



**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ERZİNCAN EKŞİSU MESİRE ALANINDAKİ SUCUL
HABİTATLARDAN İZOLE EDİLEN BAZI ALGLERİN
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Esra AKSOY OKTAY

Danışman: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

**FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Mart 2023
Her Hakkı Saklıdır.**

**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ERZİNCAN EKŞİSU MESİRE ALANINDAKİ SUCUL HABİTATLARDAN
İZOLE EDİLEN BAZI ALGLERİN ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Esra AKSOY OKTAY

Danışman: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

**FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Mart 2023
Her Hakkı Saklıdır.**

Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Erzincan Ekşisu Mesire Alanındaki Sucul Habitatlardan İzole Edilen Bazı Alglerin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi” isimli “Yüksek Lisans” tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiğı gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 07/02/2023

Esra AKSOY OKTAY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ERZİNCAN EKŞİSU MESİRE ALANINDAKİ SUCUL HABİTATLARDAN İZOLE EDİLEN BAZI ALGLERİN ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra AKSOY OKTAY

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmsötik Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

Amaç: Erzincan Ekşisu Mesire Alanındaki sucul ortamlardan izole edilen bazı alglerin antioksidan özellikleri ile toplam fenolik ve flavonoid miktarlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal Metot: Mekanik izolasyon yöntemiyle algler izole edilmiş ve DPPH, FRAP yöntemleriyle antioksidan özelliklerine, toplam flavonoid ve fenolik bileşiklerine bakılmıştır.

Bulgular: *Mougeotia parvula*, *Anabeana fertilissima*, *Spirogyra micropunctata*, *S. pratensis* ve *S. mirabilis*'in metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı, flavanoid miktarı, (FRAP) indirgeme gücü aktivitesi ve (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesine test edilmiş, sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya konu olan alglerin toplam fenolik madde miktarları 6.61 ile 25.05 mg GAE/g ekstre aralığında tespit edilmiş, toplam flavanoid miktarları ise 2.95-14.42 mg QE/g ekstre aralığında bulunmuştur. İzole edilen alg türlerinden, fenolik madde ve flavonoid bakımından en zengini *S. mirabilis* olmuştur. DPPH radikali giderme aktivitesinde de en yüksek aktivite yine *S. mirabilis*'te görülmüştür. En düşük aktivite ise *M. parvula* ve *A. fertilissima*'da gözlenmiştir. FRAP testinde ise en yüksek absorbans değer, 47.14 mg TE/g ekstre oranı ile *S. mirabilis*'te, en düşük değer ise 22.10 mg TE/g ekstre olarak *M. parvula*'da kaydedilmiştir.

Sonuç: Antioksidan testler sonucunda, çalışılan alglerden bazılarında iyi derecede antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüş, total fenolik ve flavonoid miktarlarında anlamlı sonuçlar kaydedilmiştir. Bu açıdan, çalışmaya konu olan alglerde tespit edilen farmasötik özellikler, detaylı bileşik analizleriyle, ileride yapılacak çalışmalara kaynak olabilecek potansiyelidir.

2023, 35 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Anabeana fertilissima*, Antioksidan, Fenolik madde, *Mougeotia parvula*, Sekonder metabolit, *Spirogyra micropunctata*, *Spirogyra mirabilis*, *Spirogyra pratensis*

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME ALGAE ISOLATED FROM AQUATIC HABITATS IN ERZİNCAN EKŞİSU RECREATION AREA

Esra AKSOY OKTAY

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmaceutical Sciences

Supervisor: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

Aim: It was aimed to determine the antioxidant properties and total phenolic and flavonoid contents of some algae isolated from aquatic environments in the Erzincan Ekşisu Recreation Area.

Material and Methods: Algae were isolated by mechanical isolation method and their antioxidant properties, total flavonoid and phenolic compounds were examined by DPPH, FRAP, ABTS methods.

Results: The total phenolic content, flavonoid content, (FRAP) reducing power activity and (DPPH) free radical scavenging activity of methanol extracts of *Mougeotia parvula*, *Anabeana fertilissima*, *Spirogyra micropunctata*, *S. pratensis* and *S. mirabilis* were examined and the results were evaluated comparatively. The total phenolic content of the algae in the study was found to be between 6.61 and 25.05 mgGAE/g extract, and the total flavonoid amounts were found to be in the range of 2.95-14.42 mg QE/g extract. Among the isolated algae species, *S. mirabilis* was the richest in terms of phenolic substances and flavonoids. The highest activity in DPPH radical scavenging activity was also observed in *S. mirabilis*. The lowest activity was observed in *M. parvula* and *A. fertilissima*. In the FRAP test, the highest absorbance value was recorded in *S. mirabilis* with 47.14mg TE/g extract, and the lowest value was recorded in *M. parvula* with 22.10.

Conclusion: As a result of antioxidant tests, good antioxidant properties were observed in some of the studied algae, and significant results were recorded in total phenolic and flavonoid amounts. In this respect, the pharmaceutical properties detected in the algae that are the subject of the study have the potential to be a source for future studies with detailed compound analyzes.

2023, 35 Pages

Keywords: *Anabeana fertilissima*, Antioxidant, *Mougeotia parvula*, Phenolic substance, Secondary metabolite, *Spirogyra micropunctata*, *Spirogyra mirabilis*, *Spirogyra pratensis*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Kabul ve Onay	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Bilimsel Etiğe Uygunluk	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Alglerin Genel Özellikleri.....	9
2.2. Antioksidanlar	10
2.3. Fenolik bileşikler.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Çalışma Alanı ve Alglerin İzolasyonu	13
3.2. Alglerin Teşhis ve Tayinleri	13
3.3. Alglerin Ekstraksiyonu	14
3.4. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	14
3.5. Toplam Flavanoid İçeriğinin Belirlenmesi	15
3.6. FRAP Testi.....	16
3.7. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	17
4. BULGULAR	18

4.1. İzole Edilen Algler	18
4.2. Alg Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerikleri.....	23
4.3. Alg Ekstraktlarının Toplam Flavanoid İçerikleri	25
4.4. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi.....	26
4.5. FRAP İndirgeme Aktivitesi	27
4.6. Toplam Flavonoid, Fenolik Bileşik, DPPH ve FRAP Oranları	28
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Antioksidan Bileşiklerin Sınıflandırılması.....	11
Şekil 3.1. Çalışma Alanının Haritası (a, Google Earth) ve Alg Habitatları (b,c,d).	13
Şekil 3.2. Ekstraksiyon İşlemine Ait Fotoğraflar.	14
Şekil 3.3. Toplam Fenolik Madde Tayininde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi.....	15
Şekil 3.4. Toplam Flavanoid Miktarı Tayininde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi	16
Şekil 3.5. FRAP İndirgenme Aktivitesinde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi.	16
Şekil 3.6. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi.....	17
Şekil 4.1. <i>Mougeotia parvula</i>	19
Şekil 4.2. <i>Anabaena fertilissima</i>	20
Şekil 4.3. <i>Spirogyra micropunctata</i>	21
Şekil 4.4. <i>Spirogyra pratensis</i>	22
Şekil 4.5. <i>Spirogyra mirabilis</i>	23
Şekil 4.6. Alglerde Bulunan Toplam Fenolik Miktarları.....	25
Şekil 4.7. Alglerde Bulunan Toplam Flavonoid Miktarları.....	26
Şekil 4.8. Alg Örneklerinin Dpph Radikali Giderme Aktiviteleri.....	26
Şekil 4.9. Alg Ekstaktlarına Ait FRAP İndirgeme Aktivite Grafiği.....	28

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Çalışılan Algler İçin Kullanılan Kod Ve Kısaltmalar	24
Tablo 4.2. Toplam Fenolik Miktarları, Ortalama ve Standart Sapma Oranları	24
Tablo 4.3. Toplam Flavonoid Miktarları, Ortalama Ve Standart Sapma Oranları	25
Tablo 4.4. Örneklerin DPPH IC ₅₀ Konsantrasyonları	27
Tablo 4.5. Alg Ekstaktlarının FRAP İndirgeme Aktivite Sonuçları	27
Tablo 4.6. Toplam Flavaonid, Fenolik Bileşik, DPPH ve FRAP oranları	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% Yüzde

Kısaltmalar

BHA	Bütillenmiş Hidroksil Anisol
DPPH	1,1-Difenil-2-Pikril-Hidrazil
FRAP	Demir İyon İndirgeyici Antioksidan Gücü Yöntemi
GAE	Gallik Asit Ekivalanı
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KN1	<i>Mougeotia parvula</i> Numune 1
KN2	<i>Anabaena fertilissima</i> Numune 2
KN3	<i>Spirogyra micropunctata</i> Numune 3
KN4	<i>Spirogyra pratensis</i> Numune 4
KN5	<i>Spirogyra mirabilis</i> Numune 5
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
QE	Quercetin Ekivalanı

1. GİRİŞ

Yeryüzünde ortaya çıkan ilk hayat formlarından olan algler, bütün sucul habitatlarda bulunmaktadır. Tatlısularda yaşayan algler, lotik (akarsu) ve lentik (durgun su) ekosistemlerde ve buralardaki çeşitli habitatlarda yaşamaktadır (Altuner ve ark., 2002).

Tatlısuların pelajik ortamlarında yaşayan algler, genellikle mikroskobiktir. Makroalgler ise daha ziyade bentik habitatlarda epilitik ve epifitikte yaygın olarak bulunmaktadır (Round, 1984).

Son yıllarda alglerin farmasötik özelliklerine dünyada artan bir ilgi vardır. Bu hayat formlarından elde edilen maddeler, farmasötik bilimlerde incelenmekte ve tıp, eczacılık, tarım ve gıda sektörlerinde değerlendirilmektedir.

Geçtiğimiz yirmi yılda alglerden elde edilen bu moleküllerin antibiyotik, antiviral, antikanser, antioksidan, antibakteriyal, antiinflamatuvar etkilerinin yanı sıra hipokolestrolemik, enzim inhibisyonu ve diğer bazı farmakolojik etkileri ortaya çıkmıştır. Bu doğal ürünler sadece ilaç hammaddesi olarak değil, sentetik moleküllerin yapımında yapısal birer model olarak da görev almaktadırlar (El-Sheekh ve ark., 2006; Güven ve ark., 2010).

