler literatür değerlerine benzer aralıktadır.

En yüksek askorbat peroksidaz aktivitesine sahip tür *N. navis-varingica* olarak bulunmuştur (1250 U g⁻¹). İkinci en yüksek değere sahip tür *H. silbo* olmuştur. Diğer türlerin APX değerleri de birbirine yakın bulunmuştur. Literatürde askorbat peroksidaz değerlerinin 0.2-5 U mg protein (200-5000 Ug protein) arasında değiştiği kaydedilmiştir (Al-Rashed vd., 2016; Çakmak vd., 2015; Janknegt vd., 2009; Mishra ve Jha 2011). Bu değerler çalışmamızda bulunan değerler ile uyumludur.

En yüksek SOD aktivitesine sahip olan tür 291 U g⁻¹ KA değeriyle *Asterionellopsis glacialis* olarak bulunmuştur. Bu tür aynı zamandan en yüksek Mn SOD ve Cu/Zn SOD aktivitesine de sahip olan türdür. Literatürde mikroalg türlerinde SOD aktivitesi değerlerinin 10 U mg protein ile 220 U mg protein arasında değiştiği kaydedilmiştir (Janknegt vd., 2007; Al-Rashed vd., 2016; Çakmak vd., 2015; Gao vd., 2017; Lei vd., 2006; López-Hernández vd., 2020; Roy vd., 2021; Santiago-Morales vd., 2018). En yüksek değer bir yeşil alg türü *Scenedesmus quadricauda* (Gao vd., 2017) ve Antarktika'da bir diyatom türünde (*Chaetoceros brevis*) tespit edilmiştir. Çalışmamızda bulunan en yüksek değer literatürdekinden daha yüksektir.

Glikoz konsantrasyonu en yüksek bulunan tür 14 mg g⁻¹ değeri ile *H. tamesis* olarak bulunmuştur. *N. navis-varingica* ve *Asterionellopsis glacialis* türleri glikoz içeriği bakımından ikinci ve üçüncü sırada yer almıştır. Literatürde mikroalglerde glikoz konsantrasyonu ile ilgili sınırlı sayıda bilgi bulunabilmiştir. *Chlorella vulgaris* türünde ölçülen glikoz 283 mg g⁻¹ olarak kaydedilmiştir (El-Naggar vd., 2016). Bahsedilen çalışmada kullanılan besi yeri BG11 olup bu kültür ortamında var olan nitrat ve fosfat konsantrasyonu mevcut çalışmada kullanılan (F/2 Medyum) sırasıyla 20 kat ve 8 kat daha fazladır. Hernandez vd., (2015) üç mikroalg türünde (*Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis gaditana* ve *Scenedesmus almeriensis*), asit ile muamele, NaOH ekleme glikoz ve otoklavlama sonucunda ortama salınan toplam monosakkarit miktarının 3-150 mg g⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmiştir. *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis sp.* ve *Chlorella vulgaris* türlerinin glikoz konsantrasyonları sırasıyla 27, 42 ve 48 mg g⁻¹ olarak belirtilmiştir (Templeton vd., 2012). Bu değerler ile karşılaştırıldığında, çalışmamızdaki şeker miktarının düşük sıralarda olduğu görülmektedir.

Fruktoz konsantrasyonu en yüksek bulunan tür *H. silbo* olduğu görülmüştür (6 mg g⁻¹). *N. navis-varingica* bu türü takip eden oranda ikinci en yüksek fruktoz konsantrasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Glikozda olduğu gibi mikroalgde fruktoz ölçümü yapan sadece iki adet yayın bulunabilmiştir (El-Naggar vd., 2016). *Chlorella vulgaris* türünde ölçülen fruktoz konsantrasyonu 13 mg g⁻¹ olarak kaydedilmiştir. *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis sp.* ve *Chlorella vulgaris* türlerinin fruktoz konsantrasyonları sırasıyla 21, 4, 3 mg g⁻¹ olarak ölçülmüştür (Templeton vd., 2012). Çalışmamızda ölçülen sonuçlar literatür değerleri ile karşılaştırılabilir seviyelerdedir.

Protein miktarı en yüksek tür litertür bilgileri ile uyumlu olarak *Spirulina cf. platensis* (369 mg g⁻¹) olarak bulunmuştur. İkinci en yüksek tür *H. tamesis* ve *A. glacialis*'tir. Literatürde mikroalglerin protein içeriğinin kuru ağırlık başına 60-700 mg g⁻¹ arasında değiştiği kaydedilmiştir (Debnath vd., 2021; Becker vd., 2007; Guerrini vd., 2000; Spolaore vd., 2006). Bu çalışmalarda genellikle *Spirulina* cinsinin protein içeriğinin göreceli olarak diğer türlerden daha yüksek ölçüldüğü görülmüştür.

