



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİYANOBAKTERİLERDEN FİKOERİTRİNİN SAFLAŞTIRILMASI
VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE KARAASLAN

OCAK

MERVE KARAASLAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

OCAK 2023

**SİYANOBAKTERİLERDEN FİKOERİTRİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

Merve KARAASLAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Prof. Dr. Vahit KONAR

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2023

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Merve KARAASLAN tarafından hazırlanan “Siyanobakterilerden Fikoeritrinin Saflaştırılması ve Biyolojik Aktiviteleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Vahit KONAR

Biyoloji Bölümü, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Doç. Dr. Faruk MARAŞLIOĞLU

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Doç. Dr. Önder İDİL

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 25/01/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Merve KARAASLAN

25.01.2023

SİYANOBAKTERİLERDEN FİKOERİTRİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Merve KARAASLAN

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2023

ÖZET

Siyanobakteriler prokaryotik canlılar olup farklı habitatlarda yaşayabilen ve çeşitli kimyasal bileşiklere sahip olan fotosentetik organizmalardan biridir. Fikobiliproteinler, siyanobakteriler ve ökaryotik alglerden üretilen, doğal olarak yüksek floresan özelliklerine sahip, suda çözünür ve ışık enerjisini absorblayan proteinlerdir. Fikoeritrin; kırmızı renkli fikobiliproteinler, fikosiyanın ise mavi renkli fikobiliproteinler olarak isimlendirilmektedir. Bu çalışmada daha önceden izolasyonu yapılarak kültür koleksiyonumuza eklenmiş olan, yüksek miktarda fikoeritrin içeren siyanobakteri türünden fikoeritrin ekstraksiyonu yapılarak, kromatografik tekniklerle kısmi saflaştırılması yapılmıştır. Cernek Gölü'nden izole edilen koyu kırmızı kahve renkli filamentli siyanobakterinin (izolat C32) 16S rRNA ITS sekans analizi sonucunda *Leptolyngbya compacta* ile % 99,23 benzerlik gösterdiği bilinen tür bu çalışmada kullanılmıştır. Bu siyanobakteri BG₁₁ besi ortamında geliştirilerek elde edilen biyokütle fikoeritrin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Biyokütle 0,1 M Tris HCl (pH: 8,5) içinde dondurup çözme metodu ile ekstrakte edilmiştir. Amonyum sülfat çöktürmesi (0-20, 20-65) ile fikoeritrin kısmi olarak saflaştırılmıştır. DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi sonrası elde edilen fraksiyonların antioksidan aktivitesi ve mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivitesi Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite deneyleri sonucunda saf fikoeritrinin Gram (+) mikroorganizmalar üzerine daha etkili olduğu görülmüştür. Saflaştırılan C-FE'nin biyolojik aktivite araştırması kapsamında, ABTS⁺ katyonik radikalı sönmüleme aktivitesi, Fe³⁺ indirgeme gücü, Cu²⁺ indirgeme gücü araştırılmıştır. Saflaştırdığımız fikoeritrinin antioksidan kapasitesinin düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışma Amasya Üniversitesi FMB-BAP 20-0469 kodlu BAP projesi tarafından desteklenmiştir.

Sayfa Adedi	: 68
Anahtar Kelimeler	: Siyanobakteri, Fikoeritrin, Biyolojik aktivite
Danışman	: Prof. Dr. Vahit KONAR

PURIFICATION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF PHECOERRITHIR FROM CYANOBACTERIA

(M. Sc. Thesis)

Merve KARAASLAN

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2023

ABSTRACT

Cyanobacteria are prokaryotic creatures and are one of the photosynthetic organisms that can live in different habitats and have various chemical compounds. Phycobiliproteins are water-soluble, light energy absorbing proteins with naturally high fluorescent properties produced from cyanobacteria and eukaryotic algae. Phycoerythrin; red colored phycobiliproteins and phycocyanin are named as blue colored phycobiliproteins. In this study, phycoerythrin was extracted from a cyanobacteria species containing high amounts of phycoerythrin, which was previously isolated and added to our culture collection, and it was partially purified by chromatographic techniques. The species known to show 99.23% similarity with *Leptolyngbya compacta* as a result of 16S rRNA ITS sequence analysis of dark red-brown filamentous cyanobacteria (isolate C32) isolated from Lake Cernek was used in this study. The biomass obtained by growing this cyanobacteria in BG₁₁ broth was used for the extraction of phycoerythrin. The biomass was extracted by freeze-thaw method in 0.1 M Tris HCl (pH: 8.5). Phycoerythrin was partially purified by ammonium sulfate precipitation (0-20, 20-65). Antioxidant activity and antimicrobial activity on microorganisms of the fractions obtained after DEAE-cellulose ion exchange chromatography were determined using Minimum Inhibition Concentration (MIC) methods. As a result of antimicrobial activity experiments, it was observed that pure phycoerythrin was more effective on Gram (+) microorganisms. Within the scope of the biological activity research of the purified C-FE, ABTS^{•+} cationic radical quenching activity, Fe³⁺ reducing power, Cu²⁺ reducing power were investigated. The antioxidant capacity of the purified phycoerythrin was found to be low. This work was supported by the Amasya University FMB-BAP 20-0469 BAP project.

Number of pages : 68

Keywords : Cyanobacteria, Phycoerythrin, Biological activity

Supervisor : Prof. Dr. Vahit KONAR

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmaları boyunca ilgi, anlayış ve tecrübelerini esirgemeyen, bilgileriyle yoluma ışık tutan yaptığı değerli katkıları ile her zaman örnek alacağım değerli hocam Prof. Dr. Vahit KONAR'a ve Doç. Dr. Önder İDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Emine ÇELİKOĞLU ve değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Umut ÇELİKOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında, desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım, Canfide Merve YEMİŞ, Habibe CENİKLİOĞLU, Dilan YILMAZ, Melike KARATAŞ YILDIZ ve Musa Can MANSUROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans çalışmalarım boyunca benden maddi manevi desteğini esirgemeyen her koşulda yanımda olup beni cesaretlendiren KARAASLAN ailesine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Siyanobakteriler	3
1.1.1. Siyanobakteri fotosentezinde elektron akışı	7
1.1.2. Siyanobakterilerin sistematigi.....	8
1.1.3. Siyanobakterilerin yaşama ortamları	9
1.1.4. Siyanobakterilerin kullanım alanları.....	9
1.2. Pigmentler	10
1.2.1. Klorofil.....	11
1.2.2. Karotenoidler	11
1.2.3. Fikobilinler.....	12
1.3. Siyanobakterilerin İçerdiği Pigmentler	12
1.3.1. Fikobiliprotein	12
1.4. Fikoeritrinin Biyolojik Aktiviteleri	16
1.4.1. Antimikrobiyal aktivite.....	16
1.4.2. Antioksidan aktivite	18
1.4.3. Cu ²⁺ indirgeme gücünün belirlenmesi	20

	Sayfa
1.4.4. Fe^{3+} indirgeme antioksidan aktivite tayin yöntemi.....	20
1.4.5. $\text{ABTS}^{+\cdot}$ katyonik radikali sönümleme aktivitesi	21
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
2.1. Materyal	22
2.1.1. Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar.....	22
2.1.2. Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar.....	22
2.1.3. Çalışmada kullanılan besi ortamlarının hazırlanması	23
2.2. Yöntem.....	26
2.2.1. Cernek gölü örnekleme noktaları.....	26
2.2.2. Siyanobakterilerin kültivasyonu	27
2.2.3. Fikoeritrin içeren ekstraktın elde edilmesi.....	28
2.2.4. Protein tayini.....	31
2.2.5. Amonyum sülfat çöktürmesi.....	31
2.2.6. Sephadex G-25 kolon kromatografisi	32
2.2.7. DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi.....	33
2.2.8. Saflaştırılmış C-FE'nin UV-VIS ve floresans spektrumlarının ölçülmesi	34
2.2.9. C-FE'nin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması.....	34
2.2.10. $\text{ABTS}^{+\cdot}$ katyonik radikali sönümleme aktivitesi	34
2.2.11. Cu^{2+} indirgeme gücünün belirlenmesi	35
2.2.12. Fe^{3+} katyonu indirgeme gücünün (FRAP) belirlenmesi	35
2.2.13. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	36
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	38
3.1. Su Örneklerinden Siyanobakteri İzolasyonu.....	38
3.2. Fikoeritrin Saflaştırma Bulguları	38

	Sayfa
3.3. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	39
3.4. Antioksidan Aktivite Bulguları	42
3.4.1. ABTS ⁺ sönümleme aktivitesi bulguları.....	42
3.4.2. Cu ²⁺ indirgeme gücü bulguları.....	45
3.4.3. Fe ³⁺ indirgeme gücü bulguları	47
3.5. Protein Tayini Bulguları.....	50
3.6. UV-VIS Analizi Bulguları	51
3.7. Floresans Analizi Bulguları.....	52
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Siyanobakterilerin yapısı	1
Şekil 1.2. Siyanobakterilerin hücre içi yapısı (Kelvinsong, 2013)	4
Şekil 1.3. Gram pozitif ve gram negatif hücre duvarı yapıları	5
Şekil 1.4. Heterosistin yapısı	6
Şekil 1.5. Akinetin yapısı.....	6
Şekil 1.6. Siyanobakteri fotosentezinde elektron akışı	8
Şekil 1.7. 16S rRNA gen dizilimine göre siyanobakterilerin üç temel grup içindeki konumu	9
Şekil 1.8. Fikobilizom yapısı (Zhang ve diğerleri, 1999).....	13
Şekil 1.9. Fikobiliproteinlerin absorpsiyon değerleri (Li ve diğerleri, 2019)	15
Şekil 1.10. Fikoeritrin pigmenti içeren siyanobakteri yapısı	15
Şekil 2.1. Cernek Gölü (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri).....	26
Şekil 2.2. Cernek Gölü örneklem bölgeleri (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri)	27
Şekil 2.3. Saf izolatların sıvı besiyerinde geliştirilmesi.....	28
Şekil 2.4. Liyofilizatör cihazı.....	28
Şekil 2.5. Liyofilize edilmiş siyanobakteri izolatları	29
Şekil 2.6. FE ekstraksiyonunun optimizasyonu	29
Şekil 2.7 FE, Tris-HCl tamponu ile dondurma ve çözme metodu.....	30
Şekil 2.8. FE, Tris-HCl tamponu ile renk açılana kadar dondurma ve çözme işlemi	30
Şekil 2.9. Soğutmalı sirkülatör ile amonyum sülfat çöktürme işlemi (PolyScience)	32
Şekil 2.10. Amonyum sülfat çöktürme işleminden sonra santrifüj uygulaması	32
Şekil 2.11. Elde edilen çökeleğin Sephadex G-25 kolondan geçirilme işlemi	32
Şekil 2.12. 0-0,5 M NaCl ile doğrusal gradient uygulanarak numunenin eppendorf tüplere fraksiyon toplama işlemi.....	33