Kaba ve Çağlak (2006), deniz alglerinin insan beslenmesinde kullanılması isimli araştırmalarında gelişen dünyamızda hızla çoğalan nüfusun beslenme sorununu ele alarak denizin önemli canlı kaynaklarından biri olan alglerin bu ihtiyacı karşılamada etkili olduğuna dair bilgiler sunulmuştur.

Alglerden besin, tarım, tıp, eczacılık, kozmetik ve değişik endüstri dallarında faydalandığını ifade etmişlerdir. Ayrıca alglerden agar-agar, alginat ve carragean gibi önemli ekstraksiyon ürünleri elde edilmekte, doğrudan beslenme amacıyla kullanılmakta olduğunu belirtmişlerdir (Kaba ve Çağlak, 2006).

Alkhalaf (2021), Kızıldeniz sahilindeki tıbbi özelliğe sahip alglerle ilgili yaptığı çalışmada, Suudi Arabistan Cidde'nin Güneydoğu sahilinden toplanan kırmızı alg türü *Chondrus crispus* (MEC)'un metanol özütü; kimyasal bileşimi, antioksidan, anti-enflamatuar ve sitotoksik özellikleri açısından hazırlanmış ve analiz edilmiştir. HPLC analizi, flavonoidlerin MEC'nin baskın bileşenleri olduğunu ve ardından fenoller ve tanenlerin bulunduğunu ortaya çıkarmıştır.

Fenoller arasında, kateşin, gallik ve p- kumarik asitlerin MEC'nin ana bileşenleri olduğu bulunmuştur. MEC 200'de mg/mL konsantrasyonu, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat (DPPH) ve 2,2 dahil olmak üzere serbest radikal düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. 0- azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve önemli toplam antioksidan kapasite (TAC) sergilemiştir. MEC ayrıca anti-enflamatuar potansiyel göstererek sığır serum albümininin (BSA) denatürasyonunu önemli ölçüde inhibe etmiştir.

Toplu olarak, veriler flavonoidlerin, fenollerin ve tanenlerin kırmızı alglerin *Chondrus crispus* türlerinin ana kimyasal bileşenleri olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bu türün metanolik özütünün, birçok insan kanser hücre dizisinde önemli antioksidan özellikler sergilediği bulunmuştur. Bu nedenle, Kızıldeniz kıyılarında yaygın olarak bulunan kırmızı algler tıbbi açıdan değerli bulunmuştur.

Pabuçcu ve Demiriz Yücer (2018), *Phormidium* türlerinin tıbbi özelliklerini araştırmıştır. Siyanobakteriler, içermiş oldukları yüksek düzeyde protein, vitamin, mineral, yağ asitleri ve pigmentler nedeniyle son zamanlarda üzerinde en fazla çalışılan organizma gruplarından biri olmuştur. Bu organizmalar, ilaç hammaddesi olabilen temel bileşenleri içerdikleri için, medikal çalışmalarda önemli konumdadır.

Bu çalışmada, *Phormidium* türlerinin antioksidan, antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyal, özellikleri ve bazı farmakolojik etkileri ortaya konulmuş ve onların tıbbi özellikleri konusunda yapılan araştırmalar tartışılmıştır.

Yapılan antioksidan aktivite çalışmaları incelendiğinde *Phormidium* türlerinin iyi derecede antioksidan etki gösterdiği ve bu etkiden fikosiyaninin sorumlu olabileceği belirlenmiştir. Bu sonuçlar *Phormidium* türlerinin doğal bir antioksidan besin

olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Pabuçcu ve ark. (2012) yaptığı çalışmalarda *Spirogyra ellipsospora*, *S. varians* ve *Vaucheria geminata*'nın antioksidan özellikleri çalışılmış, serbest radikalleri temizleme özelliğinde oldukları gözlenmiştir.

Çakır ve Arıca (2017) çalışmasında, yaşlanma ve alglerin anti-gerontolojik etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın amacı, alglerin zengin antioksidan içerikleri nedeniyle gelecekteki anti-gerontolojik potansiyellerine dikkat çekmektir.

Bu amaç doğrultusunda antioksidanların sistemdeki yetersizlikleri yaşlanmaya neden olduğu belirtilmiş, serbest radikallerin, tek sayıdaki (eşlenmemiş) elektron sayısına sahip atomlar veya atom grupları olarak hücredeki solunum sırasında oksijen ve bazı moleküller ile etkileşime girdiğinden dolayı oluşabildiği ifade edilmiştir.

Bu şekilde domino etkisi yaparak, zincirleme reaksiyonlarla özellikle DNA'ya zarar verebileceği belirtilmiştir. Hasarların tamir edilemeyip birikmesi, kanser gibi hastalıklara neden olur ve yaşlanmayı hızlandırır.

Antioksidanlar kanser, yaşlanma ve çeşitli hastalıkların önlenmesiyle yakından ilgilidir. Bazı alglerin kıymetli antioksidanlar içerdiği bilinmektedir ve antioksidanlarca zengin bu alglerin anti-gerontolojik rolü önemli bir konudur. Diyetle özellikle alglerden elde edilen antioksidanların eklenmesi ile bazı model hayvan türlerinde ömür uzunluğu ile ilgili pozitif sonuçlar alındığı ifade edilmiştir (Arıca, 2017).

Nainangu ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmada, bir tatlı su kaynağından izole edilen filamentli siyanobakteri türlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve toksisite potansiyelini değerlendirmişlerdir.

Test edilen iki siyanobakteri türünün metanol-kloroform özleri *Oscillatoria sp.* SSCM01, diğerlerinden daha yüksek bir antibakteriyel aktivite sergilemiştir. Özellikle *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, ve *Candida albicans* 125'te µg/mL konsantrasyonda daha etkili olmuştur. Bu türlerin antioksidan aktivitesinde, *Oscillatoria sp.* DPPH testinde etkili olmuştur.

İki siyanobakteri türünden elde edilen ekstraktlar, önemli ölçüde karides larvalarına (*Artemia salina*) karşı aktivite de göstermiştir. Aktif türler, daha sonra gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiş, hekzadekanoik asit (%66.3), 1, 2-benzen dikarboksilik asit ve dibutil ftalat gibi biyoaktif bileşikler bulunmuştur.

Gökpınar ve ark. (2006) bazı alglerle yaptığı çalışmada, antioksidanların insan vücudu için faydalarından bahsederek önemi vurgulanmış; serbest radikallerin bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara yol açabilecekleri ve erken yaşlanmaya neden olacakları ifade edilmiştir. Antioksidanlar yardımıyla hücre koruyucu tedavi, dejeneratif hastalıklardan korunma sağlanabileceği belirtilmiştir.

Bazı mikro alg hücrelerinin antioksidan özelliklere sahip yararlı pek çok metabolitin önemli bir kaynağı olduğu vurgulanmıştır.

Siyanobakteriler ve kırmızı alglerden elde edilen fikobiliproteinler, anti-kanser ajanlar, *Chlorella* ve *Dunaliella*'dan elde edilen beta-karoten, diatome'lerden elde edilen ksantofiller ve PUFA'lar (EPA, DHA, ARA, LA), *Haematococcus*'dan elde edilen astaksantin gibi kimyasalların, metabolizma üzerinde güçlü bir antioksidan etkiye sahip olması ve insan sağlığına olumlu etkileri, bu ürünlerin değerini arttırdığına vurgu yapılmıştır.

Çalışmada sonuç olarak, serbest radikallerle insan vücudunda meydana gelen zararlı etkiler değerlendirilmiş, bu etkileri önleyen antioksidanların özellikle algal antioksidanlar olduğu ifade edilmiştir.

Heo ve ark. (2006), Jeju Adası litoral bölgesindeki kırmızı alglerin antioksidan aktivitesini değerlendirmiştir. Süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve DPPH serbest radikal temizleme deneyleri kullanılmıştır. Çalışılan türler arasında, *Gracilaria verrucosa*'nın 20 °C'deki metanolik özütü (20ME, % 96.85), *G. textorii* 20° C'de sulu özütü (20AE, % 88.01), *Grateloupia filicina* (% 85.35) ve *Polysiphonia japonica* metanolik özütleri (% 94.92) en yüksek süpürücü etkiyi sergilemiştir. *P. japonica* (20ME ve 70ME), DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi ve buna neden olan polifenolik bileşikler açısından önemli içeriğe sahip

olduğu ifade edilmiştir.

Gauthier ve ark. (2020) yaptığı çalışmada, stres koşulları altında bekletilen mikroalgler tarafından üretilen antioksidan bileşiklerin, potansiyel doğal sağlık ürünleri olarak ticari açıdan ilgi çektiği ifade edilmiştir. Özellikle, asidite, metaller, ultraviyole radyasyon ve besin kısıtlamalarının neden olduğu oksidatif stres, birçok yeşil ve mavi-yeşil mikro alg türünde antioksidan üretimini tetikleyeceği vurgulanmıştır.

Yapılan çalışmada, alglere uygulanan stres mekanizmalarının antioksidan bileşiklerini artırdığı tartışılmaktadır. Her mikroalgal türü, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlarda bir artış veya karotenler gibi enzimatik olmayan antioksidanlarda bir artış sağlayarak, her strese farklı tepki verir. Ksantofiller ve flavonoidler gibi spesifik antioksidan bileşiklerin üretimi için bu stres yanıtlarından yararlanma potansiyelinin var olduğunu ifade edilmiştir.

Hazar Gölü (Elazığ)'nden toplanan *C. fracta* (Müller ex Vahl) Kützinger alg türü kuru ekstraktının serbest radikal süpürme (DPPH) ve anti-mikrobiyal aktivitelerinin incelendiği çalışmada ayrıca, alg fito-kimyasallarından toplam fenolik madde miktarı ve ekstraksiyon verimi de değerlendirilmiştir.

Gölden izole edildikten sonra toz haline getirilen *C. fracta*'nın %80 metanol konsantrasyonunun, en yüksek verimlilik yüzdesine %12.32 ulaştığını tespit edilmiştir.