Ülkemizde bu alanda yapılan çalışmalar incelendiğinde denizel mikroalgler üzerine yapılan hiçbir araştırma olmadığı görülmektedir. Türkiye’de daha önce mikroalgler ve antioksidanlar ile ilgili yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi özetlenebilir. Bir çalışmada yüksek bir dağ gölünden izole edilen bir tatlı su türünün, *Microspora* sp., antioksidan içeriği farklı yöntemler kullanılarak incelenmiştir (Akar vd., 2019). 3 termotolerant mikroalg türünün, *Scenedesmus* sp., *Hindakia tetrachotoma* ve *Micractinium* sp. antioksidan kapasitesi, toplam fenolikleri, karotenoid ve flavonoid içerikleri bir doktora tezi olarak araştırılmıştır (Bulut, 2020). En yüksek fenol içeriğine (18.30 ± 0.72 mg gallik asit eşdeğeri g⁻¹ KA) ve antioksidan kapasiteye (12.42 ± 1.21 and 67.98 ± 3.45 µmol troloks eşdeğeri g⁻¹ KA) sahip tür *Hindakia tetrachotoma* olarak bulunmuştur. Bir başka çalışma *Chlamydomonas reinhardtii* türünün besin elementi sınırlandırıldığında verdiği antioksidan cevap üzerine yapılmıştır (Çakmak vd., 2015). Bu bahsedilen çalışmada besinlerin sınırlandırılmasının klorofil *a* miktarında azalmaya, antioksidan kapasitede düşüğe, karotenoid ve nötral lipit miktarında ise artışa neden olmuştur. Bir başka çalışmada *Desmodesmus protuberans* türünün farklı sıcaklık ve kültür ortamlarında (besi yerleri) büyüme, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir (Demirel vd., 2018). 3 siyanobakteri türünde, *Spirulina platensis*, *Synechococcus nidulans* ve *Pseudanabeana* sp., süperoksit dismutaz aktivitesi araştırılmıştır (Güneş vd., 2015). Bu çalışmada maksimum spesifik SOD aktivitesi 50.4 U/mg olarak *S. nidulans* türünde tespit edilmiştir. İki farklı herbisit *Spirulina platensis* ve *Chlorella vulgaris*’in gelişimi ve antioksidan parametreleri üzerine etkisi doktora tezi olarak araştırılmıştır (Er, 2019). H₂O₂ oksidasyon stresinin *Chlamydomonas reinhardtii* türünün karotenoid üretimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır (Yüksel vd., 2021).

Ülkemiz dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde denizel türler ile ilgili de yayınların bulunduğu görülmüştür (Banskota vd., 2019; Brown ve Miller, 1992; Janknegt vd., 2009; Goiris vd., 2012). Bu yayınlarda bulunan sonuçlara ve mevcut çalışma ile karşılaştırmalara yukarıda tartışma bölümü içinde yer verilmiştir.

5. SONUÇLAR

Mevcut çalışmada *N. navis-varingica* türünün pigment içeriği, toplam antioksidan kapasitesi, askorbik asit miktarı ve askorbat peroksidaz enzimi diğer türlerden daha yüksek oranda bulunmuştur. Ticari olarak yetiştirilen *Spirulina* gibi türlere göre daha yüksek bulunan bu özellikler bu türün ileride biyoteknolojik amaçlar ile kullanılabilirliğini göstermektedir. Antioksidanlar günümüzde paketlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak (Byrd, 2001), kozmetik alanında yaşlanma karşıtı olarak (Silva vd., 2019), gıda boyası olarak (FDA, CFR), kanser tedavisinde (Kumar vd., 2013), radyolojik görüntülemelerde flüoresan boya olarak (Zheng vd., 2019) kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanların yüksek dozda kullanımı DNA hasarı, erken yaşlanma (Kornienko vd., 2019) ve kanserojenik (Botterweck vd., 2000; Ferdous ve Yusof, 2021) etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle doğal antioksidanlara ve doğal besin içeriklerine ihtiyaç bulunmaktadır. Çalışmamızda kullanılan *N. navis-varingica* kültüründe bir nörotoksin olan domoik asit bulunmamıştır. Fakat, bu toksine sahip olan suşları mevcuttur. Bu nedenle ölçümleri yapılarak kullanılmalıdır.

N. navis-varingica fenol miktarı, glikoz ve früktoz konsantrasyonu ve CUPRAK radikal süpürme kapasitesine sahip olarak da ikinci en yüksek tür olmuştur. Bu özellikler türün antioksidan üretimi için elverişli bir tür olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda SOD miktarı en yüksek tür *Asterionellopsis glacialis* olmuştur. Bu değer literatürde bulunan en yüksek değerden daha fazla bulunmuştur. Süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidan savunma sistemi olan bu enzimin *A. glacialis* tarafından biyoteknolojik olarak üretililebileceği gösterilmiştir.

CUPRAC radikal süpürme kapasitesi ve früktoz miktarı en yüksek tür *Haslea silbo* olurken en yüksek glikoz değerlerine *Helicotheca tamesis* ulaşmıştır. Protein ve fenol miktarı en yüksek olan tür *Spirulina cf. platensis* olarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

Abdel-Karim O. H., Gheda S. F., Ismail G. A., Abo-Shady A. M. (2020). “Phytochemical Screening and antioxidant activity of *Chlorella vulgaris*.” Int. J. Basic Appl. Sci., Vol. 41, 81 -91.

Aebi, H. E.; Bergmeyer, J.; Grabl, M. Catalase In: Methods of enzymatic analysis, Eds. Verlag Chemie, Weinheim, (1983), 3, 273-286.

Ahmed Ali H. E., Shanab S. M. M., Abo-State M. A. M., Ahmed Shalaby E. A., El Demerdash U. M. N., Abdullah M. A. (2014). Screening of Microalgae for Antioxidant Activities, Carotenoids and Phenolic Contents. Applied Mechanics ve Materials 625, 156-159.

Akar, B., Akar, Z., Sahin, B. (2019). Identification of Antioxidant Activity by Different Methods of a Freshwater Alga (*Microspora* sp.) Collected From a High Mountain Lake. Hittite Journal of Science and Engineering, 6 (1) 25-29.

Al-Rashed S. A., Ibrahim M. M., El-Gaaly G. A., Al-Shehri S., Mostafa A. (2016). Evaluation of radical scavenging system in two microalgae in response to interactive stresses of UV-B radiation and nitrogen starvation. Saudi Journal of Biological Sciences, 23/6, 706-712. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.06.010

Arguelles E.D.L.R. (2021). Biochemical Composition ve Bioactive Properties of *Chlorella minutissima* (Chm1) as a Potential Source of Chemical Compounds for Nutritional Feed Supplement and Disease Control in Aquaculture. Current Applied Science ve Technology Vol. 21 (1), 65-77.

Allen, J.F.; Hall, D.O. Superoxide reduction as a mechanism of ascorbate-stimulated oxygen uptake by isolated chloroplasts. Biochem. Biophys. Res. Commun. (1973), 52, 856–862.