Şekil	Sayfa
Şekil 2.13. Floresans spektroskopisi analizi	34
Şekil 2.14. Mikroplaka okuyucu (Multiskan Go, Thermo)	35
Şekil 2.15. Alüminyum ısıtıcı blok ve Mikroplaka okuyucu	36
Şekil 2.16. Minimum inhibisyon konsantrasyonu deneysel çalışmaları	37
Şekil 3.1. Saf siyanobakteri türünün mikroskopik görünümü (C32; Flamentli).....	38
Şekil 3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) deney düzeneği.....	39
Şekil 3.3. Cernek Gölü’nden izole edilen C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin MİK plate görüntüsü	40
Şekil 3.4. C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin ABTS ⁺ sönümleme aktivitesinin plate görüntüsü	42
Şekil 3.5. BHA’nın ABTS ⁺ sönümleme aktivitesi	43
Şekil 3.6. BHT’nin ABTS ⁺ sönümleme aktivitesi	43
Şekil 3.7. GA’nın ABTS ⁺ sönümleme aktivitesi.....	44
Şekil 3.8. Saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS ⁺ sönümleme aktivitesi	44
Şekil 3.9. C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin Cu ²⁺ indirgeme aktivitesinin plate görüntüsü.....	45
Şekil 3.10. BHA’nın Cu ²⁺ indirgeme aktivitesi	46
Şekil 3.11. BHT’nin Cu ²⁺ indirgeme aktivitesi	46
Şekil 3.12. Saflaştırılmış fikoeritrinin Cu ²⁺ indirgeme aktivitesi	47
Şekil 3.13. GA’nın Fe ³⁺ indirgeme aktivitesi	48
Şekil 3.14. Saflaştırılmış fikoeritrinin Fe ³⁺ indirgeme aktivitesi	48
Şekil 3.15. BSA standart grafiği	51
Şekil 3.16. Örneğe ve fraksiyonlara ait UV-VIS taraması.....	52
Şekil 3.17. Siyanobakteri ekstraktının protein derişimine bağlı emisyon grafiği (Eksitasyon: 566 nm; Emisyon: 577 nm).....	53
Şekil 3.18. Saflaştırılmış fikoeritrinin protein derişimine bağlı emisyon grafiği (Eksitasyon: 566 nm; Emisyon: 577 nm).....	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Fotosentetik organizmalardaki pigmentler (Öncel, Üstün ve Keleş, 2004).	14
Çizelge 2.1. Sıvı besi ortamı hazırlama	24
Çizelge 2.2. Katı besi ortamı hazırlama.....	25
Çizelge 2.3. Cernek Gölü'nden su örneklerin alındığı koordinatlar	27
Çizelge 3.1. Fikoeritrinin saflaştırılma çizelgesi	39
Çizelge 3.2. Siyanobakteri ekstraktının, bakteriyel test mikroorganizmaları üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerleri (mg/mL)	40
Çizelge 3.3. Standartlar ve saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS ⁺ sönmleme aktivitesi	45
Çizelge 3.4. Saflaştırılmış fikoeritrinin Cu ²⁺ indirgeme gücü	47
Çizelge 3.5. Saflaştırılmış fikoeritrinin Fe ³⁺ indirgeme gücü.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler	Açıklama
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
nm	Nanometre
L	Litre
ml	Mililitre
µL	Mikrolitre
UV	Ultraviyole
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
cm	Santimetre
dk	Dakika
s	Saniye
M	Molar
Mm	Milimolar

Kısaltmalar	Açıklama
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
OD	Optik yoğunluk
HAT	Hidrojen atomu transferi
ET	Elektron transferi
TE	Trolaks eşdeğeri
IC₅₀	%50 inhibisyona ulaşmak için gerekli antioksidan derişimi
CUPRAC	Cupric iron reducing antioxidant capacity (Bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite)
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ABTS	2,2-Azino-bis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit
SOR	Serbest oksijen radikalleri
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasitesi
TRAP	Toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametresi
FCR	Folin-Ciocalteu ayırıcı-toplam fenolik yöntemi
TEAC	Toplam trolaks eşiti antioksidan kapasitesi
FRAP	Demir indirgeyici antioksidan güç
BHA	Butil hidroksi anisol
BHAE	Butil hidroksi anisol eşdeğeri
BHT	Butil hidroksi toluen
BHTE	Butil hidroksi toluen eşdeğeri
GA	Gallik asit
GAE	Gallik asit eşdeğeri

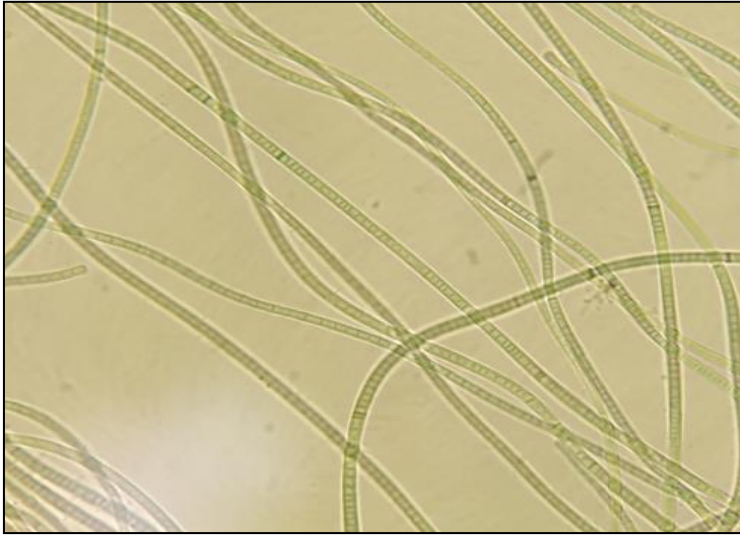
Kısaltmalar	Açıklama
DMSO	Dimetil sülfoksit
BSA	Bovine serum albumin
PG	Propil gallat
TCA	Trikloro asetik asit
TBHQ	Tersiyerbutil hidrokinon
KPS	Potasyum persülfat
UV-VIS	Ultraviyole-görünür spektrofotometri
DEAE	Dietil aminoetil selüloz
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
CLSI	Klinik laboratuvar standartları enstitüsü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
ATP	Adenozin trifosfat
C	Siyanobakteri
C-PE	Fikoeritrin
C-PC	Fikosiyenin
C-APC	Allofikosiyenin
B-PE	Bangiales fikoeritrin
R-PE	Rhodophyta fikoeritrin
klo.a	Klorofil a
klo.b	Klorofil b
klo.c	Klorofil c
b.klo.a	Bakteriyoklorofil a
b.klo.b	Bakteriyoklorofil b

Kısaltmalar	Açıklama
b.klo.c	Bakteriyoklorofil c
Abs	Absorbans
rpm	Bir dakikadaki devir sayısı



1. GİRİŞ

Siyanobakteriler yeryüzündeki oksijen üreten en eski fotoototroflardır (Şekil 1.1). Yaşayabilmeleri için gereksinim duydukları maddeler su, CO₂, inorganik bileşikler ve ışıktır. Fotosentez yolu ile enerji elde ederler. Ancak bazı türleri hiç fotosentez yapmaksızın kemoheterotrof olarak karanlıkta uzun süre yaşayabilmektedir (Mur, Skulberg ve Utkilen, 1999).



Şekil 1.1. Siyanobakterilerin yapısı

Siyanobakterilerde prokaryotik yapısında bulunan C-fikosiyanin adında mavi renkli bir pigment klorofil pigmentiyle birlikte yer almaktadır. Siyanobakterideki bu pigmentten dolayı mavi-yeşil olarak görüldüğü için ilk zamanlar bu canlılara mavi-yeşil algler denilmiştir (Palinska ve Surosz, 2014). Siyanobakteriler içerdikleri pigmentler nedeniyle sınıflandırma da mavi-yeşil algler olarak adlandırılırsalar da kahverengi, sarı veya kırmızı olabilmektedir. Bunun yanında fikoeritrin, asta-ksantin, ksantofil ve β -karoten siyanobakterilerin içerdikleri önemli pigmentlerdir. Siyanobakteriler prokaryot yapıda olmaları ile alglerden ayrılırlar. Alg olmadığı anlaşıncı ökaryotik alglerle birlikte olduğu sınıflandırılmadan çıkarılarak yeni sistemde artık bakteri olarak kabul görmüştür (Eriksen, 2008; Meinesz ve Tarhan, 2010; Whitton ve Potts 2000).

Siyanobakterilerin en önemli özelliklerinden biri de azotu fikse etmeleridir. Yaklaşık 70'den fazla türün, azotu fikse ettikleri bilinmektedir (Whitton ve Potts, 2012). Siyanobakterilerin

yapısal özelliği itibariyle karbondioksiti karbon kaynağı, güneş ışığını elektron kaynağı olarak kullanarak karbonhidrata çevirirler ve bu şekilde besin üretmiş olurlar.

Siyanobakterilerin hızlı bir şekilde büyüyerek kümelenmesi bloom olarak adlandırılır. Sucul ortamdaki azot ve fosfor oranı yüksek olduğu zaman bu kümelenmeler ötrofikasyona sebep olabilmektedir. Tatlı sulardaki ötrofikasyon, özellikle içme suyu olarak kullanılan su kaynaklarında, siyanobakteri yoğunluğunun artması sonucu sudaki oksijen seviyesini düşürerek su kalitesini olumsuz bir şekilde etkilenmesine neden olmaktadır. Ötrofikasyon sonucu meydana gelen biyolojik oluşumlar suyun tadını ve kokusunu değiştirebilmektedir. Bunun sonucunda nörotoksik, sitotoksik ve hepatotoksik etkileri bulunan değişik toksinlere sebep olduğundan su kaynaklarının içme suyu olarak kullanılmasını kısıtlayarak, insan ve hayvan sağlığı için ciddi tehlike yaratmaktadır (Carmichael, 2001; Codd, 2000).

Siyanobakterilerin yapısında bulunan tilakoidler atmosferdeki azotun fiksasyonunda, solunumda görev alır ve fotosentezin gerçekleştiği bu tilakoitlerin üzerinde klorofil a pigmenti bulunur. Çift lamelli tilakoitlerin arasında bulunan fikosiyanın ve fikoeritrin gibi fikobiliproteinler absorpsiyon özelliklerine göre; fikoeritrinler (C-PE, λ_{mak} . 540- 570 nm), fikosiyanınlar (C-PC, λ_{mak} . 610-620) ve allofikosiyanınlar (C-APC, λ_{mak} . 650-655) olmak üzere 3 ana sınıfa ayrılırlar (Bermejo ve diğerleri, 2003). Fikobiliproteinlerin % 75'ini fikosiyanınlar, % 12'sini allofikosiyanınlar, % 12'sini de fikoeritrinler ve pigmentless polipeptitler oluşturur (Tunail, 2009).

Fikobiliproteinlerin; antioksidan, antidiyabetik, antitümoral, immün baskılayıcı, antihipertansif aktiviteleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Fikoeritrin, serbest radikal süpürücü kabiliyetine sahiptir. İnsan sağlığını desteklediği için önemli bir pigmenttir. Bu özelliğinden dolayı nutrasötik ve formasötik alanlarda da kullanılabilir. *Porphyridium* sp. floresan pembe renk veren pigment kaynağıdır. Bu mikroalgler biyoreaktörlerde güneş ışığı ya da yapay ışıkla karbondioksit ve tuz ortamında geliştirilmektedir. En çok pigment 20°C–30°C' de ve orta şiddetli ışık altında oluşmaktadır. Bu mikroalglerden elde edilen önemli fikobiliproteinler, B-fikoeritrin ile R- fikoeritrindir. Pembemsi-kırmızı renkli pigmentler konfeksiyonda, giyimde, jelâtin içeren tatlılarda ve süt ürünlerinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Kırmızı renkli fikoeritrin, gıda ve kozmetikte geniş uygulama alanına sahiptir. Kırmızı fikoeritrin sarı floresana sahiptir. Bu yeteneği sayesinde gıdalara fonksiyonel besleyici özellik kazanmasıyla lolipoplarda, alkollü ve alkolsüz içeceklerde

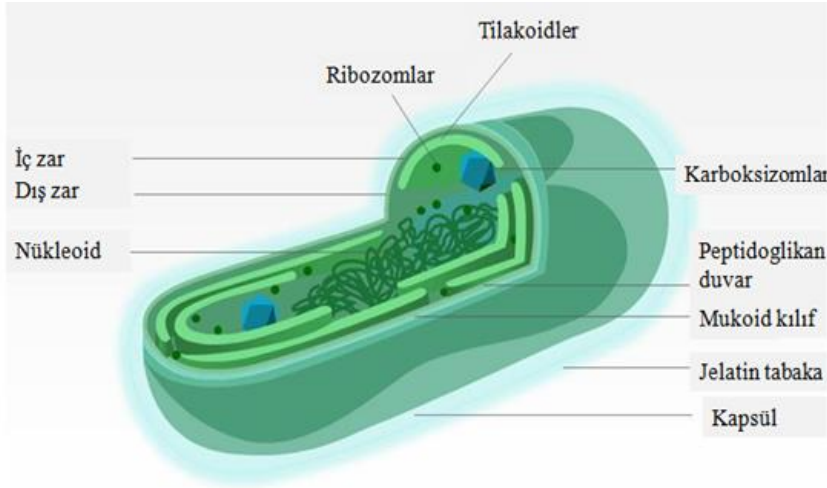
kullanılmaktadır (Afreen ve Fatma, 2018; Arad ve Yaron, 1992; D'Agnolo, Rizzo, Paoletti ve Murano, 1994; Mayer ve Hofmann, 2005).

Bu çalışmada kültür koleksiyonumuzda bulunan *Leptolyngbya compacta* türünden fikoeritrin elde edilip jel filtrasyon ve DEAE selüloz iyon değişim kromatografisi ile fikoeritrin saflaştırılmıştır. Saf fikoeritrinin seçilen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivitesi ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Saf fikoeritrinin antimikrobiyal ya da antioksidan aktivitesinin biyoteknolojik bir ilaç olarak kullanılabilme kapasitesi incelenmiştir.