En yüksek toplam fenolik madde miktarı 4 mg/ml konsantrasyonunda sırasıyla 8.653 ve 9.0952 GAE mg/g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün ekstratların tüm konsantrasyonları, antioksidan aktivite göstermiştir.

En yüksek DPPH süpürme aktivite değeri, metanolün 4 mg/ml konsantrasyonunda %54.54 oranında görülürken, aynı konsantrasyonla etanolde %50.75 oranında görülmüştür. Aynı konsantrasyonla çalışılan metanol ve etanol ekstratlarının DPPH süpürme gücü karşılaştırıldığında metanolün etanol'e göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Bu sonuçlar *C. fracta*'nın metanolik ekstraktının bir biyolojik antioksidan ajan olarak gıda ve ilaç endüstrisi için değerli bir kaynak olarak düşünülebileceğini göstermektedir (Durğun ve Öbek, 2019).

Fabrowska ve ark. (2016) tatlı su algleri ile ilgili çalışmada, Polonya'daki nehir, göl ve göletler ele alınmış, bu gibi su rezervuarlarının zengin bir tatlı su makroalg kaynağı olacağı ifade edilerek, bu alanlardan alınan *Cladophora glomerata*, *Ulva flexuosa*, *Chara fragilis*'ten karotenoidleri ve fenolik bileşikleri çıkarmak için 'süper kritik bir sıvı ekstraksiyon' işlemi (SFE) uygulanmıştır.

SFE işleminde yer alan parametrelerin optimizasyonu (yardımcı çözücü olarak sıcaklık, basınç ve % etanol), 3 seviyeli faktöryel deneysel tasarım kullanılarak gerçekleştirilmiş ve aynı anda (ekstraksiyon verimi, toplam karotenoidler, toplam fenoller ve antioksidan aktivite gibi) farklı tepkileri değerlendirilmiştir.

Bunların içinde fukoksantin oranlarının daha yüksek olduğu ve daha iyi aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (0.944 mmol troloks eşdeğeri g özütü). Kimyasal karakterizasyonu, HPLC-DAD-MS ile gerçekleştirilen farklı özler ve çeşitli karotenoidler ilk kez tanımlanmıştır. Bu nedenle, SFE kullanılarak incelenen alglerden elde edilen özütlerin kozmetik, gıda ve ilaç endüstrisinde potansiyel olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir.

Spirogyra, yaygın olarak tüm dünyadaki tatlı su alanlarında bulunan alglerdendir. Bu genusa ait alglerde, bazı tıbbi özellikler bildirilmiştir. Örneğin, *Spirogyra singularis*'in biyolojik aktiviteleri Nabavi ve ark. (2013) tarafından, *in vitro* olarak araştırılmış ve ekstraktların farklı antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

IC₅₀ DPPH 4.71 ± 0.11 µg ml⁻¹ olarak bulunmuştur. Ekstraktlarda ayrıca iyi bir antihemolitik aktivite gözlenmiştir. Ekstredeki toplam fenolik içerik miktarı gallik asit eşdeğerleri, toplam flavonoid içeriği kuersetin eşdeğerleri hesaplanmıştır. Biyolojik aktiviteleri kısmen, fenolik ve flavonoid içeriklerinin varlığına bağlanmıştır.

Makroalgler hem farmasötik hem de nutrasötik uygulamalar için antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal aktivitelerinden kaynaklanan yeni ve sürdürülebilir

biyoaktif bileşik kaynakları olarak değerlendirilmektedir. Lezcano ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı çalışmada, Arjantin'in Napostá Deresi'nden izole edilen *Cladophora surera*'nın metanolik ekstraktlarının antitümöral ve antioksidan aktivitelerini *in vitro* olarak incelenmiştir.

Antioksidan aktivite DPPH yöntemi ve polifenol içeriği Folin-Ciocalteu fenol reaktifi kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada, antitümöral aktivite, proliferasyon, migrasyon ve hücre yapışması ölçülerek insan göğüs adenokarsinom hücre hattı MCF-7 üzerinde değerlendirilmiştir. Alg özütü, $1.62 \pm 0.17 \mu\text{g GAE mg}^{-1}$ toplam fenol içeriği göstermiş, kuru alg ve DPPH süpürme aktivitesi $25.03 \pm 1.99\%$ (10 mg) olmuştur.

Alg ekstraktı (AE)'nin doza bağlı bir şekilde ($1-100 \mu\text{g mL}^{-1}$) proliferasyonu önemli ölçüde inhibe ettiğini ve kullanılan en yüksek dozdan daha etkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, kolorimetrik MTS testi, yalnızca $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ AE'de hücre canlılığında önemli bir azalma göstermiştir. Yara iyileştirme testini kullanarak, AE'nin hücre göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir.

Buna göre çalışmada, *C. surera*'nın insan meme kanseri hücrelerinde metastaza karışan süreçlerin düzenlenmesi üzerindeki etkileri konusunda antitümöral tedavi olarak kullanılabilecek değerli biyoaktif bileşiklerin bir kaynağı olabildiği vurgulanmıştır.

Aktar ve Cebe (2010), alglerin eczacılıktaki önemini araştırmış ve onların özellikle eczacılık açısından yeni farmasötik ajanlar sahip olduğunu, bu ajanların geliştirilmesinde önem taşıyan yüksek biyolojik aktiviteli sekonder metabolitlere sahip oldukları ifade edilmiştir.

Pabuçcu ve ark. (2012) *Spirogyra ellipsospora* Transeau ile yapılan antioksidan özellik araştırmasında, bu türün DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi bir antioksidan ajan olabileceği vurgulanmıştır.

Yine Pabuçcu ve ark. (2012) *Spirogyra varians* (Hassal) Kützing ile yapılan çalışmada, bu türde fenolik bileşik bakılmış, ayrıca FRAP, DPPH yöntemleri uygulanarak antioksidan testlere tabi tutulmuştur.

Yapılan antioksidan testlerde *S. varians*'ın yüksek oranda antioksidan özelliğe sahip olduğu tespit edilmiş ve bu algin eczacılık alanında kullanımının önemine vurgu yapılmıştır.

Vuran ve arkadaşlarının 2012 yılında *Vaucheria geminata* (Vaucher) DC üzerinde yaptığı antioksidan analizlerde, DPPH ve ABTS yöntemleri uygulanmış, aynı zamanda toplam fenolik madde içeriğine de bakılmıştır.

Yapılan çalışmada, *V. geminata*'nın iyi bir antioksidan ve fenolik potansiyele sahip olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada ise, Erzincan Ekşisu Mesire Alanındaki bazı sucul ortamlardan izole edilen beş alg türünün antioksidan özellikleri ile toplam flavonoid ve fenolik bileşiklerinin tespiti amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alglerin Genel Özellikleri

Algler, etimolojik açıdan Latince alga; yani ‘su yosunu’ kelimesinden gelmektedir. Bu organizmalar, yeryüzündeki tüm sucul ortamlarda yaşarlar ve fotosentez yaparlar. Algler, prokaryotik ve ökaryotik özelliklerde olabilirler. *Chroococcus* gibi tek hücreli formlardan, *Fucus* gibi çok hücreli ve makroskopik alglere kadar değişen büyüklüklerde bulunurlar (Guiry, 2022).

Algler, diğer bitkisel organizmalardan farklı olarak onlarda bulunan plastitlere ilaveten biliproteinler olarak bilinen fikobilinleri de içerirler (Altuner ve ark., 2002). Alglerde, bitkilerde bulunan kök, gövde ve yaprak şeklindeki yapıların yerine ‘tallus’ adı verilen organlar bulunur. Alglerin üremeleri, eşeyli ve eşeysiz olarak görülmektedir. Prokaryotik alglerde yalnızca eşeysiz üreme görülür. Algler, sucul ortamlardaki primer prodüktörlerdir. Sucul ekosistemler için gerekli besin üretiminde ve havadaki oksijen oranlarına katkıda görev alırlar. Bazı *Cyanobacteria* türleri de havadaki azot fiksasyonuna yardımcı olurlar.

Algler, farklı dönemlerde farklı sınıflandırma sistemlerinde taksonomik kategorizasyona tabi tutulmuşlardır. Chapman, Prescott, Round, Whittaker gibi otör taksonomistler algleri farklı bölümlerde kategorize etmişlerdir (Altuner vd, 2003). Günümüzde algler genel olarak, prokaryotik ve ökaryotik olmak üzere iki üst âleme dâhil edilmektedir.

Algaebase veri tabanına göre algler, iki Empire (Üst Âlem) içinde dâhil edilmişlerdir. Bunlar, temel olarak aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