Andreeva, A., Budenkova, E., Babich, O., Sukhikh, S., Dolganyuk, V., Michaud, P., Ivanova, S. (2021). Influence of Carbohydrate Additives on the Growth Rate of Microalgae Biomass with an Increased Carbohydrate Content. Mar. Drugs , 19, 381. [https:// doi.org/10.3390/md19070381](https://doi.org/10.3390/md19070381)

Asada, K. Production ve scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts ve their functions. Plant Physiol. (2006), 141, 391–396.

Asghari A., Fazilati M., Latifi A. M., Salavati H., Choopani A. (2016). A Review on Antioxidant Properties of *Spirulina*. Journal of Applied Biotechnology Reports, 3(1), 345-351.

Assunção, M. F. G., Amaral R., Martins C. B., Ferreira J. D., Ressurreição S., Dias Santos S., Varejão J. M. T. B., Santos L. M. A. (2017). Screening microalgae as potential sources of antioxidants. J Appl Phycol., 29, 865–877. DOI 10.1007/s10811-016-0980-7

Ayaz, Furkan & Eker-Develi, Elif & Sahin, Merve. (2018). First report of *Nitzschia navis-varingica* in the Mediterranean Sea ve growth stimulatory effects of *Nitzschia navis-varingica*, *Chrysochromulina alifera* ve *Heterocapsa pygmaea* on different mammalian cell types. *Molecular Biology Reports*. 45. 1-9. 10.1007/s11033-018-4195-7.

Allen, J.F.; Hall, D.O. Superoxide reduction as a mechanism of ascorbate-stimulated oxygen uptake by isolated chloroplasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1973), 52, 856–862.

Anantharaman, P.; Hemalatha, A.; Girija, K.; Parthiban, C.; Saranya, C. Antioxidant properties ve total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* ve green microalgae, *Chlorella marina* ve *Dunaliella salina*. *Adv. Appl. Sci. Res.* (2013), 4, 151–157.

Asada, K. Production ve scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts ve their functions. *Plant Physiol.* (2006), 141, 391–396.

Asghari A., Fazilati M., Latifi A. M., Salavati H., Choopani A. (2016). A Review on Antioxidant Properties of *Spirulina*. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 3(1), 345-351.

Barlow, R.G., Cummings, D.G., Gibb, S.W., (1997). Improved resolution of mono- ve divinyll chlorophylls a ve b ve zeaxanthin ve lutein in phytoplankton extracts using reverse phase C-8 HPLC. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 161, 303–307. [https://doi.org/ 10.3354/meps161303](https://doi.org/10.3354/meps161303)

Basciano, H., Federico, L., Adeli, K. (2005). Fructose, insulin resistance, ve metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism* 2005, 2:5 doi:10.1186/1743-7075-2-5.

Becker, E.W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25 (2), 207-210.

Bellinger BJ, Underwood GJC, Ziegler SE, Gretz MR (2009) Significance of diatom-derived polymers in carbon flow dynamics within estuarine biofilms determined through isotopic enrichment. *Aquat Microb Ecol* 55:169–187.

Bertrand J., Bertrand P. ve Ovarlez J. P. (2010). Mellin Transform (A. D. Poularikas, Editor). *Transforms Ve Applications Handbook*, 3rd edition, CRC press, New York, p.550-587.

Benzie IFF (2000) Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur J Nutr* 39:53–61.

Beyer, W.F.; Fridowich, I. Assaying for superokside dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, (1987), 161, 559-566.

Beyer, R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: Interaction with vitamin E ve coenzyme Q. *Journal of Bioenergetics ve Biomembranes*, (1994), 26, 349-358.

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O (2012) Oxidative stress ve antioxidant defense. *World Allergy Organ J* 5:9–19.

Botterweck A., Verhagen H., Goldbohm R., Kleinjans J., Brandt P.V.D., Brandt P.V.D. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem. Toxicol.* (2000) ;38:599–605. doi: 10.1016/S0278-6915(00)00042-9.

Byrd S.J. (2001). Using antioxidants to increase shelf life of food products. *Cereal Foods World* 46(2):48-53.

Bulut O. (2020). Antioxidant capacities ve bioactive compounds of novel thermo-tolerant green microalgae. Ph-D Thesis, Middle East Technical University, The Graduate School of Natural Ve Applied Sciences, pp.126.

Çakmak Z. E., Ölmez T. T., Çakmak T., Menemen Y. ve Tekinay T. (2015). Antioxidant response of *Chlamydomonas reinhardtii* grown under different element regimes. *Phycological Research*, 63: 202–211.

Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke, H (2004) Antioxidant activity ve phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74(17): 2157-2184

Carocho M, Ferreira ICFR (2013) A review on antioxidants, prooxidants ve related controversy: natural ve synthetic compounds, screening ve analysis methodologies ve future perspectives. *Food Chem Toxicol* 51:15–25.

Cirulis, J.T.; Scott, J.A.; Ross, G.M. Management of Oxidative Stress by Microalgae. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* (2013), 91, 15–21.

Cheng, D.; Li, D.; Yuan, Y.; Zhou, L.; Li, X.; Wu, T.; Wang, L.; Zhao, Q.; Wei, W.; Sun, Y. Improving carbohydrate ve starch accumulation in *Chlorella* sp. AE10 by a novel two-stage process with cell dilution. *Biotechnol. Biofuels* (2017), 10, 75.

Choochote, W.; Suklampoo, L.; Ochaikul, D. Evaluation of antioxidant capacities of green microalgae. *J. Appl. Phycol.* (2014), 26, 43–48.