1.1. Siyanobakteriler

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucunda siyanobakteriler 0.5-100 µm uzunluğunda olabileceği ve hücre duvarı yapısının Gram negatif mikroorganizmalara benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Ökaryotlara benzer şekilde yani organik karbon ve oksijen gazı üretmeleri yönü ile bitkiler gibi fotosentez yapma yeteneğine sahiptirler. Tüm siyanobakteriler, yapılarında karakteristik olarak fikobilin ve klorofillerden sadece klorofil-a'yı bulundurur. Fikobilinlerin bir sınıfı olan mavi renkli fikosiyanın, yeşil renkli klorofil pigmentiyle birlikte siyanobakterilere mavi-yeşil rengini verir (Stal, 2012).

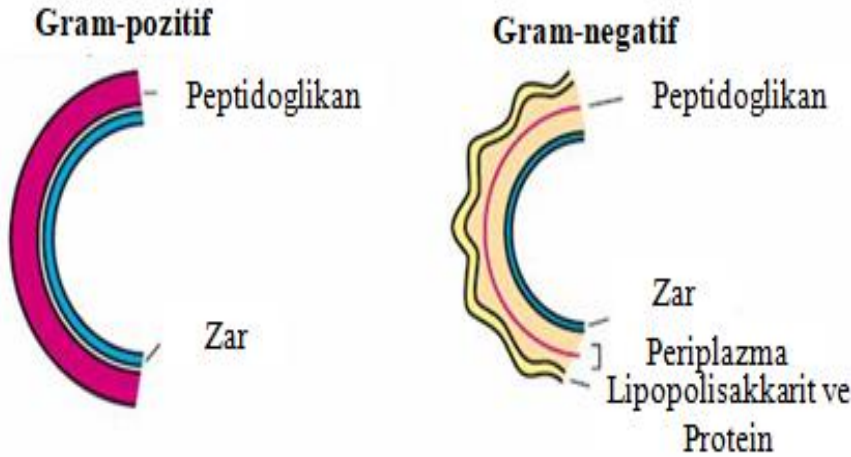
Siyanobakteriler, prokaryotik organizasyona sahip olduğundan gerçek çekirdek zarları ve hücre zarına bağlı organelleri bulunmamaktadır. Çekirdek ve plastidleri hücre içerisinde dağılmış halde bulunur. Plastidlerden klorofil-a pigmentinin yanı sıra, fikosiyanın ve fikoeritrin adı verilen özel fotosentetik pigmentlere sahip olup klorofil-a'nın ışığı absorbe etmede yetersiz kaldığı dalga boylarında bu pigmentlerden yararlanarak farklı derinliklerde bile yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmektedir (Stewart ve Falconer 2008; Whitton ve Potts, 2000). Siyanobakterilerin hücre yapısı Şekil 1.2'de yer almaktadır.



Şekil 1.2. Siyanobakterilerin hücre içi yapısı (Kelvinsong, 2013)

Fosfolipid barındıran hücre duvarı yapı ve işlev bakımından gram negatif bakterilere benzerlik göstermektedir. Tek helezonlu DNA molekülü hücre içerisinde serbest halde bulunur. Glikokaliks adı verilen karbonhidrat bakımından zengin bir yapı ile siyanobakteri hücreleri çevrelenmiş olup dış membranın dış kısmında bulunan bir kılıftır. Peptidoglikan tabakası dış membran ile plazma membranı arasında yer almaktadır. Peptidoglikan tabaka şeker türevidir olan N-asetil glukozamin ve N-asetil müramik asitten oluşmaktadır. Yapıda pek çok amino asit mevcuttur. Peptidoglikan tabakasının sayesinde iç ve dış periplazmik boşluk bulunur ve bu boşlukta transport kanalları da yer alır ve gevşek bir ağ yapısına sahip peptidoglikan fibrillerinden oluşturulmuştur.

Siyanobakteriler, tek hücreli ya da filamentli olabilmelerinin yanında tekli veya grup halinde koloniler oluşturabilmektedir. Koloni şeklinde olan siyanobakterilerin en yaygın filamentlilerdir. Filamentli olanlarda kolonilere bağlanmalarını sağlayan musilaj kılıfları bulunmaktadır. Bazı siyanobakteri hücrelerinde gerçek dallanma bazılarında ise yalancı dallanma görülür. Siyanobakteriler genellikle hareketsiz olmasına rağmen kayma ile hareket etme yeteneğine sahiptir. Yapılarında bulunan trikom ucuyla salınım hareketi yapan bakterilerde iki ilave dış tabakaya sahiptir. Hücre organellerini sararak yapısal bütünlüğü sağlayan, kurumasını önleyen ve seçici geçirgen yapısıyla temel besinin alınmasında görevli olan hücre duvarının dışında zarsı yapı oluşturan pektin ve bir miktar selülozdan oluşan bir kılıf vardır (Şekil 1.3). Kılıf, çoğu siyanobakteri türünde polisakkaritten oluşurken, bazı siyanobakteri türlerinde ise polipeptitlerden oluşmuştur (Demiriz Yücer ve Pabuçcu, 2018; Walsby, 1987; Walsby, Yacobi ve Zohary, 2003; Whitton ve Potts, 2000).

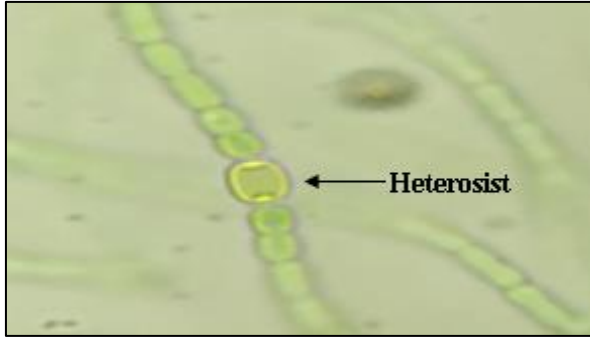


Şekil 1.3. Gram pozitif ve gram negatif hücre duvarı yapıları

Siyanobakterilerin adaptif tepkileri iyi olduğu bilinmektedir. Siyanobakterilerde bulunan özelleşmiş hücreler, farklılaşarak siyanobakterilerin ortam koşullarına uyum yeteneklerini arttırır. Bu yapılardan hormogonium, anormal şartlarda oluşan kısa, hareketli, farklılaşmamış, çevrenin çeşitli uyarılarına sonucu oluşan filamentlerdir ve şartlar elverişli olduğu zaman tekrar gelişerek ipliği oluşturur. Hormogonium ipliksi yapıda olan bazı siyanobakteri türlerinde aradaki hücrelerin ölüp ipliğin birkaç hücreden oluşan parçalara ayrılmasıyla oluşur. Bu parçaların her biri hormogonium olarak adlandırılır ve yeni yaşam alanlarına yayılmayı sağlar (Damerval, Guglielmi, Houmard ve De Marsac, 1991).

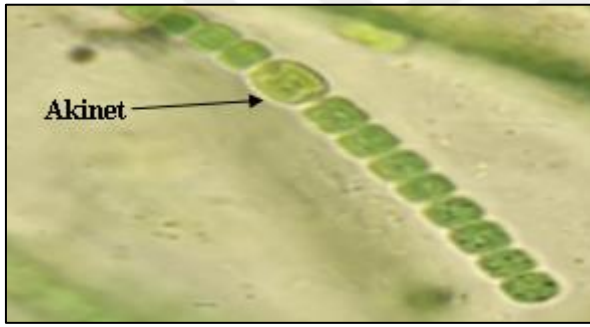
Siyanobakterilerin üreme şekli bakterilere benzer biçimde hücreler ikiye bölünerek gerçekleşmektedir. Hücre bölünmesi ve fragmentasyon tarzında eşeysiz üreme ise koloni meydana getiren türlerinde görülmektedir (Whitton ve Potts, 2000).

Flamentli siyanobakteri türlerinde ayrıca anormal şartlara dayanıklı heterosist ve akinet olarak adlandırılan yapılar da bulunur. Siyanobakteri ipliklerine trikom adı verilir. Işık mikroskopunda görülebilen tek hücreden oluşan akinet veya heterosit vejetatif hücrenin farklılaşmasıyla oluşmaktadır. Heterosistler, flamentin uç ya da orta kısmındaki hücrelerin büyüyerek homojen görünümlü yapılar oluşturur (Şekil 1.4). Ayrıca heterosistler vejetatif hücre ile arasında gerçekleşen fotosentez sayesinde havanın serbest azotunu fikse ederek azotça fakir ortamlarda daha iyi gelişir (Allen ve Arnon, 1955; Bottomley, Grillo, Van Baalen ve Tabita, 1979; Fay, 1992).



Şekil 1.4. Heterosistin yapısı

Akinet, vejetatif hücreden daha büyük yapılı, etrafında kalın çeperi bulunan, yedek madde açısından zengin bir hücredir (Şekil 1.5). Bu yapı uygun olmayan şartlar geçene kadar hücrenin üreme yeteneğini korur (Sukennik, Beardall ve Hadas, 2007).



Şekil 1.5. Akinetin yapısı

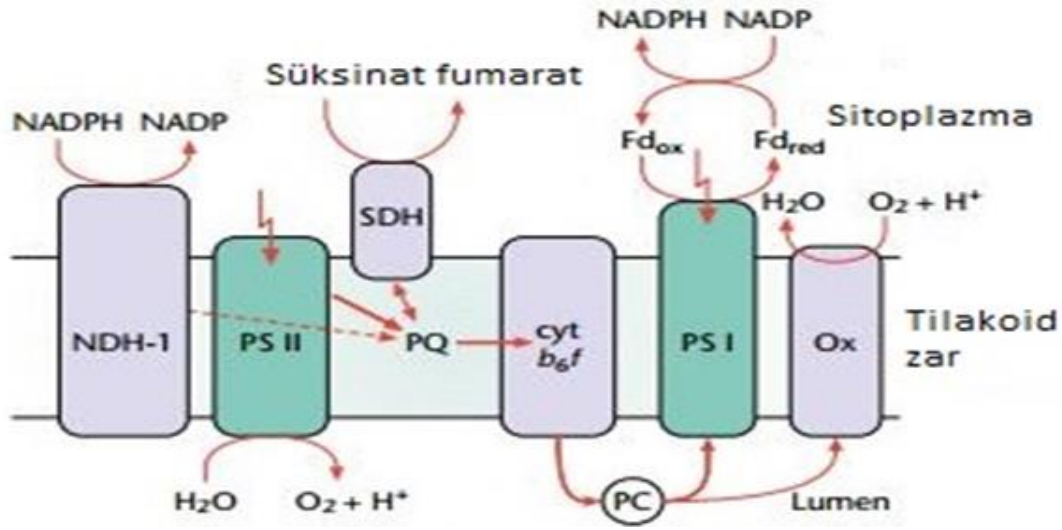
Flamentli siyanobakterilerin geneli, yaygın olarak çevresel değişikliklere adaptasyon sağlayarak çeşitli hücresel farklılaşma süreçlerinden bir ya da birkaçını gerçekleştirebilir. Farklılaşma süreçleri siyanobakterilerin bazı beslenme seçeneklerinden yararlanmasına veya olumsuz koşullara karşı direnç göstermesini sağlar. Bu adaptasyon hayatta kalması için vazgeçilmez bir imkân sunar. Bazı durumlarda filamentli siyanobakteriler, filamentin farklı hücre tipleri arasında besleyici ve düzenleyici çoklu ilişkiler kurarlar ve basit çok hücreli organizmalar olarak kabul edilir. Azot fiksasyonu yapan siyanobakteriler genelde filamentli formdadır. Bu cinsin üyeleri, okyanuslarda küresel N_2 fiksasyonuna önemli bir katkı sağlayarak N_2 'yi oksijenli koşullar altında ışıktaki fiske edebilir. Azot fiksasyonu, sadece anaerobik koşullarda işlev görebilen nitrogenaz enziminin varlığında gerçekleşir. Nitrogenaz, azot gazından amonyum üretimini önemli derecede hızlandıran bir biyolojik katalizördür. Azot bağlayan bakteriler, nitrogenazlarını oksijenden değişik stratejiler geliştirerek korumaktadır. Bu güçlük baş edebilmek için siyanobakterilerin bazı türleri

heterosist adlı yapıları bulundurmaktadır. Bu yapının hücre duvarı çok kalın olduğundan oksijenin içeri girmesini engelleyerek nitrogenazın çalışmasını sağlar. Heterosistler, fotosistem II'lerini kaybederek anaerobik koşullara çok iyi uyum sağlamışlardır. Sadece fotosistem I'i ışıktaki kullanarak ATP üretebilmektedirler. Ayrıca atmosferdeki azot gazını kullanamayan canlılar, bağlı azot açısından prokaryotik canlılara ihtiyaç duymaktadır (El-Shehaw, Lugomela, Ernst ve Bergman, 2003; Fredriksson ve Bergman, 1997; Herrero, Muro-Pastor, Valladares, ve Flores, 2004).