1. Empire (Üst Âlem): PROKARYOTA

Âlem: Eubacteria

Filum (Divisio): Cyanobacteria

2. Empire: EUKARYOTA

Âlem: Chromista

Filum (Divisio): Miozoa

Filum (Divisio): Bacillariophyta

Filum (Divisio): Ochrophyta

Classis: Phaeophyta

Filum (Divisio): Cryptophyta

Filum (Divisio): Haptophyta

Âlem: Plantae Bitkiler Âlemi

Filum (Divisio): Chlorophyta

Filum (Divisio): Charophyta

Filum (Divisio): Glaucophyta

Filum (Divisio): Rhodophyta

Filum (Divisio): Tracheophyta

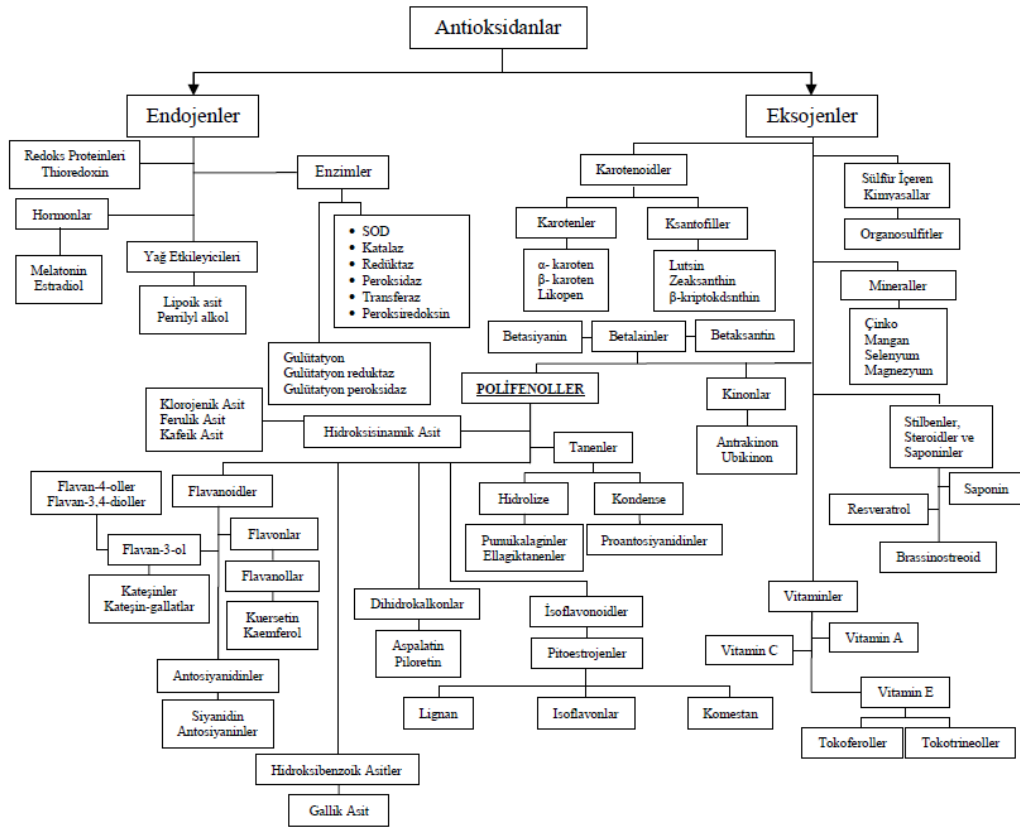
Âlem: Protozoa

Bölüm: Euglenophyta (Guiry, 2022)

2.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, organizmadaki tüm hücreleri etkileyerek, kardiyovasiküler sistem, kanser, katarakt ve yaşlanmaya neden olan serbest radikallerin olumsuz etkilerini azaltıcı özelliğe sahiptir. Antioksidanlar, vücutta serbest radikallerin reaksiyonlarını durdurmak, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyon sonucu meydana gelen zararları engellemek ve LDL ile Lipoprotein oksidasyonunu önlemek şeklinde aktivasyon gösterirler.

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Bazı antioksidanların çeşitli enzimatik faktörler içerebilirler. Enzimatik aktiviteye sahip olmayanları çeşitli besinsel kaynaktan elde edilebilirler. Bunlar, besinlerde en yaygın bulunan polifenol bileşenleri teşkil ederler. Besinlerdeki antioksidanlar genellikle organosülfür bileşikler, vitamin ve karotenoidleri içermektedir (Şekil 2.1) (Okan ve ark., 2013).



Şekil 2.1. Antioksidan Bileşiklerin Sınıflandırılması.

2.3. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, yapılarında fenol grubu bulunduran ve fotosentetik organizmalarda sekonder metabolit olarak sentezlenen bileşiklerdir. Bunların farmasötik etkileri ve antioksidan özellikleri vardır (Okan ve ark., 2013).

Fenolik bileşikler, meyve, sebzeler ve algler de dahil olmak üzere çoğu bitkisel organizmanın dokusunda bulunan fitokimyasallardır. Şikimik asit ve fenilpropanoid gibi yollarla sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşikler çok sayıda biyoaktif özelliğe sahiptir. Bunlar direkt olarak besin olmasalar da diyetle ve sağlığa destek sağlarlar (Kinsella ve ark., 1993).

Fenolik bileşikler, birkaç sınıfa ayrılabilen bir veya daha fazla hidroksil yapıları aromatik bir halka içeren ortak bir kimyasal yapıya sahiptir ve fenolik bileşiklerin ana grupları arasında flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler ve lignanlar bulunur. Bitkilerde üretilen 30.000'den fazla fenolik bileşiğin bulunduğu tahmin

edilmektedir. Bunlar sahip oldukları aromatik halkaların yapısı, sayısı ve OH grubunun durumuna (yerine ve sayısına) ve farklı organik bileşiklerle yaptıkları bağlara göre değişiklikler gösterirler (Eylem ve Uslu, 2018).

Yapılan çalışmalar, fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir (Kinsella ve ark., 1993).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanı ve Alglerin İzolasyonu

Çalışmaya konu olan algler, Erzincan Ekşisu Mesire Alanındaki bazı sucul ortamların bentik habitatlarından izole edilmiştir (Şekil 3.1). Epilitik ortamlardan alınan algler 1 litrelik plastik kaplarla EBYÜ Algoloji Laboratuvarına getirilmiş ve orada mekanik izolasyon yöntemine tabi tutulmuştur (Richmond ve Hu, 2013).



Şekil 3.1. Çalışma Alanının Haritası (a, Google Earth) ve Alg Habitatları (b,c,d).

3.2. Alglerin Teşhis ve Tayinleri

İzole edilen alglerin teşhisleri, geçici preparatlarla Zeiss Primo Star ışık mikroskobunda yapılmış, fotoğrafları alınmıştır. Teşhiste, ilgili kaynaklardan istifade edilmiştir (Canter-Lund ve Lund, 1995; Chapman, 1973; Findlay ve Kling, 1979; Guiry, 2022; Prescott, 1975).

3.3. Alglerin Ekstraksiyonu

Alg örneklerinden elde edilen kuru materyaller, hasas terazide tartıldı ve uygun şişelere konuldu. Tartılan alg örneklerinin üzerine hazırlanmış olan %70'lik metanol çözeltisi ilave edilerek 12 saat maserasyona bırakıldı. İşlem üç gece boyunca tekrar edildi ve süzme işlemlerinden sonra çözücüler evapore edilerek ham alg ekstraktları elde edildi. Antioksidan aktivite testleri için 10 mg/ml derişimlerde numuneler hazırlandı (Şekil 3.2).

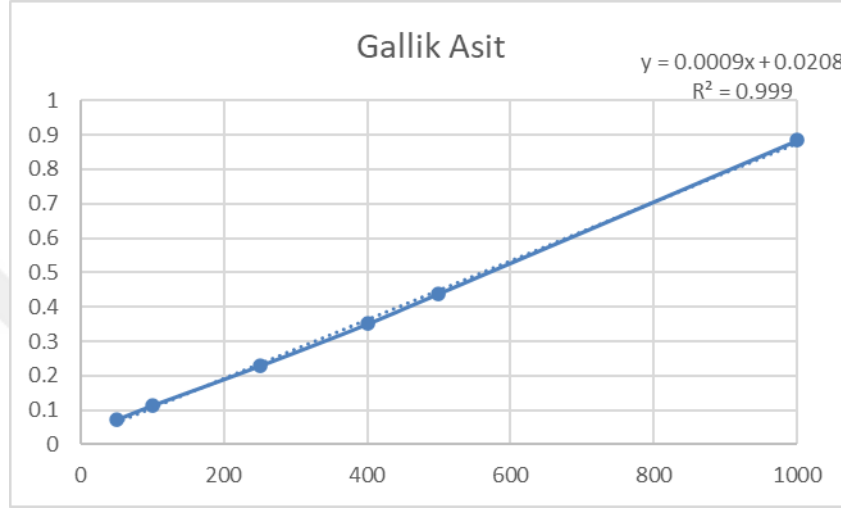


Şekil 3.2. Ekstraksiyon İşlemine Ait Fotoğraflar.

3.4. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

Alglerin toplam fenolik madde içerikleri spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu reaktifi ile gerçekleştirildi. Alg ekstraktları ve standartların 1 mg/mL olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı ve bu numunelerin 1 mg/mL derişimlerindeki stok çözeltilerinden 100 µl alınarak üzerine 4,5 ml distile su ilave edildi. Daha sonra 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek 10 dk oda şartlarında bekletildikten sonra

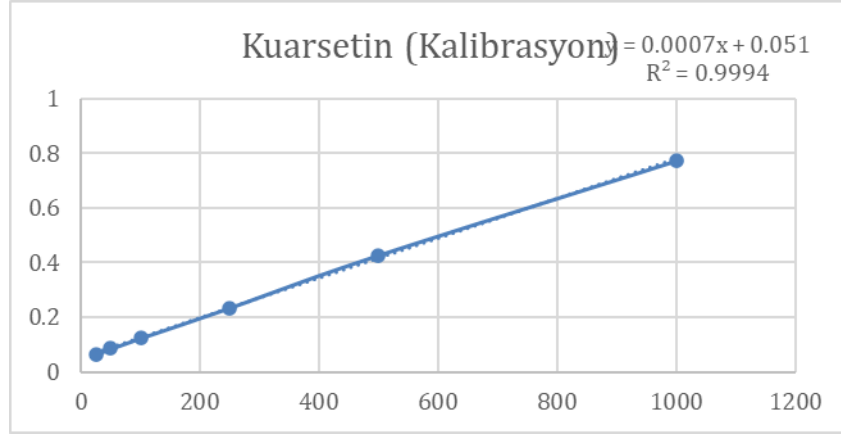
%2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 300 μL ilave edildi. Daha sonra bu karışım vorteks ile karıştırılarak oda sıcaklığında 120 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın 760 nm'deki absorbansları spektrofotometrede tespit edildi. Standart olarak kullanılan gallik asitin farklı derişimleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi oluşturulup sonuçlar mg olarak gallik aside eşdeğer fenolik madde/g ekstrakt olarak verildi (Slinkard ve Singleton, 1977) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Toplam Fenolik Madde Tayininde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

3.5. Toplam Flavanoid İçeriğinin Belirlenmesi

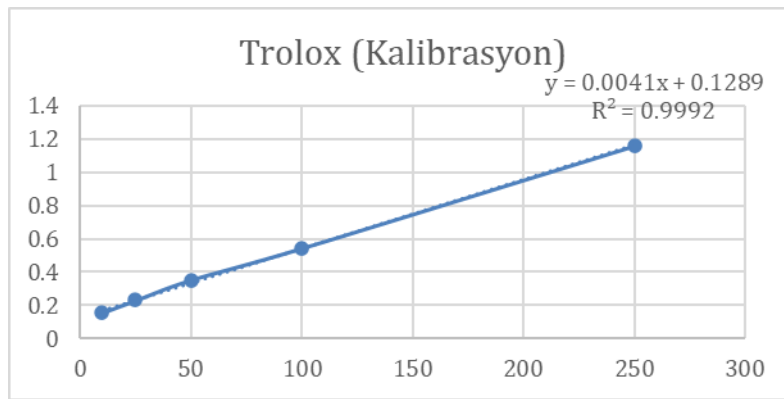
Alglerden elde edilen ekstrelerin toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemiyle yapıldı. Test edilecek ekstraktların ve standartların metanol içinde 1 mg/mL olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerden tüplere 100 μL alınarak üzerine metanol ilave edilerek son hacim 4.8 mL'ye tamamlandı. Karışıma daha sonra 1 M $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ çözeltisinden 100 μL ve %10'luk AlCl_3 çözeltisinden 100 μL eklenip vortekslenerek elde edilen son karışım oda şartlarında 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın 415 nm'deki absorbansları spektrofotometrede ölçüldü. Standart olarak kullanılan kuersetinin farklı derişimleri ile çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak özütteki toplam flavonoid miktarı mg kuersetin eşdeğeri/g özüt olarak verildi (Chang ve ark., 2002) (Şekil.3.4).