Cook PLM, Veuger B, Voer S, Middelburg JJ (2007) Effect of nutrient availability on carbon ve nitrogen incorporation ve flows through benthic algae ve bacteria in near-shore sandy sediment. *Aquat Microb Ecol* 49:165–180

Corrêa, D.O.; Duarte, M.E.R.; Nosedá, M.D. Biomass production ve harvesting of *Desmodesmus subspicatus* cultivated in flat plate photobioreactor using chitosan as flocculant agent. *J. Appl. Phycol.* (2018), 31, 857–866.

Coulombier N., Jauffrais T. ve Lebouvier N. (2021). Antioxidant Compounds from Microalgae: A Review. *Mar. Drugs*, 19, 549. <https://doi.org/10.3390/md19100549>.

Cupp, E. E. (1943). Marine Plankton Diatoms of the West Coast of North America. *Bulletin of the Scripps Inst. Oceanogr. of the University of California*. 5: 1-237.

Das, N.G., Sarwar, S.M.M. (1998). Nutritional analysis of two diatoms, *Skeletonema* sp. ve *Chaetoceros* sp. as diet for *Penaeus monodon* in hatchery. *Indian J. Fish.*, 45(2), 193-196.

Debnath, C., Bandyopadhyay, T. K., Bhunia, B., Mishra, U., Narayanasamy, S., Muthuraj, M. (2021). Microalgae: Sustainable resource of carbohydrates in third-generation biofuel production. *Renewable ve Sustainable Energy Reviews* 150, 111464.

Del Mondo A., Smerilli A., Sané E., Sansone C., Brunet C. (2020). Challenging microalgal vitamins for human health. *Del Mondo vd., Microb Cell Fact*, 19:201

Demirel Z., Yilmaz F. F., Ozdemir G., Conk Dalay M. (2018). Influence of Media ve Temperature on the Growth ve the Biological Activities of *Desmodesmus protuberans* (F.E. Fritsch & M.F. Rich) E. Hegewald. *Turkish Journal of Fisheries ve Aquatic Sciences* 18, 1195-1203.

Demirel, Z., Tok, R., İlter, I., Akyl, S., Erdoğan, A., Koç, M., Kaymak Ertekin, F., Conk Dalay, M. (2018). Biyokütle için Mikroalg ve Siyanobakteri' nin Büyük Ölçekli Üretimi. *Aquatic Research*, 1(2),64-76. DOI: 10.3153/AR18008

Dixit, V.; Pandey, V.; Shyam, R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots ve leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Experimental Botany.*, (2001), 52 (358), 1101-1109.

Edge, R.; McGarvey, D.J.; Truscott, T.G. (1997). The Carotenoids as Antioxidants—A Review. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 41, 189–200.

El-Naggar N. E.A., Hussein M. H., Shaaban-Dessuuki S. A., Dalal S. R. (2016). Rapid Screening of Various Factors Influencing Polysaccharides Production by Microchlorophyte Alga, *Chlorella vulgaris*, by Application of Plackett-Burman Design: Characterization of Polysaccharides Using High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Applied Sciences*, 16, 429-437, DOI: 10.3923/jas.2016.429.437.

Er, Ş. (2019). İki farklı herbisit in *Arthrospira platensis* Gomont ve *Chlorella Vulgaris* Beyernick (Bejerinck) alglerinin gelişimi ve antioksidan parametrelerinin üzerine etkisi. *Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, pp. 79.

Fathy S. M.M., Essa A. M.M. (2015). Influence of *Spirulina platensis* exudates on the endocrine ve nervous systems of a mammalian model. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 5(6): 451–457.

FDA,CFR:[https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=73.530#:~:text=Spirulina%20extract%20may%20be%20safely,cereals%20\(excluding%20extruded%20cereals\)%2C](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=73.530#:~:text=Spirulina%20extract%20may%20be%20safely,cereals%20(excluding%20extruded%20cereals)%2C)

Ferdous, U. T.; Yusof, Z. N. B. Medicinal prospects of antioxidants from algal sources in cancer therapy. Front. Pharmacol. (2021), 12, 593116.

Fox, D. (1996). *Spirulina*: Production ve Potential. Pub. By Editions Edisud, La Calade, R.N.7, 13090 Aix-en- Province, FRANCE, 232 p.

Galasso, C.; Corinaldesi, C.; Sansone, C. Carotenoids from marine organisms: Biological functions ve industrial applications. Antioxidants, (2017), 6, 96.

Gao Q. T., Wong Y. S., Tam N. F. Y. 2017. Antioxidant responses of different microalgal species to nonylphenol-induced oxidative stress. J Appl Phycol, 29, 1317–1329, DOI 10.1007/s10811-017-1065-y

Gastineau, R., Hansen, G., Poulin, M., Lemieux, C., Turmel, M., Bardeau, J.-F., Leignel, V., Hardivillier, Y., Morancais, M., Fleurence, J., Gaudin, P., Mlder, V., Cox, E. J., Davidovich, N. A., Davidovich, O.I., Witkowski, A., Kaczmarska, I., Ehrman, J.M., Ons, E. S., Quintana, A. M., Mucko, M., Mordret, S., Sarno, D., Jacquette, B., Falaise, C., Sveno, J., Lindquist, N.L., Kemp Jr., P. S., Eker-Develi E., Konucu, M., Mouget, J-L. (2021). *Haslea silbo*, A Novel Cosmopolitan Species of Blue Diatoms. Biology, 10, 328. <https://doi.org/10.3390/biology10040328>

Gauthier, M.R., Senhorinho, G.N.A., Scott, J.A. (2020). Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. Algal Research 52, 102104.

Gardeva E, R Toshkova, L Yossifova, K Minkova, N Ivanova, L Gigova, (2014). Antitumor activity of C-phycocyanin from *Arthronema africanum* (Cyanophyceae). Braz Arch Biol Technol, 57(5): 675–684.

Geider, R.J., (1987). Light ve temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae ve cyanobacteria: implications for physiology ve growth of phytoplankton. New Phytol 106, 1–34. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04788.x>

Gigova, L., & Marinova, G. (2016). Significance of microalgae: Grounds ve areas. *Genetics ve Plant Physiology* , 6(1–2), 85–100.