Siyanobakterilerde tilakoidler grana gibi yapılar oluşturmadığından basittir. Sitoplazmalarında glikojen granülleri, siyanofisin granülleri, karboksizomlar, volutin ve gaz vakuolleri bulunmaktadır (Garritty, Brenner, Krieg, Staley ve Manual, 2005). Hücre zarı organizasyonu, türe ve fizyolojik duruma göre değişmektedir. Kromoplazma içerisinde besin depo maddesi bulunur. Bu yedek besin depo maddeleri glikojen, siyanofisin ve volitindir (Cirik ve Gökpinar, 1993).

1.1.1. Siyanobakteri fotosentezinde elektron akışı

Alglerin ve bitkilerin yaptığı gibi siyanobakteriler de fotosentez faaliyetleri sırasında ihtiyaç duydukları elektronları, su molekülünü parçalayarak elektron akışı sağlarlar. Bu şekilde oksijen açığa çıkartıp enerji elde ederler. Fotosentez sistemi fotosistem I ve fotosistem II olmak üzere iki fotoreaksiyon merkezinden oluşmaktadır. Ayrıca bu sistemin tüm elemanları tilakoid membranda kıvrımlı bölgelerde yer alırken bunun yanında tilakoid membranda iki grup anten pigmentleri de bulunur. Enerji dönüşümleri burada gerçekleşir. Işıklı evre reaksiyonları sitoplazmadaki klorofil içerisinde, karanlık evre reaksiyonları ise hücre zarında gerçekleşir. Birinci grubu klorofil a ve karotenoidler oluşturur ve birinci grup anten pigmentleri absorbe ettikleri ışık enerjisini fotosistem I'e göndermektedir (Şekil 1.6). İkinci grubu ise fikobilizomlar içinde yer alan fikobiliproteinler oluşturur. İkinci grup anten pigmentleri fikobiliproteinler de aynı şekilde absorbe ettikleri ışık enerjisini fotosistem II'ye transfer eder böylece fotosentez sonucunda çıkardıkları oksijen gazı, difüzyon yoluyla kolayca hücreyi terk eder (MacColl, 1998; Tunail, 2009). Dünyamızda oksijence zengin bir atmosfer oluşturarak oksijene dayalı metabolizmaları olan yüksek yapıları canlılar ortaya çıkmasında siyanobakterilerin atalarının su molekülünden elektron çıkarma yolu evrimleşmesi ile oluşmuştur (Graham, 2004).



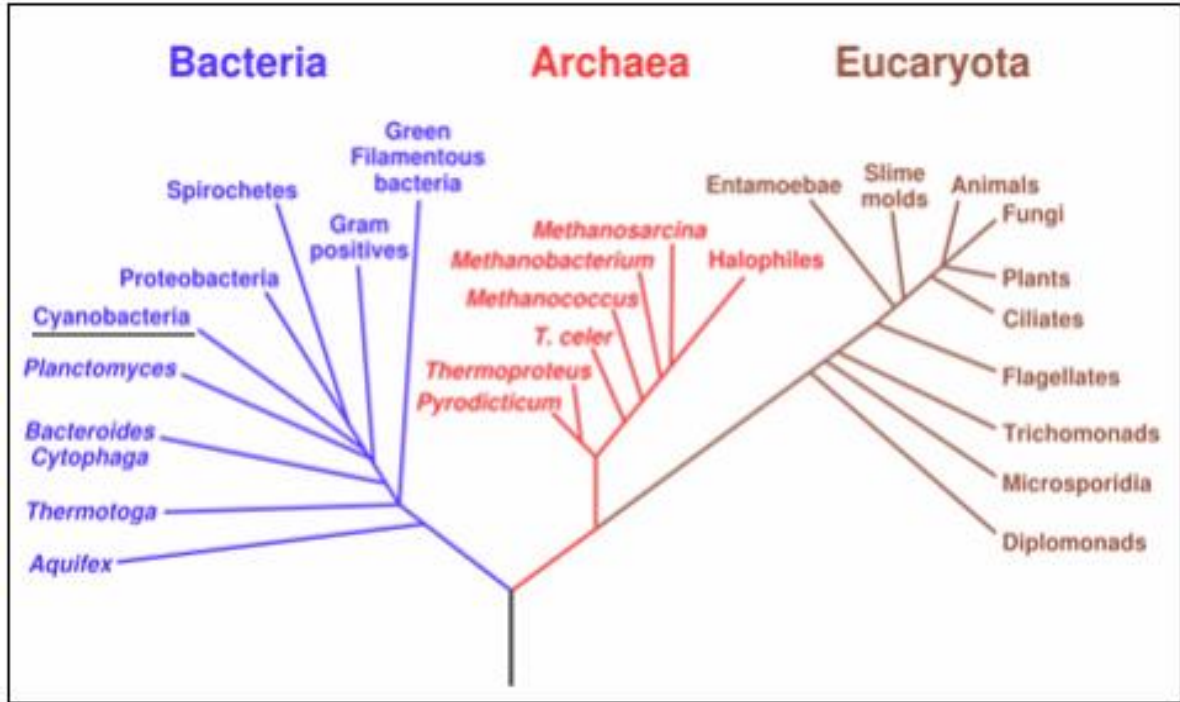
Şekil 1.6. Siyanobakteri fotosentezinde elektron akışı

1.1.2. Siyanobakterilerin sistematığı

En son taksonomik kategorizasyona göre siyanobakteriler, Cyanophyceae sınıfında, 12 takım olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıf 5329 türü içermektedir (M. Guiry ve G. Guiry, 2022). Bu takımlar;

- 1- Spirulinales
- 2- Oscillatoriales
- 3- Gleobacterales
- 4- Nostocales
- 5- Synechococcales
- 6- Pleurocapsales
- 7- Pseudanabaenales
- 8- Chroococcales
- 9- Chroococcidiopsidales
- 10- Gloeomargaritales
- 11- Spongiostromatales
- 12- Thermostichales'tir.

Madigan, Martinko ve Parker'ın 2003'de yaptığı çalışmaya bakıldığında siyanobakterilerin 16S rRNA gen dizilimine göre üç temel grup (Bacteria, Archaea, Eucarya) içindeki konumları Şekil 1.7'de yer almaktadır.



Şekil 1.7. 16S rRNA gen dizilimine göre siyanobakterilerin üç temel grup içindeki konumu

1.1.3. Siyanobakterilerin yaşama ortamları

Siyanobakterilerin yeryüzünde 3,8 milyar yıl önce de yaşadığı bilinmekte olup bu kadar uzun yıllardır var olmaları çevresel şartlara çok iyi adapte olduklarının göstergesidir (Hitzfeld, Höger ve Dietrich, 2000; Sompong, Hawkins, Besley ve Peerapornpisal, 2005; Taton ve diğerleri, 2006). Genellikle sucul ekosistemlerde, okyanuslarda, nemli ılıman topraklarda, kaplıcalarda, çöllerde, kutuplarda, buzul gölleri, nadiren de aşırı tuzlu gibi son derece ekstrem şartlarda yaşamaktadır. Bu gibi ortamlarda hayatta kalmaları donmaya ve çözünmeye dirençli olmalarıyla ilişkilendirilirken denizler ve tuzlu göllerde baskın tür olmalarının nedeni ise yüksek tuzluluğa karşı geliştirdikleri toleranstan kaynaklanmaktadır (Herrero, Valencia ve Dopazo, 2001; Mackay, Stiver ve Tebeau, 1983; Stewart, 1973; Warr, Redd ve Stewart, 1984). Ayrıca siyanobakterilerin çoğalmaları büyük oranda sıcaklığın ve ışığın etkisine bağlı olarak değişmektedir (Ward, Castenholz ve Miller, 2012).

1.1.4. Siyanobakterilerin kullanım alanları

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yağ ile kirlenmiş alanların yoğun bir siyanobakteri çeşitliliği olduğu saptanmıştır. Siyanobakterilerin yağlı bileşikleri parçalama özelliği olması,

atık suların arındırılarak su kalitesinin kontrolüne, güneş enerjisinin biyokütleye dönüşümü, fazla karbondioksitin ortamdan uzaklaştırılması, hava kalitesinin arttırılması, kimyasal maddelerin üretilmesinden enerji elde edilmesine kadar birçok kullanım alanına sahiptirler (Abed ve diğerleri, 2008: 449-462; Converti, Casazza, Ortiz, Perego ve Borghi, 2009; Demirbaş, 2010). Siyanobakteriler karbonhidrat, protein ve yağ asidi fazlaca içerdiğinden hayvan yemi, gıda, kozmetik, katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. Siyanobakteriler üzerine yapılan çalışmalar siyanobakterilerden elde edilen bileşiklerin; Antioksidan, Antimutajenik, Antiviral, Antikanser, Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, Anti tümör, Radikal indirgeme ve yara iyileştirme özelliklerinin bulunduğunu göstermektedir. Son yıllarda ise siyanobakterilerin, fotosentez, fotosentezin genetik kontrolü, genetik ekspresyonun fotoregülasyonu, hücre farklılaşması, azot fiksasyonu gibi biyoteknoloji ve sağlık alanlarındaki kullanımları yoğunlaşmıştır (Koksharova ve Wolk, 2002).

1.2. Pigmentler

Pigmentler gözümüzde ve nesnelerin genellikle dış yüzeylerinde bulunarak renklerin oluşmasını sağlayan özel bileşiklerdir. Renklerin oluşmasında ışık ve pigmentler arasındaki etkileşim sebep olur. Canlılarda renk molekülleri olarak bilinen pigment molekülleri veryüzüne ulaşan görünür dalga boyundaki ışığı absorbe edecek şekilde özelleşmiştir. Absorblama işlemi, bileşiğin spesifik renk değişimlerinin oluşmasını sağlayan yapısının (kromofor), radyant kaynağından ışığı yakalamasıyla oluşur. Renk olarak algıladığımız her şey gözün içinde bulunan özel pigmentlerin kendilerine gelen ışığın dalga boyunundaki bu enerjinin elektrik sinyali olarak beyine iletilmesi ile gerçekleşir. Absorblanmayan bazı enerjiler yansıtılır veya kırılır. Bu pigmentleri harekete geçirerek canlıların renklerinin oluşmasını görünür ışığın aralığı içinde olan ve belirli renklere karşılık gelen dalga boyları sağlar (Erdal ve Ökmen, 2013; Hari, Patel ve Martin, 1994).

Pigmentler, 1. Klorofiller (Klorofil a, Klorofil b), 2. Karotenoidler (Karoten, Likopen, Ksantofiller), 3. Fikobilinler, 4. Flavonoidler [(Flavonlar, Flavonollar, Flavanonlar), Antosiyaninler, Antoksanin, Tanen], 5. Betalainler 6. Betasiyaninler şeklinde gruplandırılmaktadır (Karakurt ve Aslantaş, 2008).

Fotosentetik organizmalar ışık enerjisini absorblayabilmek için organik pigment bulundurur. Bulundurdıkları üç ana pigment sınıfı klorofiller, karotenoidler ve fikobilinlerdir. Klorofiller ve karotenoidler lipofilik yapıda oldukları için alkol, dietil eter, benzen ve aseton içinde çözünürler. Fikobilinler ise hidrofiliktirler ve suda çözünmektedirler (Richmond, 2004).

1.2.1. Klorofil

Doğada en sık görülen tetrapireol içinde yer alan en önemli renk maddeleri klorofillerdir. Klorofil-a ve klorofil-b olmak üzere 2 tip klorofil bulunmaktadır. Tilakoid zarlar da yer alan ışığı absorblayan pigmentler yüksek bitkilerde klorofil- a ve klorofil- b iken, siyanobakterilerde klorofil- a ve fikobilinlerdir. Klorofiller suda çözünmezler fakat yağda çözünmektedir (Glazer, 1987).