Şekil 3.4. Toplam Flavanoid Miktarı Tayininde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

3.6. FRAP Testi

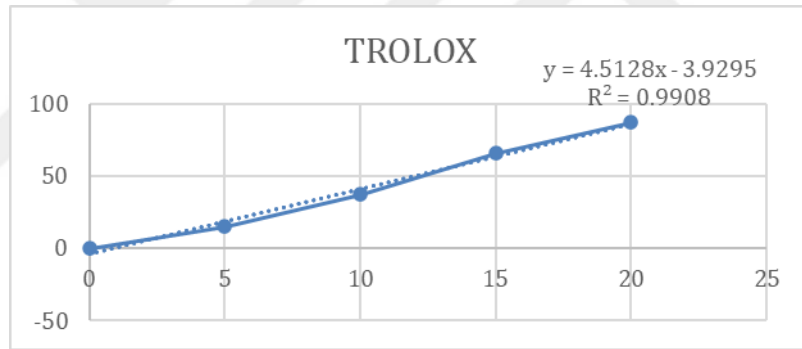
İndirgeme gücü aktivite testi tarafından rapor edilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Test edilecek ekstraktların ve standartların stok çözeltileri (1 mg/mL) hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerden tüplere 100 µL alınarak fosfat tamponu (0.2 M. pH 6.6) ile hacmi 1.25 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 1.25 mL potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$] (%1) ilave edildi ve karışım 50 °C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, reaksiyon ortamına sırasıyla %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisinden 1,25 mL ve % 0,1'lik $FeCl_3$ çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son karışımın absorbansı 700 nm'de kaydedildi (Oyaizu, 1986). Kalibrasyon eğrisi Şekil 3.5.'de verilmiştir.



Şekil 3.5. FRAP İndirgenme Aktivitesinde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi.

3.7. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Alg ekstraktlarının serbest radikal (DPPH•) giderme aktiviteleri tarafından rapor edilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. DPPH• (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) çözeltisi 0,26 mM konsantrasyonunda metanol ile çözülerek hazırlandı. Test edilecek ekstraktların ve standartların stok çözeltileri (1 mg/mL) hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerden tüplere 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında numuneler hazırlandı ve son hacimleri metanol ile 3 ml tamamlanarak üzerine 1 mL DPPH• çözeltisi ilave edildi. Son oluşan DPPH'lı test tüpleri vorteks yardımı ile karıştırılarak karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda her bir reaksiyon karışımının 517 nm'deki absorbansı ölçüldü ve okunan absorbans değerleri % aktiviteye çevrilip her bir ekstre için IC₅₀ (µg/mL) hesaplanarak bulunan sonuçlar standart trolox ile karşılaştırıldı (Blois, 1958). Trolox kalibrasyon eğrisi Şekil 3.6'de verilmiştir.



Şekil 3.6. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi.

4. BULGULAR

4.1. İzole Edilen Algler

Erzincan Ekşisu Mesire Alanındaki bentik habitatlardan izole edilip teşhisi yapılan ve antioksidan analizleri yapılan algler *Mougeotia parvula*, *Anabaena fertilissima*, *Spirogyra micropunctata*, *S. pratensis* ve *S. mirabilis* türlerinden oluşmaktadır.

4.1.1. *Mougeotia parvula*

Dallanmamış ipliksi alglerden olan *Mougeotia* filamentleri, iç içe geçen yumaklar teşkil etmektedir. Hücreler silindirik yapıda olup, 5 ila 30 µm çapındadır. Hücre zarı selülozdan yapılmıştır, dış kısmında müsilaj bulunan hücre duvarı bentik bölgeye tutunmaya yarar. Eşeysiz ve eşeyli üreme görülmektedir. Gametler izogamet özellikte olup, genellikle amoeboid hareket yeteneğine sahiptir. Filamentler genellikle düz, bazen katlanmış yapıda olabilirler (Guiry, 2022). *M. parvula*, Ekşisu Mesire Alanı, orta çeşme güney batısındaki derenin epilitik habitatından izole edilmiştir.

Taksonomik kategorizasyonu:

Empire (Üst Alem): Eukaryota

Kingdom (Alem): Plantae

Subkingdom (Alt Alem): Viridiplantae

Phylum (Divisio): Charophyta

Class (Sınıf): Zygnematophyceae

Subclass (Alt Sınıf): Zygnematophycidae

Order (Ordo): Zygnematales

Family: Zygnemataceae Genus: Mougeotia

Species: *Mougeotia parvula* (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Mougeotia parvula*.

4.1.2. *Anabaena fertilissima*

Cyanoobacteria bölümü alglerinden olan *Anabaena*, iplikli yapıdadır. Flamentler, soliter veya serbest kümeler halinde kolonialdır. Substratum üzerinde makroskopik battaniyeler oluşturabilir. Trikomlar, tek sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Heterosist ve akinet oluşumları görülmektedir. Bir trikomda genellikle 3-9 civarında, nadiren daha fazla, heterosist mevcuttur. Bu hücreler diğerlerinden ayrı olarak silindirik ve elipsoid yapıdadır. Hücreler eşeysiz, çapraz olarak bölünür ve bir sonraki bölünmeden hemen önce orijinal boyutuna gelir (Guiry, 2022). *A. fertilissima*, Ekşisu Mesire Alanı, orta çeşme güney batısındaki derenin epilistik habitatından izole edilmiştir.

Taksonomik kategorizasyonu:

Empire : Prokaryota

Kingdom: Eubacteria

Subkingdom: Negibacteria

Phylum: Cyanobacteria

Class: Cyanophyceae

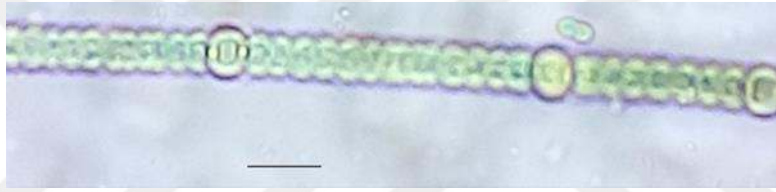
Subclass: Nostocophycidae

Order: Nostocales

Family: Nostocaceae

Genus: Anabaena

Species: *Anabaena fertilissima* (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Anabaena fertilissima*

4.1.3. *Spirogyra micropunctata*

Spirogyra, dallanmamış filamentlerden oluşur. Soliter ya da yumak şeklinde koloniler oluşturabilirler. Hücreler silindirik, 10 ila >200 µm çapında, çoğu 20 ila 60 µm uzunluktadır. Hücre zarı, iç katman selülozdan oluşmaktadır. Dış tabakada müsilaj vardır. Bazal hücreler nadiren rizoidlere sahiptir. Hücreler tek çekirdekli; hücre başına 1-15 kloroplast içermekte ve plastidler şeritsi ve sarmal yapıdadır. Spiral yapıdaki plastitler bazı türlerde kenarları fırfırlı şekilde olabilmektedir. Yan yana gelen filamentler merdiven benzeri bir yapı oluştururlar. Bitişik hücrelerin protoplastları büzülür ve kamçısız gametler haline gelir. İki birey arasında konjugasyon gerçekleşir. *S. micropunctata*, Ekişu Mesire Alanı, Horhor Gölünün batısındaki derenin epilitik habitatından izole edilmiştir (Guiry, 2022).