Gill, S.S.; Tuteja, N. Reactive oxygen species ve antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* (2010), 48, 909–930.

Goh, S.; Yusoff, M. F.; Loh, S. P. A Comparison of the Antioxidant Properties ve Total Phenolic Content in a Diatom, *Chaetoceros* sp. ve a Green Microalga, *Nannochloropsis* sp. *J. Agric. Sci.* (2010), 2, 1–8.

Goiris K., Muylaert K., Fraeye I., Foubert I., De Brabanter J., De Cooman L., (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic ve carotenoid content. *Journal of Applied Phycology*, 24, 1477–1486.

Guerrini F, Cangini M, Boni L, Trost P, Pistocchi R. (2000). Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (Bacillariophyceae) to nutrient limitation. *J Phycol.* 36: 882–890. doi: 10.1046/j.1529-8817.2000.99070.x

Guiry, M.D., & Guiry, G.M. (2022). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 14 July 2022.

Guiry, M .D. How Many Species Of Algae Are There? *Journal of Phycology*, (2012), 48, 1057–1063.

Gupta, V.K.M.; Shrivastava, R.K.; Singh, N. Status of exogenous antioxidant, total antioxidant capacity ve oxidative stress in SCA patients. *Indian J. Appl. Res.* (2018), 8, 112–118.

Guzman, S.; Gato, A.; Galleja, J.M. Anti-inflammatory, analgesic ve free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* ve *Phaeodactylum tricornutum*. *Phyther. Res.* (2001), 15, 224–230.

Gunes, S., Tamburaci, S., Imamoglu, E., Conk Dalay, M. (2015). Determination of Superoxide Dismutase Activities in Different Cyanobacteria for Scavenging of Reactive Oxygen Species. *TBAP* 5 (1), 25 – 32.

Halliwell B (1994) Free radicals, antioxidants ve human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet* 344:721–724.

Halliwell B (2007) Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 35:1147–1150.

Hajimahmoodi M, Faramarzi MA, Mohammadi N, Soltani N, Oveisi MR, Nafissi-Varcheh N (2010) Evaluation of antioxidant properties ve total phenolic contents of some strains of microalgae. *J Appl Phycol* 22:43–50.

Hanover, L. M.; White, J. S. (1993). Manufacturing, composition, ve applications of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 58 (5), 724S–732S. doi:10.1093/ajcn/58.5.724S.

Hantzidiamantis, P. J., Lappin S. L. (2021). “Physiology, Glucose.” National Center for Biotechnology Information, StatPearls, www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545201/.

Hasle G.R. ve Syvertson E.E., (1997). Marine Diatoms. In: Identifying Marine Phytoplankton (C.R. Tomas, ed.). Academic Press, London, p. 45 -88.

Hemalatha A., Girija K., Parthiban C., Saranya C., Anantharaman P. (2013). Antioxidant properties ve total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* ve green microalgae, *Chlorella marina* ve *Dunaliella salina*. *Advances in Applied Science Research*, 4(5), 151-157.

Hernandez D, Riaño B, Coca M, García-gonzález MC. (2015). Saccharification of carbohydrates in microalgal biomass by physical, chemical ve enzymatic pre-treatments as a previous step for bioethanol production. *Chem Eng J.*, 262: 939–45. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.10.049>.

Hernández-Becerril D. U., Navarro N. R. B, Barón-Campis S. A. C., Moreno-Gutiérrez S. P. (2013). Morphological study of two closely related marine planktonic diatoms: *Belleriochea malleus* ve *Helicotheca tamesis*. *Cryptogamie, Algologie*, 34 (3): 245-254.

Herrero, M.J.L.; Martin-Alvarez, P.J.; Cifuentes, A.; Ibanez, E. Optimization of the extraction of antioxidants from *Dunaliella salina* microalga by pressurized liquids. *J. Agric. Food Chem.*, (2006), 54, 5597–5603.

Holick, C.N.; Michaud, D.S.; Stolzenberg Solomon, R.; Mayne, S.T.; Pietinen, P.; Taylor, P.R.; Albanes, D. Dietary carotenoids, serum beta-carotene, and retinol and risk of lung cancer in the alpha-tocopherol, beta-carotene cohort study. *Am. J. Epidemiol.* (2002), 156, 536–547.

Holt, E. M., Steffen, L. M., Moran, A., Basu, S., Steinberger, J., Ross, J. A., Hong, C. P., & Sinaiko, A. R. (2009). Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(3), 414-421.

Hsu, G. J. (1980). “The correction of oceanographic applications.” *Proc., 17th International Conference of Coastal Engineering, ASCE, Sydney, Australia*, pp.709-724.

Hu, X.; Bidney, D.L.; Yalpani, N.; Duwick, J.P.; Crasta, O.; Folkerts, O.; Lu, G. Overexpression of a gene encoding hydrogen peroxide-generating oxalate oxidase evokes defense responses in sunflower. *Plant Physiol.* (2003), 133, 170–181.

Huang D, Ou B, Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agr Food Chem* 53:1841–1856.

Huang, J.J.; Lin, S.; Xu, W.; Cheung, P.C.K. (2017). Occurrence and Biosynthesis of Carotenoids in Phytoplankton. *Biotechnol. Adv.*, 35, 597–618.

Hultqvist, M.; Olsson, L.A.; Gelderman, K.A.; Holmdahl, R. (2009), The protective role of ROS in autoimmune disease. *Trends Immunol.* 30, 201–208.

Işık O., Hızarcı L., Sayın S., Gökpınar Ş., Durmaz Y., Göksan T. (2006). The Effect of the Environmental Factors on the Vitamin C (Ascorbic Acid), E (Alpha-tocopherol), β -carotene Contents and the Fatty Acid Composition of *Spirulina platensis*. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(3-4): 257–261.