1.2.2. Karotenoidler

Karotenoidler bitkiler, algler ve fotosentetik bakterilerde bulunan ve yağda çözülebilen (sarı ve turuncu) doğal pigmentlerdir. İnsanlar tarafından in vivo olarak sentez edilemezler. Yalnızca diyet yoluyla vücuda alınırlar. Karotenoid pigmentleri; α - karoten, β - karoten, γ -karoten, likopendir. Ksantofiller; α - ksantofil, β - ksantofil(lutein), zeaksantin, β -kriptoksantindir. Fotosentetik organizmalar arasında ketokarotenoidler ve karotenoid glikozidler oldukça yaygındırlar. Siyanobakterilerin içerdiği karotenoidler β -karoten, bunların hidroksil ile keto türevleri ve karotenoid glikozidlerdir (Britton, Liaaen-Jensen ve Pfander, 2004: 11).

Alglerin içinde özellikle *Dunaliella bardawil* ve *Dunaliella salina* yüksek miktarda β -karoten üretirken, yeşil alglerde ise genellikle β -karoten, lutein, γ -karotenoidler oluşmaktadır. Siyanobakteriler incelendiğinde çoğunlukla üretilen karotenoidler β - karoten, zeaksantin, echinenone ve kantaksantin tespit edilmiştir. Yüksek miktarda karotenoid üreten bakteriler arasında en bilinen türler; *Staphylococcus aureus*, *Halobacteria*, *Corynebacteria*, *Myxobacteria*, *Streptomyces mediolanus* ve *Brevibacter linens*'tir. Küfler arasında karotenoid üreten *Mucorales* ve *Phycomyces blakesleeanus* (*Mucoraceae*) ve *Blakeslea nispora* (*Choanopheraceae*), *Mucor mucedo*, *Ustilago violacea*, *Neurospora crassa* ve *Fusarium aquadectum* iken maya cinslerinde ise *Saitoella* spp., *Rhodotorula* spp.,

Rhodosporidium spp., *Phaffia* spp. ve *Oosporidium* spp. gelmektedir (Aksan, 2005; Onbaşılı ve Ata, 2013).

1.2.3. Fikobilinler

Fotosentezde rol alan pigmentlerin en önemli görevi güneş ışınlarını absorbe etmektir. Fikobilinler fotosentezde görev yapan pigmentlerdendir. Suda çözünen, koyu renkli ve floresan etkili pigment protein kompleksidir. Fikobilin siyanobakteriler ve kırmızı algler de (Rhodophyta) bulunmaktadır. Alglerin fotosentezinde etkili olan bu pigment protein içeriğinin % 40 kadarını oluşturmaktadır (Erdal ve Ökmen, 2013; Houghton, 1996).

1.3. Siyanobakterilerin İçerdiği Pigmentler

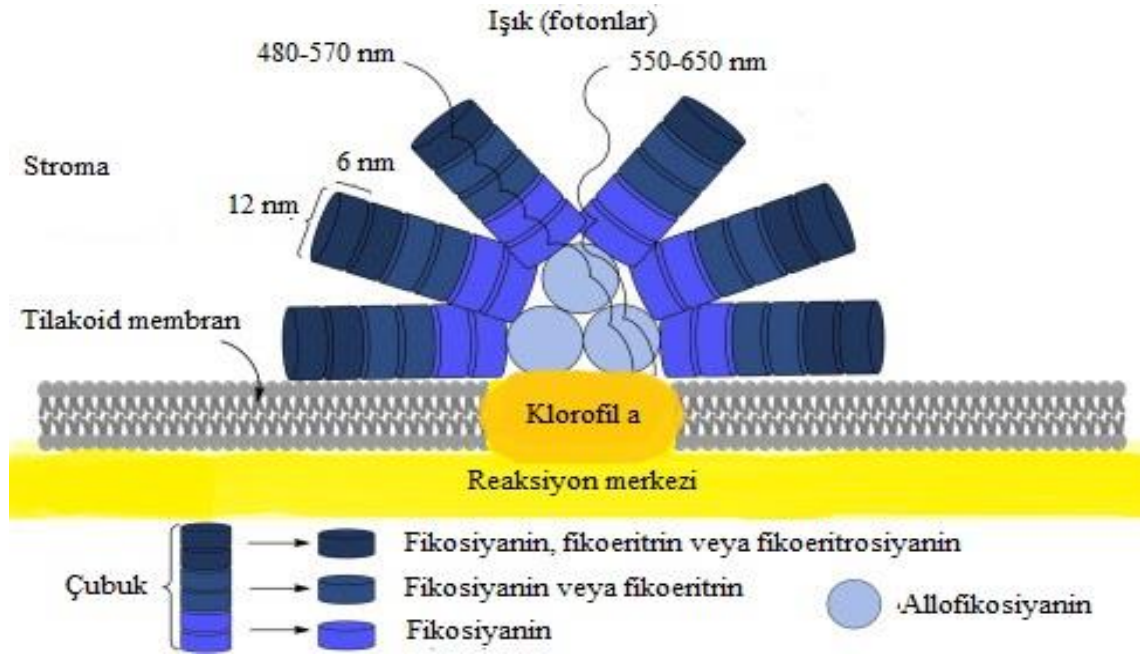
Siyanobakterilerde pigmentler protoplastın dış kısmında çoğunlukla bulunmaktadır. Kromatoplazmada yer alan tilakoidlerin, hücre zarına paralel uzanan serbest sitoplazmik bileşenlerdir. Tilakoid membranlar klorofil-a ve karotenoidleri içerir. Fikobiliproteinler tilakoidlerin dış yüzeyinde yer alırlar. Siyanobakteriler, yapılarında klorofillerden sadece klorofil-a'yı bulundururken klorofil-b'yi bulundurmazlar. Karotenoidlerden β -karoten, z-karoten, zeaksantin, keto karotenoidler (ekinenon ve kantaksantin) ve mikso ksantofil bulunur. Ksantofillerin hemen hemen bütün çeşitleri bulunur (Murthy, Vanitha, Rajesha, Swamy, Sowmya ve Ravishankar, 2005; Tomaselli, 1997; Turkcan ve Okmen, 2012; Yılmaz, Dikbaş ve Bilgüven, 2016).

Siyanobakterilerin çoğunda ışıktan elektron yakalayıcı olarak görev yapan fikobilizomlar bulunmaktadır. Fikobilinler fikobilizomlarda depolanır. Siyanobakterinin rengi çoğunlukla mavimsi yeşil, zeytin yeşili ve sarı kahverengidir. Bu fikobilizomlarda yeşil rengi veren klorofil, mavi renk veren C-fikosiyenin, allofikosiyenin ve bazı türlerde de az miktarda kırmızı renk veren fikoeritrin pigmenti bulunur (Madigan, Martinko ve Parker, 2003).

1.3.1. Fikobiliprotein

Fikobiliproteinler suda çözünür ve siyanobakteri ve kırmızı alglerde tilakoid membranda yer alan fikobilizomların içinde bulunur. Fikobilinler fikoeritrobin, fikosiyanobilin gibi protein olmayan bileşiklerin, proteinlerle birleşmesi ile oluşmaktadır. Fikobiliproteinlerin %75'ini

fikosiyaninler, %12'sini allofikosiyaninler, %12'sini de fikoeritrinler ve pigmentsiz polipeptitler oluşturur (Abalde, Betancourt, Torres, Cid and Barwell, 1998; Tunail, 2009). Fikobiliproteinlerin görevi görünür ışığın daha geniş sınırlar arasında kullanmasını sağlayarak yakalanan ışık enerjisini hücre içerisinde %100'e yaklaşan bir verimlilikle klorofil a'ya aktarmaktır (Porter, Tredwell, Searle ve Barber, 1978; Tunail, 2009).



Şekil 1.8. Fikobilizom yapısı (Zhang ve diğerleri, 1999)

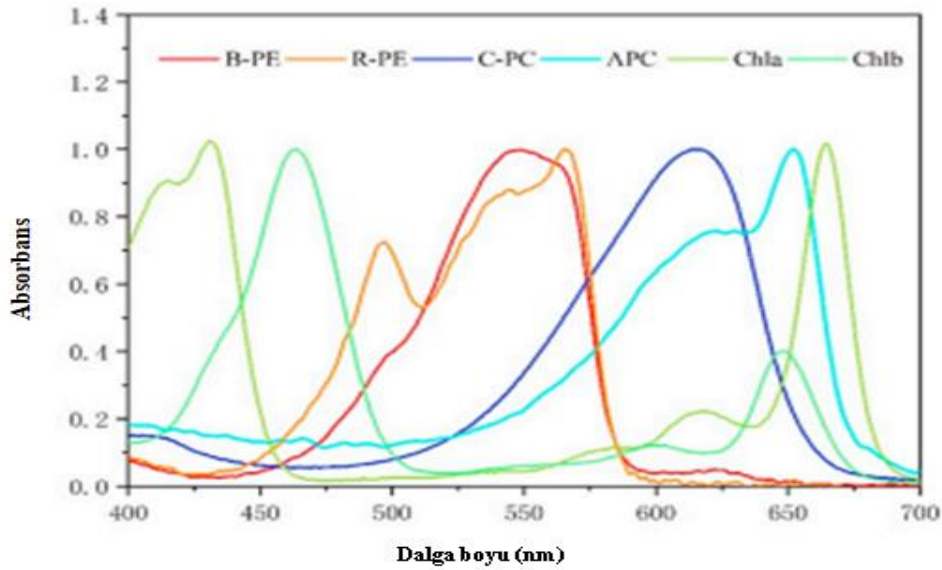
Fikobilizomların merkezinde (Şekil 1.8) yer fikobiliprotein yapısını allofikosiyanin bulunan, fikosiyaninle çevrilmiş yardımcı pigmentler oluşturur. En dış katmanda fikoeritrinde bulunabilir. Fikosiyanin temel bileşendir. Fikobilizomlar ve fotosentetik lameller arasında bağlayıcı pigment görevi üstlenen allofikosiyanin iken, fikobiliproteinleri fikobilizoma ve fikobilizomları tilakoid membrana bağlama işini ise renksiz polipeptidler gerçekleştirmektedir. Fikobiliproteinler asidik ve hidrofilik, bağlantı polipeptitleri bazik ve hidrofobiktir. Bu yapı bileşenler arasında ikincil etkileşimlerin olmasına neden olmaktadır (Abalde ve diğerleri, 1998; Sarada, Pillai ve Ravishankar, 1999; Ke, 2001: 251-269). Yüzey alanını merkezden dışa doğru arttırarak tam verimle fotosentezin gerçekleşmesini sağlayan pigmentler fikosiyanin ve fikoeritrindir. Fikobilizomların büyüklüğü şekil, tür ve ışık koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterir ve bu pigmentler sayesinde siyanobakteriler sucul ortamların besin zincirinde ilk sırada yer alırlar. Pigment-protein kompleksleri 550–650 nm dalga boyları arasındaki ışığı absorblayarak hareket halindeki enerjinin kimyasal enerjiye dönüşümü sağlar (Bryant, 1994; Richmond, 2004).

Fikobiliproteinler absorpsiyon yeteneklerine göre 3 ana gruba ayrılmaktadır. Fikoeritrinler, kırmızı renkli olup 540-570 nm arasında ışığı absorblayan ve floresan ışık altında parlak turuncu renk gösteren bir pigmenttir. Fikosiyeninler, mavi renkli, 610-620 nm dalga boyunda en yüksek absorpsiyonu veren bir pigment olup floresan ışık altında kırmızı renk vermektedir. Allofikosiyeninler, mavi-parlak yeşil renkli olup 650-655 nm'de absorpsiyon vermektedir. Bazı siyanobakterilerde fikoeritrosiyeninde bulunmaktadır. Bu farklılığın sebebi 4. tip fikobiliproteine sahip olmasından kaynaklıdır (Bermejo ve diğerleri, 2003; Gantt, 1981; Glazer, 1981: 51). Fotosentetik organizmalardaki pigmentler Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Fotosentetik organizmalardaki pigmentler (Öncel, Üstün ve Keleş, 2004).