Taksonomik Kategorizasyonu:

Empire: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Viridiplantae

Phylum: Charophyta

Class: Zygnematophyceae

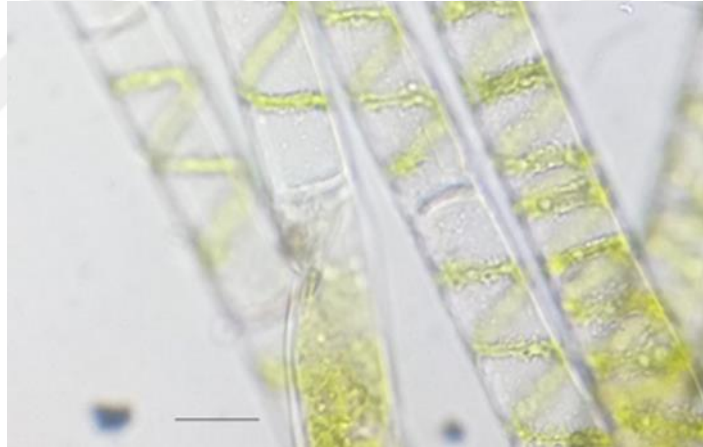
Subclass: Zygnematophycidae

Order: Spirogyrales

Familya: Spirogyraceae

Genus: Spirogyra

Species: *Spirogyra micropunctata* (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *Spirogyra micropunctata*

4.1.4. *Spirogyra pratensis*

S. pratensis, Ekşisu Mesire Alanı, Horhor Gölünün batısındaki derenin epilitik habitatından izole edilmiştir.

Taksonomik Kategorizasyonu:

Empire: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Viridiplantae

Phylum: Charophyta

Class: Zygnematophyceae

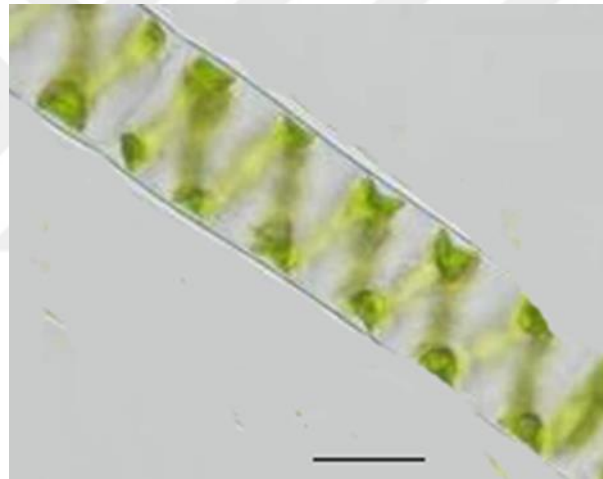
Subclass: Zygnematophycidae

Order: Spirogyrales

Familya: Spirogyraceae

Genus: Spirogyra

Species: *Spirogyra pratensis* (Şekil 4.4)



Şekil 4.4. *Spirogyra pratensis*

4.1.5. *Spirogyra mirabilis*

Ekşisu Mesire Alanı, orta çeşme güney batısındaki derenin epilitik habitatından izole edilmiştir.

Taksonomik Kategorizasyonu:

Empire: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Viridiplantae

Phylum: Charophyta

Class: Zygnematophyceae

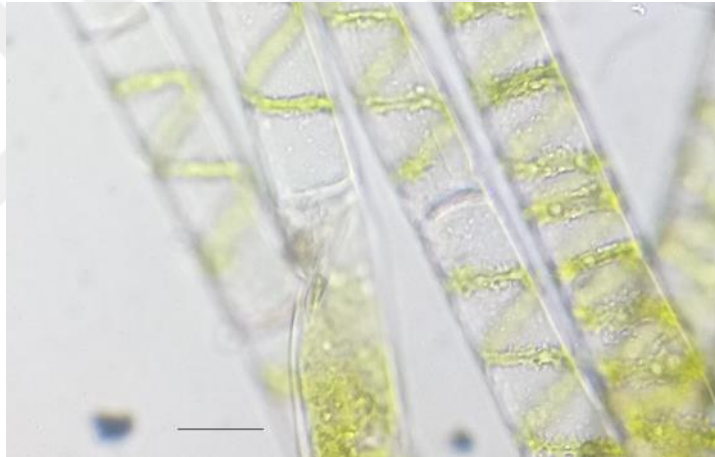
Subclass: Zygnematophycidae

Order: Spirogyrales

Familya: Spirogyraceae

Genus: Spirogyra

Species: *Spirogyra mirabilis* (Guiry, 2022) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *Spirogyra mirabilis*

4.2. Alg Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerikleri

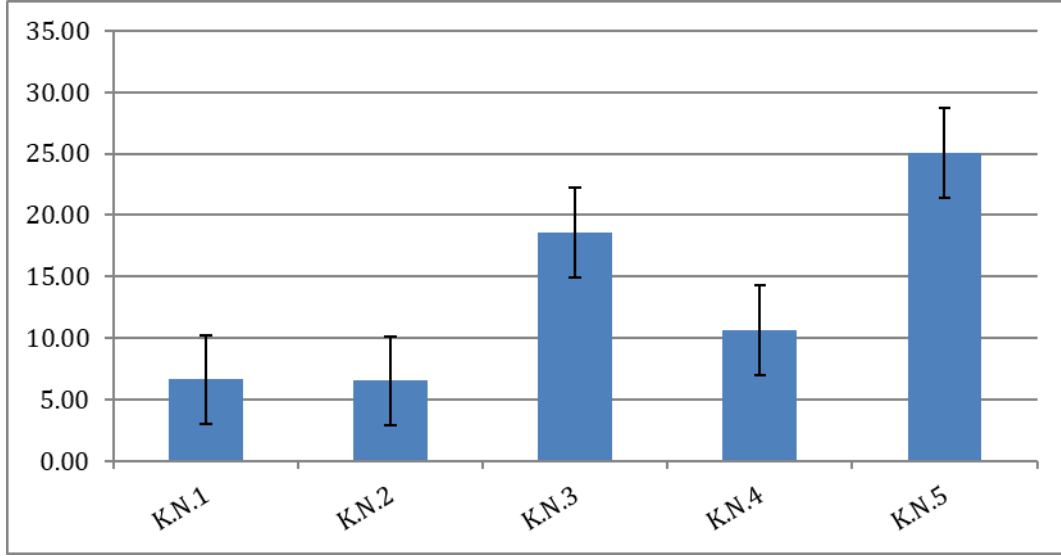
Alg türlerinin çalışma kolaylığı için kodlama yapılmış ve çeşitli grafiklerde kullanılmıştır. Bu kodlara ait tablo, Tablo 4.1’de verilmiştir. Alg ekstraktlarından elde edilen özütlerin toplam fenolik içerikleri Tablo 4.2-4.6’da ve Şekil 4.2-4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan Algler İçin Kullanılan Kod Ve Kısaltmalar

Kısaltmalar	Alg türleri
KN 1	<i>Mougeotia parvula</i>
KN 2	<i>Anabaena fertilissima</i>
KN 3	<i>Spirogyra micropunctata</i>
KN 4	<i>S. pratensis</i>
KN 5	<i>S. mirabilis</i>

Tablo 4.2. Toplam Fenolik Miktarları, Ortalama ve Standart Sapma Oranları

NUMUNE	ORT. ABS	µg AE/ml	MgGAE /gram Extract	ORTALAMA	STD. SAPMA
K.N.1 (<i>M. parvula</i>)	0.08	6.61	6.61	6.61±0.52	0.52
K.N.2 (<i>A. fertilissima</i>)	0.07	6.50	6.50	6.50±0.32	0.32
K.N.3 (<i>S. micropunctata</i>)	0.18	18.57	18.57	18.57±1.38	1.38
K.N.4 (<i>S. pratensis</i>)	0.11	10.61	10.61	10.61±0.52	0.52
K.N.5 (<i>S. mirabilis</i>)	0.24	25.05	25.05	25.05±0.44	0.44



Şekil 4.6. Alglerde Bulunan Toplam Fenolik Miktarları

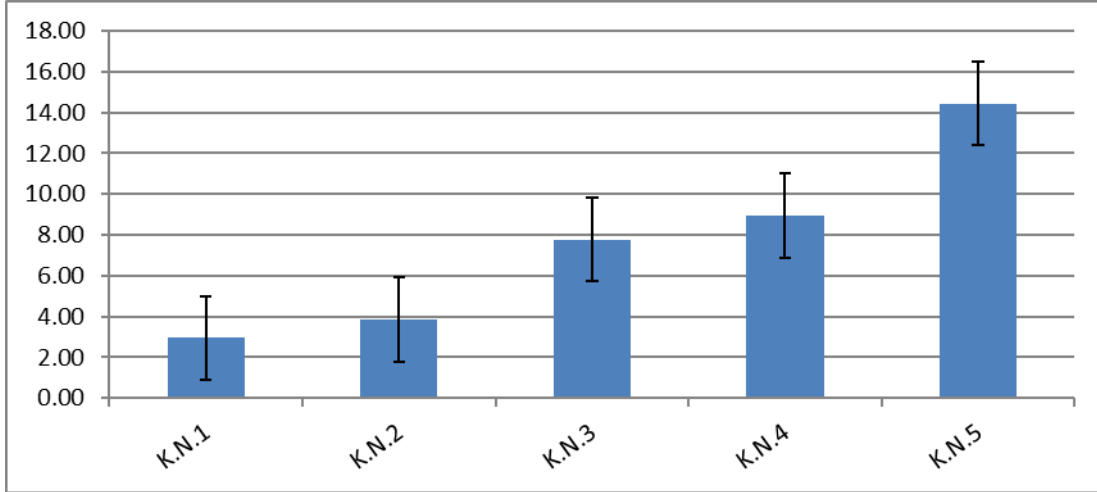
(KN1: *M. parvula*, KN2: *A. fertilissima* KN3: *S. micropunctata*, KN4: *S. pratensis*, KN5: *S. mirabilis*)

4.3. Alg Ekstraktlarının Toplam Flavonoid İçerikleri

Alg ekstraktlarından elde edilen özütlerin toplam flavonoid içerikleri Şekil 4.7, Tablo 4.3 ve 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.3. Toplam Flavonoid Miktarları, Ortalama Ve Standart Sapma Oranları