Ishibashi, Y.; Yamaguchi, H.; Yuasa, T.; Iwaya-Inoue, M.; Arima, S.; Zheng, S. H. Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. *J. Plant Physiol.* (2011), 168, 1562–1567.

Ittekkot, V., Brockmann, Michaelis, W., Degens, E.T. 1981. Free and combined carbohydrates during a phytoplankton bloom in the Northern North Sea. *Marine Ecology - Progress Series*, 4, 299-305.

Jaime, L.; Mendiola, J.A.; Herrero, M.; Soler-Rivas, C.; Santoyo, S.; Senorans, F.J. Separation and characterization of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga combining pressurized liquid extraction, TLC ve HPLC-DAD. *J. Sep. Sci.* (2005), 28, 2111–2119.

Janknegt P. J., De Graaff C. M., Van De Poll W. H., Visser R. J. W., Rijstenbil J. W. & Buma A. G. J. (2009). Short-term antioxidative responses of 15 microalgae exposed to excessive irradiance including ultraviolet radiation, *European Journal of Phycology*, 44:4, 525-539, DOI: 10.1080/09670260902943273

Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W., (1997). *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. UNESCO Publishing Paris, pp. 37–84.

Jerez-Martel, I.; García-Poza, S.; Rodríguez-Martel, G.; Rico, M.; Afonso-Olivares, C.; Gómez-Pinchetti, J. L. Phenolic profile ve antioxidant activity of crude extracts from microalgae ve cyanobacteria strains. *Journal of Food Quality*, (2017).

Johnson, J.M., Conforti, F.D. (2003). *Encyclopedia of Food Sciences ve Nutrition* (Second Edition).

Kennedy F., McMin A., Martin A. (2022). Short note: extracellular export ve consumption of glucose in Antarctic sea ice. *Polar Biology*, 45:763–768 <https://doi.org/10.1007/s00300-022-03031-6>

Khan, M.I.; Lee, M.G.; Seo, H.J.; Shin, J.H.; Shin, T.S.; Yoon, Y.H.; Kim, M.Y.; Choi, J.I.; Kim, J.D. Enhancing the feasibility of *Microcystis aeruginosa* as a feedstock for bioethanol production under the influence of various factors. *Biomed. Res. Int.* (2016), 4540826.

Kılıç, A. M. (2014). Maden Ocaklarında Patlatma Dizaynı (A. Ekicibil editör). Türkiye Maden Ocakları, 5. Baskı, Seçkin Matbaası, İstanbul, s.305-312.

Kornienko J.S., Smirnova I.S., Pugovkina N.A., Ivanova J.S., Shilina M.A., Grinchuk T.M., Shatrova A.N., Aksenov N.D., Zenin V.V., Nikolsky N.N., et al. High doses of synthetic antioxidants induce premature senescence in cultivated mesenchymal stem cells. *Sci. Rep.* (2019); 9:1296. doi: 10.1038/s41598-018-37972-y.

Krasnovsky, A.A. Jr. Singlet molecular oxygen in photobiochemical systems: IR phosphorescence studies. *Membr. Cell Biol.* (1998), 12, 665–690.

Krieger-Liszkay, A. Singlet oxygen production in photosynthesis. *J. Exp. Bot.* (2005), 56, 337–346.

Kumar Saha S., Moane S., Murray P. (2013a). Effect of macro- ve micro-nutrient limitation on superoxide dismutase activities ve carotenoid levels in microalga *Dunaliella salina* CCAP 19/18. *Bioresource Technology*, 147, 23–28.

Kumar SR, Hosokawa M, Miyashita K. (2013). Fucoxanthin: a marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Mar Drugs*. 11(12):5130-47. doi: 10.3390/md11125130.

Kumar SR, M Hosokawa, K Miyashita, (2013b). Fucoxanthin: a marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Mar Drugs*, 11: 5130–5147.

Lamb, C.; Dixon, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance”, *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology*, (1997), 48, 251-275.

Laws, A., Bannister, T.T., (1980). Nutrient- ve light-limited growth of *Thalassiosira fluviatilis* in continuous culture, with im plications for phytoplankton growth in the ocean. *Limnol. Oceanogr.* 25, 457—473. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.6.2316>

Lee, S.; Lee, J.B.; Lee, K.W.; Jeon, Y.J. Antioxidant properties of tidal pool microalgae, *Halochlorococcum porphyrae* ve *Oltamannsiellopsis unicellularis* from Jeju Island, Korea. *Algae* (2010), 25, 45–56.

Lei A., Hu Z., Wong Y., Tam N. F. (2006). Antioxidant responses of microalgal species to pyrene. *Journal of Applied Phycology*, 18: 67–78. DOI: 10.1007/s10811-005-9016-4

Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.

López-Hernández J. F., García-Alamilla, P., Palma-Ramírez D., Álvarez-González C. A., Paredes-Rojas J. C., Márquez-Rocha F. J. (2020). Continuous Microalgal Cultivation for Antioxidants Production. *Molecules*, 25, 4171; doi:10.3390/molecules25184171

Lowry O.H., Rosebrough N. J. Farr, A., L. , Randall R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.

Malik, V. S., Hu, F. B. (2015). Fructose ve Cardiometabolic Health: What the Evidence from Sugar-Sweetened Beverages Tells Us. *Journal of the American College of Cardiology*. 66 (14), 1615–1624. doi:10.1016/j.jacc.2015.08.025.

Manivannan, K.; Anantharaman, P.; Balasubramanian, T. Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* (2012), 2, S342–S346.

Mantoura, R.F.C., Llewellyn, C.A., (1983). The rapid determination of algal chlorophyll ve carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta* 151, 297–314. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)80092-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)80092-6).

Mishra A., Jha B. (2011). Antioxidant response of the microalga *Dunaliella salina* under salt stress. *Botanica Marina* 54: 195–199.