Organizma	Primer pigment	Aksesuar pigmentler	Absorbe ettiği dalga boyu (nm)
Mor bakteriler	b.klo.a	b klo.a b klo.b	Mavi, mor-kırmızı 470-750 Mavi, mor-kırmızı 400-1020
Yeşil kükürt bakterileri	b.klo.a	b klo.c Clorobium klo.	Mavi-kırmızı 470-750
Mavi-yeşil alg	klo.a	fikosiyenin fikoeritrin allofikosiyenin	Turuncu 630 Yeşil 570 Kırmızı 650
Kırmızı alg	klo.a	fikosiyenin fikoeritrin allofikosiyenin	Turuncu 630 Yeşil 570 Kırmızı 650
Kahverengi alg	klo.a	klo.c	Mor, mavi-kırmızı
Yüksek bitkiler	klo.a	klo.b	Mavi, mor-turuncu, kırmızı 454-670
Çoğu yüksek bitki alg ve bakteri		a ve 13 karotenoidler ksantofiller	Mavi-yeşil 450

- Fikosiyenin yeşil ışığı absorblar (615-620A).
- Allofikosiyenin turuncu ışığı absorblar (650-670A).
- Fikoeritrin yeşil ışığı absorblar (495-570A) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Fikobiliproteinlerin absorbans değerleri (Li ve diğerleri, 2019)

Fikobiliproteinlerin kromoforların varlığına göre sınıflandırmada farklılık göstermektedir. Siyanobakteri türleri için C, Rhodophyta (Kırmızı algler/Tohumsuz bitkilerin alt bir bölümü) için R, Bangiales (Bangiophyceae sınıfındaki kırmızı algler) için B kısaltması kullanılmaktadır (Kornprobst, 2014). B-Fikoeritrin ve R-Fikoeritrin kırmızı alglerde en çok bulunan fikoeritrinlerdir (Şekil 1.10). Fikoeritrin Rhodophyta'da bulunan ana pigment olmasının yanı sıra siyanobakterilerden de elde edilebilir (Glazer, 1994). Fikobiliproteinler, siyanobakteriler ve ökaryotik alglerden üretilir (Sun ve diğerleri, 2009). Bu pigmentler suda eriyebilir ve gıdalarda doğal renklendirici olarak kullanılırlar. Bu pigmentler doğal olarak yüksek floresan özelliğine sahiptir. Floresan özelliğinden dolayı; mikroskopi, sitokiyometri, bağışıklık, doku kimyası çalışmalarında floresan prob olarak kullanılmıştır. Fikobiliproteinin yapısında bulunan fikoeritrin çözelti içinde ve fikobilizomda heksamer olarak bulunur (Glazer, 1994).



Şekil 1.10. Fikoeritrin pigmenti içeren siyanobakteri yapısı

1.4. Fikoeritrinin Biyolojik Aktiviteleri

R-fikoeritrinin (R-FE) alt birimlerinin fotodinamik kanser terapisinde seçiciliği arttırıcı bir ajan olduğu bilimsel çalışmalar ile gösterilmiştir (Tan ve diğerleri, 2016). Oksidatif stres enzimleri ve lipit peroksidasyon ile Tip 2 insülin bağımsız diyabet arasında bir ilişki bulunmuştur. C-fikoeritrinin hücrelerde oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu düşürerek diyabetik komplikasyonları engellediği bildirilmiştir (Soni, Visavadiya ve Madamwar, 2009). Fikoeritrinin geleneksel molekül etkileme tekniği ile antikor, immünglobulinler, avidin ve diğer proteinlerle kolayca çapraz bağlanabildiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Guesdon, Ternynck ve Avrameas, 1979; James, 1990). Kırmızı alglerden ve siyanobakterilerden elde edilen fikoeritrin % 82-98 floresan kuantum verimi ile floresan prob olarak kullanılan en yaygın fikobiliproteindir (Glazer, 1994; Oi, Glazer ve Stryer, 1982; V. Pandey, A. Pandey ve Sharma, 2013). Fikoeritrinin serbest radikal süpürücü özelliğinden dolayı insan sağlığını destekleyici nutrasötik ve formasötik alanlarında da kullanılabilir. Fikoeritrinin ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) ve SOR (Serbest Oksijen Radikalleri) süpürme aktivitesi olduğu çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Brabakaran, Venkatesan, Jayappriyan, Roselin ve Thangaraju, 2020; Blas-Valdivia, 2021; Huang, 2002). Fikoeritrin gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine antimikrobiyal aktivitesi de çalışmalarla ortaya konulmuştur (Afreen ve Fatma, 2018; Venugopal ve diğerleri, 2020).

1.4.1. Antimikrobiyal aktivite

Bakteriyal enfeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotikler bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların etkisini azaltırken bazı yararlı organizmaları da olumsuz etkilemektedir. Çağımızın en büyük sorunlarından biri olan sık ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı patojen mikroorganizmaları bakterilere karşı daha dirençli hale getirmektedir (Chang ve Hayes, 1978: 475-493). Antibiyotiklere karşı savunma mekanizması gelişen patojen mikroorganizmaların enfeksiyonlarının artışı siyanobakterilerden elde edilen aktif bileşiklerinin araştırılmasına yönelik ilgiyi arttırmıştır. Çalışmalar incelendiğinde siyanobakterilerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiş ve bilim adamlarını doğal ilaçların etkilerinin üzerine araştırma yapmaya yöneltmiştir (Cankılıç ve Sarıözlü, 2017; Thajuddin ve Subramanian, 2005). Siyanobakterilerin ekstraktlarından elde edilen aktif bileşiklerin izolasyonu yapılmasının sebebi farmokolojik ve biyolojik uygulamalar için

yeni bileşiklerin keşfi ve organizmaların doğal ortamdaki ilişkilerinin daha iyi anlaşılmasıdır (Abedin ve Taha, 2008).

Siyanobakteriler üzerine yapılan araştırmalarda genel olarak siyanobakteri türlerinden elde edilen aktif bileşikler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili olduğu saptamıştır. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında ise Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili oldukları tespit edilmiştir. Siyanobakterilerin Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olmalarının sebebi ise Gram negatif bakterilerin membranlarında bulunan lipopolisakkarit yapısının dış çevreleri ile bağlantıyı engelleyerek adeta bir bariyer görevi yapmasından kaynaklıdır (Dixon, Al-Nazawi ve Alderson, 2004).

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı farklı şekillerde duyarlılık gösterirler. Bu farklılığın sebebi mikroorganizmaların türünden ya da antibiyotiklerin yapısından kaynaklı olup kullanılacak olan antibiyotiğin statik özelliğinin çok iyi belirlenmesi gerekliliğini doğurur. Antimikrobiyal duyarlılık testleri mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılığının saptanmasında kullanılan testlerdir. Dilüsyon ve difüzyon olmak üzere başlıca iki yöntem vardır. Dilüsyon yöntemleri nicel sonuçlar veren antibiyotiğe karşı mikroorganizmanın üremesini inhibe eden veya öldürmek için kullanılan bir teknik olup minimum konsantrasyonu belirlemek için kullanılır. İnokulumun yoğunluğu, inkübasyon süresi ve sıcaklığı, besiyeri, antimikrobiyal maddenin stabilitesi gibi durumlar testin verilerini etkileyen unsurlardır (Rios ve diğerleri 1988; Ötük, 1992). Dilüsyon yöntemiyle siyanobakterilerin MİK ve MBK değerleri saptanırken, bulanıklık miktarına bakarak üremenin varlığı ya da yokluğu hakkında yorum yapılmaktadır. Üreme gerçekleşmemişse en düşük konsantrasyon değeri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak ifade edilir. Bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri ise yeni besiyere alındıktan sonra gelişmenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon veya başlangıçta inoküle edilenin %99.9'u ve daha fazlasını öldüren konsantrasyonu olarak tanımlanır (Burt, 2004). İlk olarak MİK testi uygulanır ve üremenin gerçekleşmediği tüplerden numune alınır. İkinci aşama olan MBK için katı besiyerine ekim yapılır ve katı besiyerinde üremenin gözlemlenmediği ilk besiyeri MBK değerini verir (Altuner, 2008). Dilüsyon yöntemi, broth dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemi olmak üzere iki şekilde uygulanır. Broth dilüsyon tekniği makro ve mikro olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Mikrodilüsyon yöntemi antimikrobiyal maddelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerini belirlemede kullanılır ve agar dilüsyon yöntemine göre daha duyarlıdır (E. Çelik ve E. Çelik, 2007; Işcan ve diğerleri,

2002; Mann ve Markham, 1998). Agar dilüsyon tekniğinde farklı ekim yöntemleri kullanılsa da broth dilüsyon tekniğinden elde edilen MİK verileri yaklaşık olarak aynı çıkmaktadır. Difüzyon tekniği içerisinde disk difüzyon yöntemi en çok kullanılan bir uygulama olup Kirby-Bauer tarafından bulunmuştur. Bu yüzden Kirby-Bauer yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Bu test tekniğinde antimikrobiyal madde kâğıt disklerle emdirilerek test mikroorganizmasının inoküle edildiği besi ortamına difüzyonu ilkesiyle duyarlılığı araştırılır. Antimikrobiyal madde emdirilmiş kâğıt diskler, test mikroorganizmanın inoküle edildiği katı besi ortamına yerleştirilerek uygun sıcaklık ve sürede petriler inkübasyona bırakılır. Petrilerde disk çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçülerek sonuçlar standart zon verilerine göre kıyaslanmaktadır. Bunun sonucunda antimikrobiyal maddelere karşı numunenin duyarlılık durumu hakkında yorum yapılmaktadır (Adıgüzel ve diğerleri, 2005; Benli ve Yiğit, 2005; Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, 2023). Agar difüzyon tekniği antimikrobiyal aktivitenin gözlenmesinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Deans, Simpson, Noble, MacPherson ve Penzes, 1993; Dorman ve Deans, 2000). Agar difüzyon yönteminin hazırlanışı ise test mikroorganizmasını içeren katı besi ortamına belirli çapta kuyucuklar açılarak eşit bir şekilde çözülmüş numune bu kuyucukların içine eklenmektedir. Uygun sıcaklık ve sürede petriler inkübe edilmektedir. Daha sonra kuyucukların etrafında belirgin biçimde üremenin olmadığı inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kullanılan maddenin etkisinin varlığı ya da yokluğu belirlenmektedir. Kullanılan maddenin antimikrobiyal etkisi standart verilere göre değerlendirilmektedir. Antimikrobiyal etki, oluşan inhibisyon zonunun çapı ile doğru orantılı olarak artış ya da azalış göstermesi beklenmektedir (Burt, 2004; Dorman ve Deans, 2000; Schelz, Molnar ve Hohmann, 2006).

1.4.2. Antioksidan aktivite

Antioksidanlar hücrenin zarar görmesine sebep olan bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren molekül ya da atomlardan oluşan serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ve genellikle yapılarında fenolik gruplar taşıyan moleküllerdir (Kahkonen ve diğerleri, 1999; Nagai, Myoda ve Nagashima, 2005; Yazıcı ve Köse, 2004).

Süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH), peroksi (ROO) gibi oksijen içeriğinden oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) kararsız yapıdadır. Bu yapıda olmaları sebebiyle kolaylıkla reaksiyona katılabilmektedirler (Yazıcı ve Köse, 2004). Yaşamsal faaliyetlerin etkisiyle serbest radikaller oluşabilmektedir. Solunum, enzim reaksiyonları,

sigara dumanı, hava kirliliği, UV ışınları, iyonize radyasyon gibi çevresel kaynakların faaliyetleri buna sebep olabilmektedir (Young ve Woodside, 2001). Yüksek aktiviteye sahip bileşikler olan serbest radikallerin geneli dejeneratif düzensizlik, kanser ve buna benzer hastalıklar, kalp damar hastalıkları alzheimer gibi hastalıkların oluşumunda büyük etkiye sahiptir. Antioksidanlar burada önemli bir görev yaparak serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonun bazı zararlı etkilerini minimuma indiremeyebilir (Rice-Evans ve Burdon, 1993). Antioksidanlar sayesinde serbest radikal oluşumunu engellenir ve oluşan serbest radikalleri etkisiz hale getirilmektedir (Serteser ve Gök, 2003). Konsantrasyon miktarı, sıcaklık, substrat çeşidi ve ortamdaki oksijen miktarı gibi faktörlerden etkilenerek antioksidanların aktivitesi farklılık arz etmektedir (Becker, Nissen ve Skibsted, 2004). Antioksidanlar mekanizmalarına göre iki gruba ayrılmaktadır. İlk grup olan birincil antioksidanların görevi radikaller ile reaksiyona girip, zararlı yapılara dönüşmesini engeller ve yeni serbest radikallerin oluşmasının önüne geçmektedir (örneğin; katalaz, peroksidaz, transferin). İkinci grup olan ikincil antioksidanlar ise oksijen radikalini yakalayıp sistem içerisinde oluşacak radikal zincir reaksiyon yapılarının oluşmasını engellemektedir (örneğin; askorbik asit, E vitamini, polifenoller) (Serteser ve Gök, 2003).