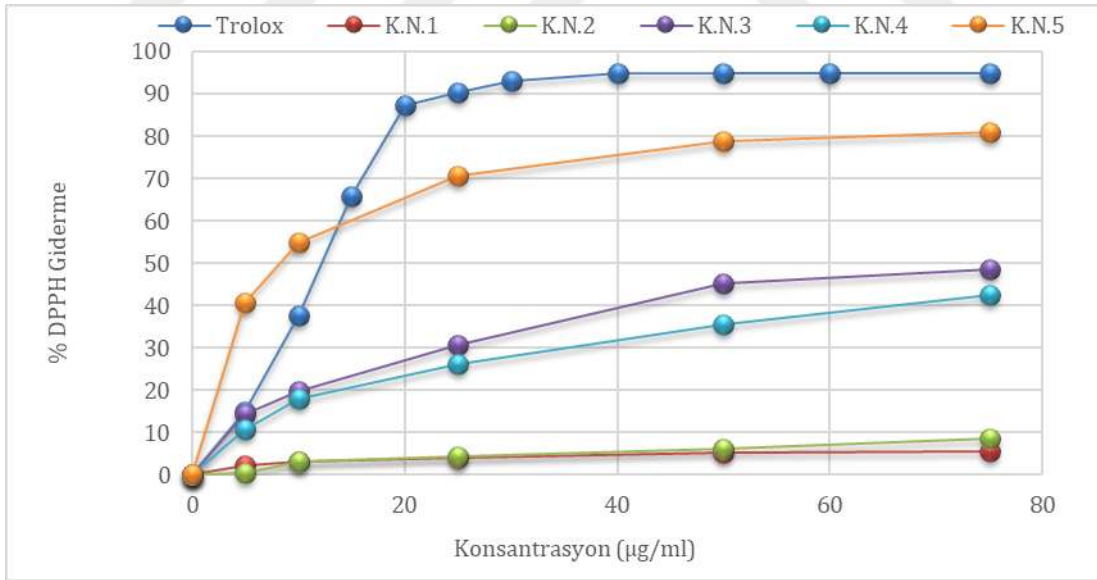
NUMUNE	ORT. ABS	$\mu\text{gQEPh/ml}$	mgQE/gram Extract	ORTALAMA	STDSAPMA
K.N.1 (<i>M. parvula</i>)	0.071	2.95	2.95	2.95 ± 0.78	0.78
K.N.2 (<i>A. fertilissima</i>)	0.078	3.85	3.85	3.85 ± 0.28	0.28
K.N.3 (<i>S. micropunctata</i>)	0.10	7.76	7.76	7.76 ± 0.35	0.35
K.N.4 (<i>S. pratensis</i>)	0.11	9	9	8.95 ± 0.16	0.16
K.N.5 (<i>S. mirabilis</i>)	0.15	14.42	14.42	14.42 ± 0.62	0.62



Şekil 4.7. Alglerde Bulunan Toplam Flavonoid Miktarları
(KN1: *M. parvula*, KN2: *A. fertilissima* KN3: *S. micropunctata*, KN4: *S. pratensis*, KN5: *S. mirabilis*)

4.4. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

Alg örneklerine ait DPPH radikali süpürme aktivitesine ait sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. Alg Örneklerinin Dpph Radikali Giderme Aktiviteleri (KN1: *M. parvula*, KN2: *A. fertilissima* KN3: *S. micropunctata*, KN4: *S. pratensis*, KN5: *S. mirabilis*)

Tablo 4.4. Örneklerin DPPH IC₅₀ Konsantrasyonları

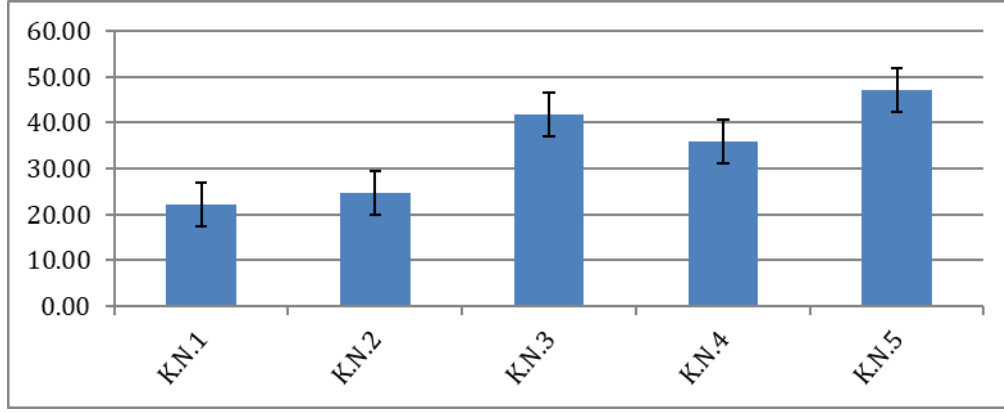
	IC ₅₀ (µg/ml)
TROLOX	11.95
K.N.1 (<i>M. parvula</i>)	722
K.N.2 (<i>A. fertilissima</i>)	577.46
K.N.3 (<i>S. micropunctata</i>)	164.96
K.N.4 (<i>S. pratensis</i>)	164.75
K.N.5 (<i>S. mirabilis</i>)	8.80

4.5. FRAP İndirgeme Aktivitesi

Alg örneklerine ait FRAP indirgeme aktivitesine ait sonuçlar Şekil 4.9, Tablo 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.5. Alg Ekstaktlarının FRAP İndirgeme Aktivite Sonuçları

NUMUNE	ORT. ABS	µg TE/ml	mg TE Extract	/gram	ORTALAM A	STDSAPM A
K.N.1 (<i>M. parvula</i>)	1.035	22.10	22.10		22.10±3.46	3.46
K.N.2 (<i>A. fertilissima</i>)	1.13	24.65	24.65		24.65±1.93	1.93
K.N.3 (<i>S. micropunctata</i>)	1.83	41.68	41.68		41.68±2.51	2.51
K.N.4 (<i>S. pratensis</i>)	1.59	35.86	35.86		35.86±5.24	5.24
K.N.5 (<i>S. mirabilis</i>)	2.06	47.14	47.14		47.14±3.90	3.90



Şekil 4.9. Alg Ekstaktlarına Ait FRAP İndirgeme Aktivite Grafiği (KN1: *M. parvula*, KN2: *A. fertilissima* KN3: *S. micropunctata*, KN4: *S. pratensis*, KN5: *S. mirabilis*)

4.6. Toplam Flavonoid, Fenolik Bileşik, DPPH ve FRAP Oranları

Çalışılan beş alg türündeki toplam Toplam Flavaonid, Fenolik Bileşik, DPPH ve FRAP oranları tablo 4. 6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Toplam Flavaonid, Fenolik Bileşik, DPPH ve FRAP oranları

NUMUNE	Toplam Fenolik mgGAE /gram Extract	Toplam Flavonoid mgQE/gram Extract	FRAP indirgeme aktivitesi mgTE/gram Extract	DPPH IC ₅₀ Konsant. µg/ml Trolox: 11.95
K.N.1 (<i>M. parvula</i>)	6.61±0.52	2.95±0.78	22.10±3.46	>250
K.N.2 (<i>A. fertilissima</i>)	6.50±0.32	3.85±0.28	24.65±1.93	>250
K.N.3 (<i>S. micropunctata</i>)	18.57±1.38	7.76±0.35	41.68±2.51	164.96
K.N.4 (<i>S. pratensis</i>)	10.61±0.52	8.95±0.16	35.86±5.24	164.75
K.N.5 (<i>S. mirabilis</i>)	25.05±0.44	14.42±0.62	47.14±3.90	8.80

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Erzincan İli Ekşisu Mesire Alanı bentik habitatlarından izole edilen bazı alglerin toplam fenolik bileşikleri, flavonoidleri ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. *M. parvula*, *A. fertilissima*, *S. micropunctata*, *S. pratensis* ve *S. mirabilis* türlerinin analizleri yapılmış; sonuçlar, tablo ve grafiklerle verilmiştir (Tablo 4.2-4.6, Şekil 4.6-4.9).

Alglerle ilgili yapılan antioksidan çalışmalar, gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Alglerden son derece kıymetli metabolitler elde edilmekte ve bunların sayısı her geçen gün artmaktadır. Siyanobakteriler ve bazı Rhodophyta alglerinden elde edilen fikobiliproteinler, anti-kanserojen ajanlar, *Chlorella* ve *Dunaliella*'dan elde edilen β -karoten, diatome'lerden elde edilen ksantofiller, *Haematococcus*'dan elde edilen astaksantin gibi farmasötikleri kıymetli algal metabolitler arasında sayabiliriz. Mikroalgler tarafından üretilen bu bileşiklerin metabolizma üzerinde güçlü antioksidan etkiye sahip olması ve insan sağlığına yönelik olumlu etkileri, bu ürünlerin değerini arttırmaktadır (Gökpinar ve ark., 2006).

Bu çalışmamızda, serbest radikallerin insan vücudunda meydana getirdiği zararlı etkilere karşı *M. parvula*, *A. fertilissima*, *S. micropunctata*, *S. pratensis* ve *S. mirabilis* alglerindeki antioksidan özellikler araştırılmış ve sonuçlar, tez içerisindeki tablo ve grafiklerle sunulmuştur (Şekil 4.8-4.9; Tablo 4.4-4.6).

Yapılan analiz sonuçlarına göre *M. parvula* türünde, toplam fenolik miktarı 6,61 mg GAE/gram ekstre, toplam flavonoid miktarı 2.95 mg QE/gram ekstre, FRAP indirgeme gücü aktivitesi 22.10 mg TE/gram ekstre, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi açısından doza bağlı bir aktivite görülmüş, ancak IC₅₀ değerlerinin üzerinde kaldığı için çok anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.6-4.9, Tablo 4.2-4.6).

A. fertilissima, toplam Fenolik miktarları açısından 6.50 mg GAE/gram ekstre, Toplam Flavonoid miktarları açısından 3.85 mg QE/gram ekstre, FRAP indirgeme aktivitesi açısından 24.65 mg TE/gram ekstre, DPPH radikali giderme aktivitesi açısından yine doza bağlı bir aktivite kaydedilmiş olsa da, IC₅₀ değerlerinin üzerinde olduğu için anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.6-4.9; Tablo 4.2-4.6). *S. micropunctata*, Toplam Fenolik miktarları açısından 18,57 mg GAE/gram ekstre, Toplam flavonoid miktarları açısından 7.76 mg QE/gram ekstre, FRAP indirgeme aktivitesi açısından 41.68mgTE/gram ekstre, DPPH radikali giderme aktivitesi açısından IC₅₀ değeri 164.96 olarak ölçülmüş, ancak Trolox değerinden yüksek olduğu için aktivitesi çok fazla görülmemiştir (Şekil 4.6-4.9; Tablo 4.2-4.6).

S. pratensis, Toplam Fenolik miktarları açısından 10.61 mg GAE/gram ekstre, Toplam flavonoid miktarları açısından 8.95 mg QE/gram ekstre, FRAP indirgeme aktivitesi açısından 35.86 mg TE/gram ekstre, DPPH radikali giderme aktivitesi açısından IC₅₀ değeri 164.75 µg/ml olarak kaydedilmiş ve sonuç Trolox değerinden yüksek olduğu için aktivite fazla bulunamamıştır (Şekil 4.6-4.9; Tablo 4.2-4.6).