Monostori, P.; Wittmann, G.; Karg, E.; Túri, S. Determination of glutathione ve glutathione disulfide in biological samples: An in-depth review. *Journal of Chromatography B*, (2009), 877, 3331–3346.

Moore, T.C. Research experiences in plant physiology. Springer-Verlag, New-York, (1974).

Natrah FM, I.; Yuso_, F.M.; Shari_, M.; Abas, F.; Mariana, N. Screening of Malaysian indigenous microalgae for antioxidant properties and nutritional value. *J. Appl. Phycol.* (2007), 19, 711.

Novoveská L., Ross M. E., Stanley M. S., Pradelles R., Wasiolek V. ve Sassi J.-F. (2019). Microalgal Carotenoids: A Review of Production, Current Markets, Regulations, and Future Direction. *Mar. Drugs*, 17, 640.

Ndhlala ER, Moyo M, Van Staden J (2010) Natural antioxidants: fascinating or mythical biomolecules? *Molecules* 15:6905–6930.

Oakes JM, Eyre BD, Middleburg JJ, Boschker HTS (2010) Composition, production and loss of carbohydrates in subtropical shallow subtidal sandy sediments: rapid processing and long-term retention revealed by C-13-labeling. *Limnol Oceanogr* 55:2126–2138

Op den Camp, R.G.L.; Przybyla, D.; Ochsenbein, C.; Laloi, C.; Kim, C.; Danon, A.; Wagner, D.; Hideg, É.; Göbel, C.; Feussner, I.; et al. Rapid induction of distinct stress responses after the release of singlet oxygen in arabidopsis. *Plant Cell*, (2003), 15, 2320–2332.

Oroian M, Escriche I (2015) Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res Int* 47:10–36.

Pietta P G (2000) Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63(7):1035-1042.

Pokorný J (1991) Natural antioxidants for food use. *Trends Food Sci Tech* 2:223-227.

Porra, R.J.; Thompson, R.A.; Kriedemann, P.E. Determination of accurate extinction coefficients ve simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvent verification of the concentration of chlorophyll standarts by atomic absorption spectroscopy. *Biochem. Biophys. Acta*. (1989), 975, 384-394.

Pouvreau, J.B.; Morancas, M.; Taran, F.; Rosa, P.; Dufossé, L.; Guérard, F.; Pin, S.; Fleurence, J.; Pondaven, P. Antioxidant and free radical scavenging properties of marennine, a blue-green polyphenolic pigment from the diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen responsible for the natural greening of cultured oysters. *J. Agric. Food Chem.* (2008), 56, 6278–6286.

Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, (1999), 269, 337–341.

Pragya N., Pandey K.K., Sahoo P.K., (2013). A review on harvesting, oil extraction ve biofuels production technologies from microalgae, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 24, 159-171,

Quan, L.J.; Zhang, B.; Shi, W.W.; Li, H.Y. Hydrogen peroxide in plants: A versatile molecule of the reactive oxygen species network. *J. Integr. Plant Biol.* (2008), 50, 2–18.

Raja, R., Hemaiswarya, S., Kumar, N.A., Sridhar, S., & Rengasamy, R. (2008). A Perspective on the Biotechnological Potential of Microalgae. *Critical Reviews in Microbiology*, 34, 77–88.

Rao, A.R.; Sarada, R.; Baskaran, V.; Ravishankar, G.A. Antioxidant activity of *Botryococcus braunii* extract elucidated in vitro models. *J. Agric. Food Chem.* (2006), 54, 4593–4599.

Jordan B. R., He J., Chow W. S., Anderson M. (1992). Changes in mRNA levels ve polypeptide subunits of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in response to supplementary ultraviolet-B radiation. *Plant, Cell ve Environment*, 15, 91-98.

Ricard M., (1987). *Atlas du Phytoplancton Marin*. Vol. II: Diatomophycées. Paris, Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, 297 pp.

Rivaro P, Ardini F, Grotti M, Vivado D, Salis A, Damonte G (2021) Detection of carbohydrates in sea ice extracellular polymeric substances via solid-phase extraction ve HPLC-ESI-MS/MS. *Mar Chem* 228:103911.

Robatzek S, Somssich IE (2001) A new member of the Arabidopsis WRKY transcription factor family, AtWRKY6, is associated with both senescence- and defence-related processes. *Plant J* 28:123–133

Rong, T. Review, Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, (2010), 2, 1231–1246.

Roy U. K., Nielsen B. V., Milledge J. J. (2021). Tuning *Dunaliella tertiolecta* for Enhanced Antioxidant Production by Modification of Culture Conditions. *Marine Biotechnology*, 23, 482–500, <https://doi.org/10.1007/s10126-021-10041-8>

Running J. A., Huss R. J., Olson P. T. (1984). Heterotrophic production of ascorbic acid by microalgae. *Journal of Applied Phycology* 6, 99-104.

Safafar, H.; Wagenen, J. van; Møller, P.; Jacobsen, C. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Marine Drugs*, (2015), 13, 7339– 7356.

Sairam, R. K., Saxena, D. C. Oxidative stress ve antioxidants in wheat cultivars: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy ve Crop Science*, (2000), 184, 55-61.

Sandalio, L.M.; Fernandez, V.M.; Ruperez, F. L.; Del Rio, L. A. Superoxide free radicals are produced in glyoxysomes. *Plant Physiol.* (1988), 87, 1–4.

Sansone, C., Brunet, C., (2019). Promises ve Challenges of Microalgal Antioxidant Production. *Antioxidants*, 8, 199; doi:10.3390/antiox8070199.

Santiago-Morales I. S., Trujillo-Valle L., Márquez-Rocha F. J., López Hernández J. F. (2018). Tocopherols, Phycocyanin and Superoxide Dismutase from Microalgae: as Potential Food Antioxidants. *Applied Food Biotechnology*, 5 (1): 19-27. <http://dx.doi.org/10.22037/afb.v5i1.17884>

Saranya C., Hemalatha A., Parthiban C., ve Anantharaman P. (2014). Evaluation of Antioxidant Properties, Total Phenolic ve Carotenoid Content of *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina* ve *Isochrysis galbana*. Int.J.Curr. Microbiol. App. Sci., 3(8), 365-377.