Antioksidanlar doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaktadır. Sentetik antioksidanların geneli fenolik formda olup kimyasal yapısından kaynaklı antioksidan aktivite farklılık göstermektedir. Sentetik antioksidanlar butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbutil hidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG)' tır. Doğal antioksidanların en önemlileri ise tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur. Sentetik antioksidanların kanserojen etkilerinin olabileceği ihtimalinden yola çıkan bilim insanlarını doğal antioksidanlar üzerine araştırma yapmaya yöneltmiştir (Madhavi, Deshpande ve Salunkhe, 1995: 431). Son zamanlarda siyanobakterilere olan ilginin artmasının sebebi antioksidan fonksiyonu olan çoklu doymamış yağ asitleri, β -karoten ve diğer pigmentler gibi çeşitli aktif bileşiklere sahip olmasından kaynaklıdır. Siyanobakterilerden elde edilen pigment maddeleri, güçlü antioksidan özelliğe sahiptir. Doğal antioksidanlar arasında karotenoidlerin gelecek vaad eden iyi bir radikal giderici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Bhat ve Madyastha, 2001; Desmorieux ve Decaen, 2005; Johnson, 1995; Pokorny, 1991; Prior, Wu ve Schaich, 2005; Reddy ve diğerleri, 2000; Wang, Pan, Sheng, Xu ve Hu, 2007).

Toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesi için hidrojen atomu transfer (HAT) reaksiyonlarına ve elektron transferine (ET) dayanan yöntemler kullanılır. HAT temelli yöntemlerin geneli azo bileşiklerin bozulması ile oluşan peroksit radikalleri için antioksidan ve substratı etkili olan reaksiyonları kullanmaktadır. Bu yöntemler; Oksijen radikal absorbans kapasite (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP), krosin beyazlatmadır. ET temelli yöntemlerin kullanım amacı ise antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini olup olmadığını renk değişimi ile belirlemektir. Renk değişiminin derecesine bakılarak numunenin antioksidan konsantrasyonu tespit edilir. ET temelli yöntemler ise; toplam Folin- Ciocalteu ayırıcı ile toplam Fenolik yöntemi (FCR), troloks eşiti antioksidan kapasite (TEAC), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP), oksidant olarak Cu^{2+} kullanan toplam antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) ve DPPH radikalleri süpürmedir (Somogyi, Rosta, Pusztai, Tulassay ve Nagy, 2007).

1.4.3. Cu^{2+} indirgeme gücünün belirlenmesi

Tütem ve Apak (1991) tarafından bis (neokuprein) CuCl_2 reaktifi uygun bir oksidant olarak çeşitli indirgen ajanların tayini için kullanılabileceği önerilmiş ve sistein, E vitamini (Tütem, Apak, Günaydı ve Sözgen, 1997) ve askorbik asit'in (Güçlü, Sözgen, Tütem, Özyürek ve Apak, 2005) tayininde başarı bir şekilde kullanılmıştır. Kullanılan bu yöntem ile daha sonra yapılan çalışmada kuprik iyonu indirgeme potansiyelini ölçmek için bitki ekstraktlarında ve insan serumunda denenmiştir. Cu^{2+} indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) olarak adlandırılan bu yöntem ile hidrofilik ve lipofilik antioksidan kapasite kolay bir şekilde belirlenmektedir (Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir, 2004).

1.4.4. Fe^{3+} indirgeme antioksidan aktivite tayin yöntemi

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, onun potansiyel antioksidan aktivitesinin olduğunun kanıtıdır. Elektron transferi yöntemlerinden olan FRAP tekniği düşük pH'da Fe^{3+} 'ün Fe^{2+} 'ye indirgenmesi prensibine dayanmaktadır (Hossain, Ratnayake, Meerajini ve Wasantha Kumara, 2016). FRAP yöntemini avantajlı kılan ve bundan dolayı antioksidan çalışmalarında sıklıkla tercih edilmesini sağlayan unsurlar vardır. Bunlar; basit, hızlı, ucuz ve sağlam olup özel ekipman gerektirmemesidir (Prior ve diğerleri, 2005; Hossain ve diğerleri, 2016; Blagojević ve diğerleri, 2018). TEAC ile FRAP yöntemleri arasında fark

yoktur. Sadece TEAC yöntemi nötral ortamda gerçekleştirilirken, FRAP yönteminin ise asidik (pH) koşullarda gerçekleştirilmektedir (Huang, Ou ve Prior; 2005).

1.4.5. ABTS⁺ katyonik radikali sönümleme aktivitesi

Antioksidan kapasite yöntemlerinden bir diğeri ise TEAC tekniğı olup ilk defa Miller ve arkadaşları (1993) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem daha sonra Re ve arkadaşları (1999) tarafından değiştirilmiş ve gıda örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde yaygın bir teknik olarak kullanılmıştır (Huang ve diğerleri, 2005; MacDonald-Wicks, Wood ve Garg, 2006; Prior ve Cao, 1999). Karakteristik uzun dalga boylu absorpsiyon spektrumu 660, 734 ve 820 nm’de maksimum değer gösteren ABTS⁺ absorbansının antioksidan tarafından inhibisyonu ilkesiyle açıklanmaktadır (Prior ve Cao, 1999). Standart yöntemde hidrojen peroksit ile metmiyoglobinin aktivasyonu sonucu ferrilmiyoglobin oluşturarak 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit) (ABTS)’den ABTS⁺ radikal katyonunun oluşmasını sağlamaktadır. ABTS yönteminde test edilecek numune ABTS⁺ radikalleri oluşumundan önce eklenir ve numune ABTS⁺ radikallerinin oluşumunu azaltıcı etki göstermektedir (Magalhães, Segundo, Reis ve Lima, 2008). Hızlı reaksiyona giren antioksidanların ferrilmiyoglobin radikalini de indirgenmesine sebep olduğu için bu yöntemin olumsuz yönü olarak bahsedilmektedir. Bir başka problem olarak görülen ABTS⁺’nin biyolojik sistemlerde bulunmaması ve bu sistemlerdeki radikallere benzememesidir. Hem sulu hem de lipit fazlarda kullanılabilir olması ise olumlu yönü olup antioksidan kapasiteyi belirlemede her ikisinden de yararlanılabilir. (Huang ve diğerleri, 2005; MacDonald-Wicks ve diğerleri, 2006).

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu yüksek lisans tez çalışması Amasya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi laboratuvarında ve Merkezi Araştırma Uygulama Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

2.1.1. Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar

- Multiplaka okuyucu (Multiskan Go, Thermo)
- Floresans spektrofotometre (Cary Eclipse, Agilent)
- Liyofilizatör (FreeZone 6, Labconco)
- Santrifüj (3-30K, Sigma)
- Manyatik karıştırıcı (MS300HS, Mtops)
- pH metre (Meters, Table top, Isolab)
- Alüminyum blok ısıtıcı (Dri-Block DB-4D, Techne)
- Soğutmalı sirkülatör (PP28R-30-A12E, PolyScience)
- İnkübatör (Innova 43, New Brunswick)
- Optik yoğunluk (OD) (Genesys 10S, Thermo)
- Işık mikroskobu (DM 500, Leica)

2.1.2. Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar

- K_2HPO_4 (Dipotasyum hidrojen fosfat, Merck)
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Magnezyum sülfat heptahidrat, Merck)
- $[CH_2N(CH_2COOH)_2]_2$ (Etilen diamin tetra asetik asit, Sigma)
- $Fe(C_6H_6O_7)$ (Demir(II) sitrat, Sigma)
- $C_6H_8O_7$ (Sitrik asit, Merck)
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (Kalsiyum klorür dihidrat, Merck)
- Na_2CO_3 (Sodyum karbonat, Merck)
- $NaNO_3$ (Sodyum Nitrat, Merck)
- Sephacryl (Sigma)

- CM Sephadex C-50 (Sigma)
- Sephadex C-25 (Sigma)
- DEAE-Cellulose (Sigma)
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (Demir(III) klorür heksahidrat, Merck)
- CuCl_2 (Bakır(II) klorür, Merck)
- $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Bakır(II) klorür dihidrat, Merck)
- $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$ (Neocuproine, Sigma)
- $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (Trizma, Sigma)
- Na_2HPO_4 (Disodyum hidrojen fosfat, Merck)
- NaH_2PO_4 (Sodyum dihidrojen fosfat, Merck)
- $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (Amonyum asetat, Merck)
- $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ (Gallik asit, Merck)
- $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ (BHT, Sigma)
- $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (BHA, Sigma)
- $\text{C}_8\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (BSA, Merck)
- $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ (TCA, Sigma)
- NaCl (Sodyum klorür, Merck)
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Sodyum tiyosülfat, Merck)
- NaOH (Sodyum hidroksit, Merck)
- $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ (Sodyum sitrat, Merck)
- $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Potasyum hekzasiyanoferrat(III), Merck)
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Potasyum persülfat, Merck)
- $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ (Dimetil sülfoksit, Merck)

2.1.3. Çalışmada kullanılan besi ortamlarının hazırlanması

BG₁₁/BG₁₁-0 sıvı besi ortamı

Hazırlanan sıvı besi ortamı için çizelgede verilen bileşenler kullanılmış olup hacim 1000 mL'ye distile su ile tamamlanarak tüm malzemeler 121 °C'de 20 dakika (dk) otoklavlanmıştır (Abelson ve Simon, 1988) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Sıvı besi ortamı hazırlama

Malzemeler	Miktarı (g/L)	BG ₁₁ -1X Miktarı (mL)	BG ₁₁ -0-1X Miktarı (mL)	Solüsyonu	Miktarı (g)
K ₂ HPO ₄ (Merck)	4	10	10	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (Merck)	0,0494
MgSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	6	10	10	H ₃ BO ₃ (Merck)	2,86
[CH ₂ N (CH ₂ COOH) ₂] ₂ (Sigma)	0,1	10	10	CuSO ₄ .5H ₂ O (Merck)	0,079
Fe(C ₆ H ₆ O ₇) (Sigma)	0,6	10	10	ZnSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	0,22
C ₆ H ₈ O ₇ (Merck)	0,6	10	10	MnCl ₂ .4H ₂ O (Merck)	1,81
CaCl ₂ .2H ₂ O (Merck)	3,6	10	10	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Merck)	0,39
Na ₂ CO ₃ (Merck)	3	10	10	Distile su	1L
NaNO ₃ (Merck)	150	10	-		
Solüsyon	-	1	1		
		Distile su ile 1L'ye tamamlanır	Distile su ile 1L'ye tamamlanır.		

BG₁₁/BG₁₁-0 katı besi ortamı

Hazırlanan katı besi ortamı için çizelgede verilen bileşenler kullanılmış olup hacim 500 mL'ye distile su ile tamamlanarak tüm malzemeler 121 °C'de 20 dk otoklavlanmıştır (Abelson ve Simon, 1988) (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Katı besi ortamı hazırlama

Malzemeler	Miktarı (g/L)	BG ₁₁ -1X Miktarı (mL)	BG ₁₁ -0-1X Miktarı (mL)	Solüsyonu	Miktarı (g)
K ₂ HPO ₄ (Merck)	4	10	10	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (Merck)	0,0494
MgSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	6	10	10	H ₃ BO ₃ (Merck)	2,86
[CH ₂ N (CH ₂ COOH) ₂] ₂ (Sigma)	0,1	10	10	CuSO ₄ .5H ₂ O (Merck)	0,079
Fe(C ₆ H ₆ O ₇) (Sigma)	0,6	10	10	ZnSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	0,22
C ₆ H ₈ O ₇ (Merck)	0,6	10	10	MnCl ₂ .4H ₂ O (Merck)	1,81
CaCl ₂ .2H ₂ O (Merck)	3,6	10	10	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Merck)	0,39
Na ₂ CO ₃ (Merck)	3	10	10	Distile su	1L
NaNO ₃ (Merck)	150	10	-		
Solüsyon	-	1	1		
		Distile su ile 500 mL'ye tamamlanır.	Distile su ile 500 mL'ye tamamlanır.		

Otoklavlanarak steril edilen besi ortamı (BG₁₁/BG₁₁-0) ve agar powder (Sigma) (12 g/ 500 mL) homojen bir şekilde karıştırılarak petrilere dökülmüştür. Katılaştıktan sonra 4 °C'de saklanmıştır.