S. mirabilis, Toplam Fenolik miktarları açısından 25.05 mg GAE/gram ekstre, Toplam Flavonoid miktarları açısından 14.42 mg QE/gram ekstre, FRAP indirgeme aktivitesi açısından 47.14 mg TE/gram ekstre, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi açısından IC₅₀ değeri 8,80 µg/ml olarak ölçülmüş ve sonuç trolox değerinden çok düşük olduğu için DPPH aktivitesi yüksek olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.6-4.9; Tablo 4.2-4.6).

Alg türleri içinde toplam fenolik madde oranları itibariyle en yüksek olarak 25.05 mg GAE/gram ekstre ile *S. mirabilis*, en düşük olarak da 6,50 mg GAE/gram ekstre oranıyla *A. fertilissima* olmuştur (Şekil 4.6, Tablo 4.2 ve 4.6).

Toplam flavonoid oranları itibariyle en yüksek 14.42 mg GAE/gram ekstre değeri ile *S. mirabilis*, en düşük olarak da 3,85 mg GAE/gram ekstre değeriyle *A. fertilissima* olmuştur (Şekil 4.7, Tablo 4.3 ve 4.6).

DPPH aktivitesi itibariyle IC₅₀ oranlarına göre en yüksek aktivite 8.80 µg/ml konsantrasyon değeri ile *S. mirabiliste*, en düşük aktivite ise *M. parvula* ve *A.*

fertilissima'da görülmüştür (Şekil 4.8, Tablo 4.4 ve 4.6).

FRAP indirgeme aktivitesi açısından en yüksek 47.14 mg TE/gram ekstre oranı ile *S. mirabilis*, en düşük ise 22.1 mgTE/gram ekstre oranıyla *M. parvula* olmuştur (Şekil 4.9, Tablo 4.5 ve 4.6).

Hossain ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptığı *Oscillatoria sp.*, *Lyngbya sp.*, *Microcystis sp.*, *Spirulina sp.* türleriyle yaptığı çalışmada, FRAP ve DPPH serbest radikali giderme aktivitesi yöntemi kullanılmış ve FRAP metodu ile en yüksek aktiviteyi *Oscillatoria sp.* (39.63 ± 7.02), DPPH metodu ile en yüksek aktiviteyi *Oscillatoria sp.* (465.31 ± 25.76) onu takiben *Lyngbya sp.* (248.39 ± 11.97)'nin gösterdiği tespit edilmiştir.

Oscillatoria türleri üzerinde yapılan antioksidan incelemede, bazı *Oscillatoria* türlerinin (*O. amphibia*, *O. agardhii*) iyi derecede antioksidan etki gösterdiği ve bu etkiden fikosiyaninin sorumlu olabileceği belirlenmiştir (Pabuçcu ve Yücer, 2017).

Krishnaraj ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptığı çalışmada, *Oscillatoria salina*, *Synechococcus*, *Oscillatoria annae*, *Oscillatoria chlorina*, *Spirulina subsalsa*, *Spirulina platensis* türleriyle yaptıkları antioksidan çalışmada, *O. salina*, *O. annae*'nin orta seviyede, *O. chlorina*'nın ise onlara nispeten daha düşük seviyede antioksidan etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir.

Oscillatoria amphibia'nın antioksidan etkilerinin *Spirulina platensis*'in ham özütü ile karşılaştırıldığı çalışmada, ham ekstrakt ve C-fikosiyaninlerin antioksidan potansiyelleri DPPH serbest radikal ve hidroksil süpürme aktivite değerlendirilmiştir. Çalışmada iki algin sitotoksik özellik gösterdiği ve antioksidan aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (Vuran ve ark., 2012).

Anabaena sphaerica ve *Oscillatoria agardhii* ile yapılan antioksidan çalışmada DPPH radikal süpürme aktivitesi metodu kullanılmış ve çözücü olarak da metanol, aseton, su; 50-100 ve 150 µg/ml'lik konsantrasyonlar tercih edilmiştir. BHA, standart sentetik antioksidan bileşik olarak kullanılmıştır. Metanol ekstraktının BHA'dan sonra en yüksek aktiviteyi gösterdiği yapılan çalışmada kaydedilmiştir (Abd El-Aty ve ark., 2014).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarına göre, Erzincan İli Ekşisu Mesire Alanındaki akuatik habitatlardan izole edilen türlerin antioksidan aktivitesi ilk kez rapor edilmiştir. Çalışmada incelenen beş alg türünün içinde *S. mirabilis*'in doğal antioksidan maddelerce zengin olduğu tespit edilmiştir. Bu türün kromatografik analizleri değerlendirildiğinde, spesifik olarak fenolik bileşiklerinin izolasyonunun, sonrasında da bunlar üzerinde yapı tayinlerinin gerçekleştirilmesinin faydalı olacağı tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Aty, A. M., Mohamed, A. A., & Samhan, F. A. (2014). In vitro antioxidant and antibacterial activities of two fresh water Cyanobacterial species, *Oscillatoria agardhii* and *Anabaena sphaerica*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(7), 069-075.
- Aktar, S., & CEBE, G. E. (2010). Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi.
- Alkhalaf, M. I. (2021). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic effects of *Chondrus crispus* species of red algae collected from the Red Sea along the shores of Jeddah city. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101210.
- Altuner, Z., Pabuçcu, K., & Türkekul, İ. (2002). Tohumusuz Bitkiler Sistematigi. *Atlan Matbaacılık*, 1.
- Arıca, Ş. Ç. (2017). Yaşlanma ve alglerin anti-gerontolojik etkileri.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Canter-Lund, H., & Lund, J. (1995). *Freshwater Algae*, Biopress Limited.
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chapman, D. (1973). *The algae*: Springer.
- Durğun, M. E., & Öbek, Ö. Ü. E. (2019). *Cladophora fracta* (Müller ex Vahl) Kützing ALG TÜRÜNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN in vitro ORTAMDA BELİRLENMESİ.
- El-Sheekh, M. M., Osman, M. E., Dyab, M. A., & Amer, M. S. (2006). Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 21(1), 42-50.
- Eylem, A., & Uslu, M. E. (2018). FENOLİK BİLEŞİKLER, EKSTRAKSİYON METOTLARI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27), 39-48.
- Fabrowska, J., Ibañez, E., Łeska, B., & Herrero, M. (2016). Supercritical fluid extraction as a tool to valorize underexploited freshwater green algae. *Algal Research*, 19, 237-245.
- Findlay, D., & Kling, H. (1979). A Species List and Pictorial Reference to the Phytoplankton of Central and Northern Canada-Part II.
- Gauthier, M., Senhorinho, G., & Scott, J. (2020). Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research*, 52, 102104.

- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., & Durmaz, Y. (2006). Algal Antioksidanlar. *Su Ürünleri Dergisi*, 23(1), 85-89.
- Guiry, M. (2022). AlgaeBase. World-wide electronic publication. <http://www.algaebase.org>.
- Güven, K. C., Percot, A., & Sezik, E. (2010). Alkaloids in marine algae. *Marine Drugs*, 8(2), 269-284.
- Heo, S.-J., Cha, S.-H., Lee, K.-W., & Jeon, Y.-J. (2006). Antioxidant activities of red algae from Jeju Island. *Algae*, 21(1), 149-156.
- Hossain, Z., Kurihara, H., Hosokawa, M., & Takahashf, K. (2005). Growth inhibition and induction of differentiation and apoptosis mediated by sodium butyrate in Caco-2 cells with algal glycolipids. *In vitro cellular & developmental biology. Animal*, 154-159.
- Kaba, N., & Çağlak, E. (2006). Deniz Alglerinin İnsan Beslenmesinde Kullanılması. *Su Ürünleri Dergisi*, 23(2), 243-246.
- Kinsella, J., Frankel, E., German, B., & Kanner, J. (1993). Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food technology*.
- Krishnaraj, R. N., Babu, S. V., Ashokkumar, B., Malliga, P., & Varalakshmi, P. (2012). Antioxidant property of fresh and marine water cyanobacterial extracts in Swiss mice. *Journal of Biopesticides*, 5, 250.
- Lezcano, V., Fernández, C., Parodi, E., & Morelli, S. (2018). Antitumor and antioxidant activity of the freshwater macroalga *Cladophora surera*. *Journal of Applied Phycology*, 30, 2913-2921.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Ebrahimzadeh, M. A., Jafari, N., & Yazdanpanah, S. (2013). Biological activities of freshwater algae, *Spirogyra singularis* Nordstedt. *Journal of aquatic food product technology*, 22(1), 58-65.
- Nainangu, P., Antonyraj, A. P. M., Subramanian, K., Kaliyaperumal, S., Gopal, S., & Renuka, P. S. (2020). In vitro screening of antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities, and characterization of bioactive substances from freshwater cyanobacteria *Oscillatoria* sp. SSCM01 and *Phormidium* sp. SSCM02. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101772.
- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö., & Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Pabuçcu, K., Bayer, D., & Elmastaş, M. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic compounds of *Spirogyra varians* (Hassall) Kützing. *Journal of Biotechnology*, 161(1).
- Pabuçcu, K., Demiriz Yücer, T., & Elmastaş, M. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic compounds of *Spirogyra ellipsospora* transeau. *Journal of*

Biotechnology, 161(2).

- Pabuçcu, K., & Yücer, Demiriz T (2017). *Oscillatoria* türlerinin tıbbi özelliklerinin araştırılması. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6(1), 46-59.
- Prescott, G. (1975). How to know freshwater algae, 348 pp. C. Brown, Dubuque.
- Richmond, A., & Hu, Q. (2013). *Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology*: John Wiley & Sons.
- Round, F. E. (1984). *The ecology of algae*: CUP Archive.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Vuran, V., Pabuccu, K., Demiriz, T., & Elmastas, M. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic compounds of *Vaucheria geminata* (Vaucher) DC.
- Yücer, Demiriz T, & Pabuçcu, K. (2018) *Phormidium* Türlerinin Tıbbi Özelliklerinin Araştırılması. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(1), 101-115.