Saed-Moucheshi, A.; Shekoofa, A.; Pessarakli, M. Reactive Oxygen Species (ROS) Generation ve Detoxifying in Plants. J. Plant.Nutr. (2014), 37, 1573–1585.

Sathyendranath, S., Stuart, V., Nair, A., Oka, K., Nakane, T., Bouman, H., Forget, M.H., Maass, H., Platt, T., (2009). Carbon- to-chlorophyll ratio ve growth rate of phytoplankton in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 383, 73—84. <https://doi.org/10.3354/meps07998>

Scalbert, A.; Manach, C.; Morden, C.; Remesy, C.; Jimenez, L. Dietary polyphenols ve prevention of diseases. Crit. Rev. Food Sci. Nutri. (2005), 45, 287–306.

Shalaby EA (2015) Algae as a natural source of antioxidant active compounds. In: Dubey NK (ed) Plants as a source of natural antioxidants. CAB International, United Kingdom, pp. 129–147.

Shalata, A., Mittova, V., Guy, M. and Tal, M. Response of cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennelli* to salt dependent oxidative stress: the root antioxidative system. Physiologia Plantarum, (2001), 112, 487-494.

Shebis, Y.; Iluz, D.; Kinel-Tahan, Y.; Dubinsky, Z.; Yehoshua, Y. Natural Antioxidants: Function ve Sources. Food Nutr. Sci. (2013), 4, 643–649.

Shivembe, A.; Ojinnaka, D. Determination of vitamin C and total phenolic in fresh and freeze dried blueberries and the antioxidant capacity of their extracts. Integrative Food, Nutrition ve Metabolism, (2017), 4(6), 1-5 doi: 10.15761/IFNM.1000197.

Sielewiesiuk, J. Why there are photodamages to photosystem II at low light intensities. Acta Physiol. Plant. (2002), 24, 399–406.

Silva S, Ferreira M, Oliveira AS, Magalhães C, Sousa ME, Pinto M, Sousa Lobo JM, Almeida IF. Evolution of the use of antioxidants in anti-ageing cosmetics. Int J Cosmet Sci. (2019) Aug;41(4):378-386. doi: 10.1111/ics.12551. PMID: 31220359.

Smerilli A, Orefice I, Corato F, Olea AG, Ruban AV, Brunet C. (2017). Photoprotective and antioxidant responses to light spectrum ve intensity variations in the coastal diatom *Skeletonema marinoi*. Environ Microbiol. 19, 611-627. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13545> .

Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. Journal of Bioscience ve Bioengineering, 101, 87–96. DOI: 10.1263/jbb.101.87

Staats N, Stal LJ, Mur LR (2000) Oxygenic photosynthesis as driving process in exopolysaccharide production of benthic diatoms. *Mar Ecol Prog Ser* 193:261–269

Suarez Ruiz C. A., Baca S. Z., van den Broek L. A.M., van den Berg C., Wijffels R. H., Eppink M. H.M. (2020). Selective fractionation of free glucose ve starch from microalgae using aqueous two-phase systems. *Algal Research* 46, 101801.

Takaichi, S. Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses ve Functions. *Mar. Drugs* (2011), 9, 1101–1118.

Templeton, D. W., Quinn, M., Van Wyche, S., Hyman, D., Laurens, L.M.L. (2012). Separation ve quantification of microalgal carbohydrates. *Journal of Chromatography A*, 1270, 225– 234.

Tükel, S. (2016). Biokimya. Seçkin Matbaası, Ankara, Türkiye.

Underwood GJC, Kromkamp J (1999) Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Adv Ecol Res* 29:93–153

Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. Oxidative stress ve some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants, protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, (2000), 151, 59–66.

Wu, L.; Ho, J.A.; Shieh, M.; Lu, I. Antioxidant ve antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts. *J. Agric. Food Chem.* (2005), 53, 4207–4212.

Wu, Q.; Liu, L.; Miron, A.; Klímová, B.; Wan, D.; Kuca, K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Arch Toxicol* (2016), 90, 1817–1840. DOI 10.1007/s00204-016-1744-5.

Yusuf N. S., Yeong Y. S., Zakeri H. A., Abdul Wahid M. E., Ab Ghafar S. N., Yusuf N. (2021). Photoperiod influenced the growth ve antioxidative responses of *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana*, ve *Tetraselmis chuii*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 11(04), 125-134.

Yücel, N., Uysal, Z., Tuğrul, S., (2017). Variability in phytoplankton pigment composition in Mersin Bay. *Turkish J. Aquat. Sci.* 49–70 <https://doi.org/10.18864/tjas201705>.

Yüksel Ç., Şahin S., Çakmak T. (2021). Effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in *Chlamydomonas reinhardtii* ve its antioxidant activity. *GIDA*, 46 (4) 903-913. doi: 10.15237/gida.GD20143

Zarepour M, Kaspari K, Stagge S, Rethmeier R, Mendel RR, Bittner F (2010). Xanthine dehydrogenase AtXDH1 from *Arabidopsis thaliana* is a potent producer of superoxide anions via its NADH oxidase activity. *Plant Mol Biol* 72: 301– 310.

Zhang J, Z Sun, P Sun, T Chen, F Chen, (2014). Microalgal carotenoids: beneficial effects and potential in human health. *Food Funct*, 5: 413–425.

Zheng, Y., Mo, L., Zhang, W. *et al.* Phycocyanin fluorescent probe from *Arthrospira platensis*: preparation and application in LED-CCD fluorescence density strip qualitative detection system. *J Appl Phycol* **31**, 1107–1115 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1631-y>