Nutrient agar (NA) plakları

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakterilerin ve mayaların, geliştirilip stoklanması için kullanılan bu plaklar prosedüre göre 1 L çözelti için 20 g Nutrient Agar (Merck) tartılarak hazırlanan karışım 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak (Nüve-Steamart, OT-90L) steril edilip, petrilere dökülmüştür. Katılaştıktan sonra 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Nutrient broth (NB) sıvı besi ortamı

Bakterilerin kültürde büyütülmeleri amacı ile kullanılan bu besi ortamı prosedüre göre 1 L çözelti için 8 g Nutrient Broth (Merck) tartılarak hazırlanan karışım 121 °C’de 20 dk otoklavlanarak steril edilip, 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Cernek gölü örnekleme noktaları

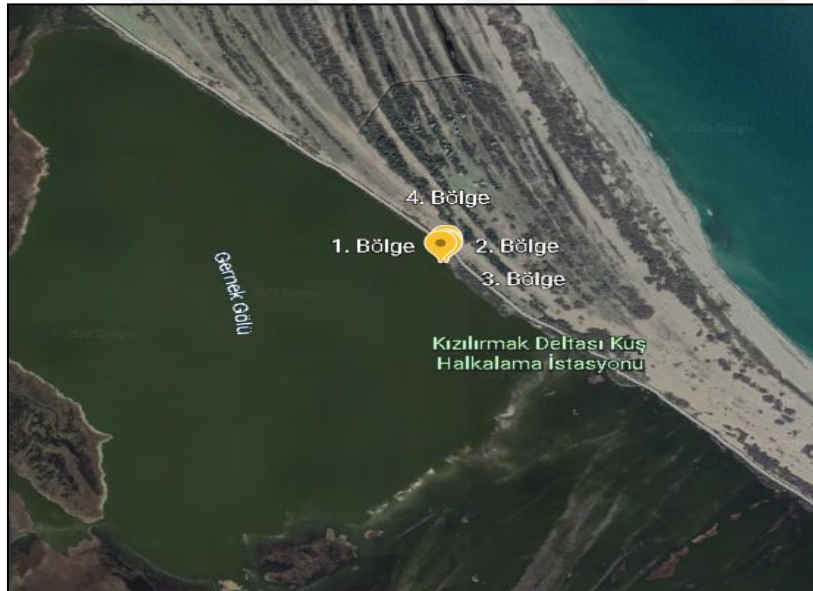
Bu çalışmada Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kültür koleksiyonundan sağlanan Samsundaki Cernek Gölü’nden (Şekil 2.1) izole edilen izolat (C32) 20 Ağustos 2019’da örnekleme yapılarak elde edilmiştir. Cernek Gölü’nden su örneklerin alındığı koordinatlar Çizelge 2.3’de ve örneklem bölgeleri Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Cernek Gölü (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri)

Çizelge 2.3. Cernek Gölü’nden su örneklerin alındığı koordinatlar

	Bölge İsmi	Bölge Koordinatı
1	1. Bölge	41.646110, 36.079445
2	2. Bölge	41.646110, 36.079166
3	3. Bölge	41.646110, 36.079445
4	4. Bölge	41.646390, 36.079445



Şekil 2.2. Cernek Gölü örneklem bölgeleri (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri)

2.2.2. Siyanobakterilerin kültivasyonu

Siyanobakterilerin çok fazla üretimi sağlanabilmesi için BG₁₁ besi ortamına ilave edildi. Daha sonra ökaryotik mikroorganizmaların gelişmesini engellemek için 0,1 g/L Cycloheximide eklenerek siyanobakteriler uygun sıcaklık (25 °C) ve ışık yoğunluğunda 4-6 hafta süre ile çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Saf izolatların sıvı besiyerinde geliştirilmesi

2.2.3. Fikoeritrin içeren ekstraktın elde edilmesi

BG₁₁/BG₁₁-0 besiyerinde geliştirilen siyanobakteriler 10 000 rpm’de santrifüjlenip elde edilen pelet besiyer ortamından ayrılmıştır. Pelet 3 defa saf su ile yıkanıp liyofilize edilmiş (Şekil 2.4) örneğin kuru ağırlığı tartıldıktan sonra sıvı azot ile havanda parçalanıp üzerine 100 mM fosfat tamponunun (pH: 7,2) 50 mL’si ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 1 s (buz banyosu içerisinde) karıştırılmıştır. Bu süre sonunda, örnek 50 mL’lik bir tüp içerisine alınarak sonikatör yardımıyla 1 dk % 70 genlik (amplitude) ile, 5 kez, buz banyosu içerisinde sonike edilmiştir. 14 000 rpm’de 30 dk 4 °C’de santrifüj edilerek C-FE’yi içeren ekstrakt dekante edilip bir sonraki adıma kadar 4 °C’de saklanmıştır (Şekil 2.5).

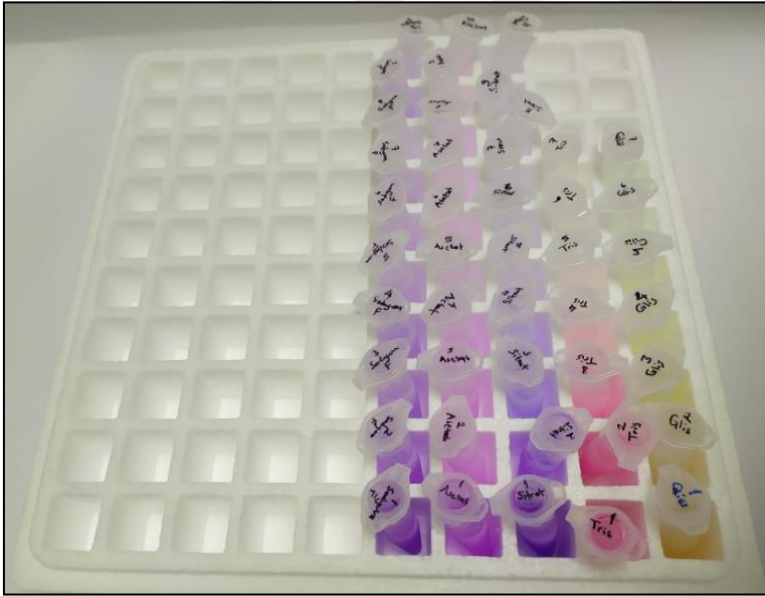


Şekil 2.4. Liyofilizatör cihazı



Şekil 2.5. Liyofilize edilmiş siyanobakteri izolatları

FE ekstraksiyonunun optimizasyonu Şekil 2.6’da gösterilmiştir.

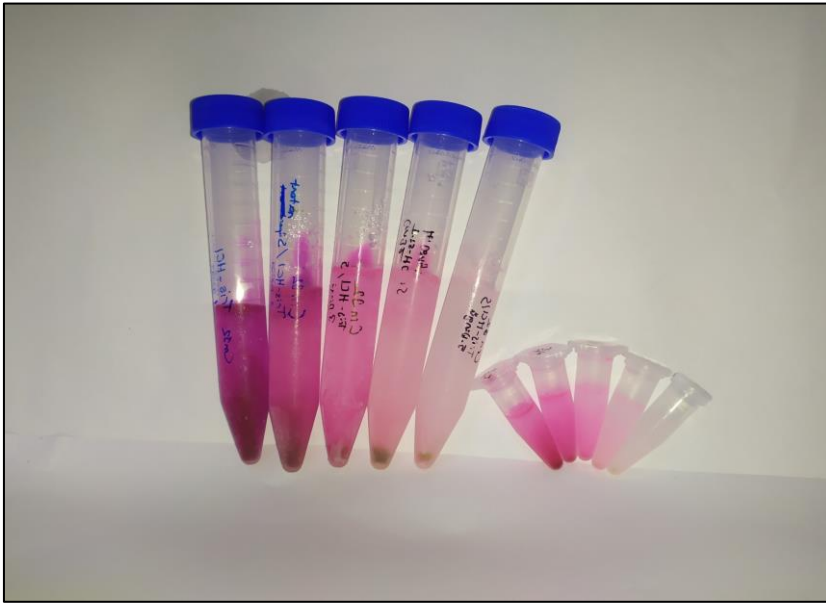


Şekil 2.6. FE ekstraksiyonunun optimizasyonu

FE, Tris-HCl tamponu ile dondurma ve çözme metodu (Şekil 2.7) uygulanarak rengi açılana kadar bu işleme devam edilmiştir (Şekil 2.8).



Şekil 2.7 FE, Tris-HCl tamponu ile dondurma ve çözme metodu



Şekil 2.8. FE, Tris-HCl tamponu ile renk açılana kadar dondurma ve çözme işlemi

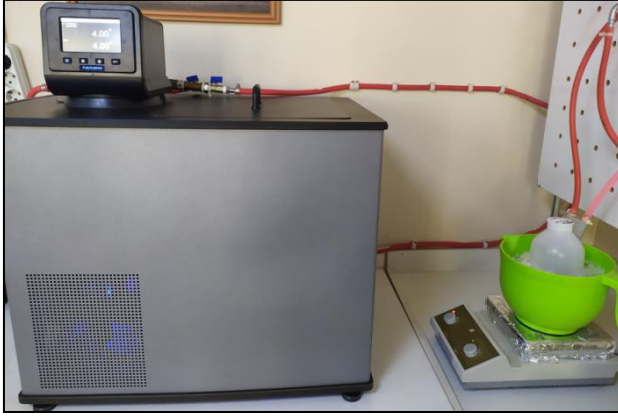
2.2.4. Protein tayini

Örneklerin toplam protein içeriği Lowry, Rosebrough, Farr ve Randall (1951) metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla, önce standart grafik oluşturmak için 1000 µg/mL derişiminde hemoglobin çözeltisi hazırlanıp gerekli seyreltmeler yapılarak üzerine 5 mL % 2'lik Na₂CO₃ içerisinde % 1 Na-K tartarat ve % 0,5 CuSO₄ içeren çözeltiden eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dk bekletilip vorteks üzerinde karıştırılan her bir tüp üzerine 500 µL 0,5 N Folin and Ciocalteu's phenol belirteci ilave edilmiştir. 30 dk oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletildikten sonra 660 nm'de kör çözeltisine karşı absorbans değeri ölçülmüştür. Örneklerin protein içeriği belirlenirken standart olarak kullanılan protein yerine örnek çözeltisinden 500 µL alınarak aynı işlemler tekrarlanmıştır.

2.2.5. Amonyum sülfat çöktürmesi

Amonyum sülfat yöntemi proteinlerin farklı iyonik şiddette çökme özelliğinden yararlanılarak yapılan bir ayırma işlemidir. Proteinler çok değerlikli elektrolitler olduğundan iyonlara benzer şekilde hareket ederler. Yüksek tuz derişimlerinde, protein moleküllerini çevreleyen ve çözünür halde tutan su molekülleri, tuzdaki iyonlar tarafından çekilir ve proteinler çöker. Bu çökmede molekül ağırlığı ve iyonik şiddet etkilidir. Dolayısıyla değişik tuz derişimlerinde değişik proteinler çöker (Lehninger, Nelson ve Cox,1993). Amonyum sülfat düşük sıcaklıkta su içerisinde yüksek oranda çözünür ve bu bakteri oluşumunu önlemesinin yanı sıra protein saflaştırmasına ve proteinin konsantre edilmesine yardımcı olur (Patel, Mishra, Pawar ve Ghosh, 2005).

Bu amaçla, ilk aşamada kırmızı renkli ekstrakt üzerine, katı ve toz halindeki amonyum sülfattan % 25 doygunlukta olacak şekilde ilave edilip soğutmalı sirkülatör cihazı ile 4 °C'de (Şekil 2.9) gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve 14 000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir (Şekil 2.10). Süpernatant alınarak % 60 doygunlukta olacak şekilde amonyum sülfattan tekrar ilave edilip 4 °C'de gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 14 000 rpm'de 30 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen pelet bir miktar fosfat tamponunda çözülerek bir sonraki adıma kadar 4 °C'de saklanmıştır. Örnek fazla tuzun giderilmesi amacıyla Sephadex G-25 kolondan geçirilmiştir.



Şekil 2.9. Soğutmalı sirkülatör ile amonyum sülfat çöktürme işlemi (PolyScience)



Şekil 2.10. Amonyum sülfat çöktürme işleminden sonra santrifüj uygulaması

2.2.6. Sephadex G-25 kolon kromatografisi

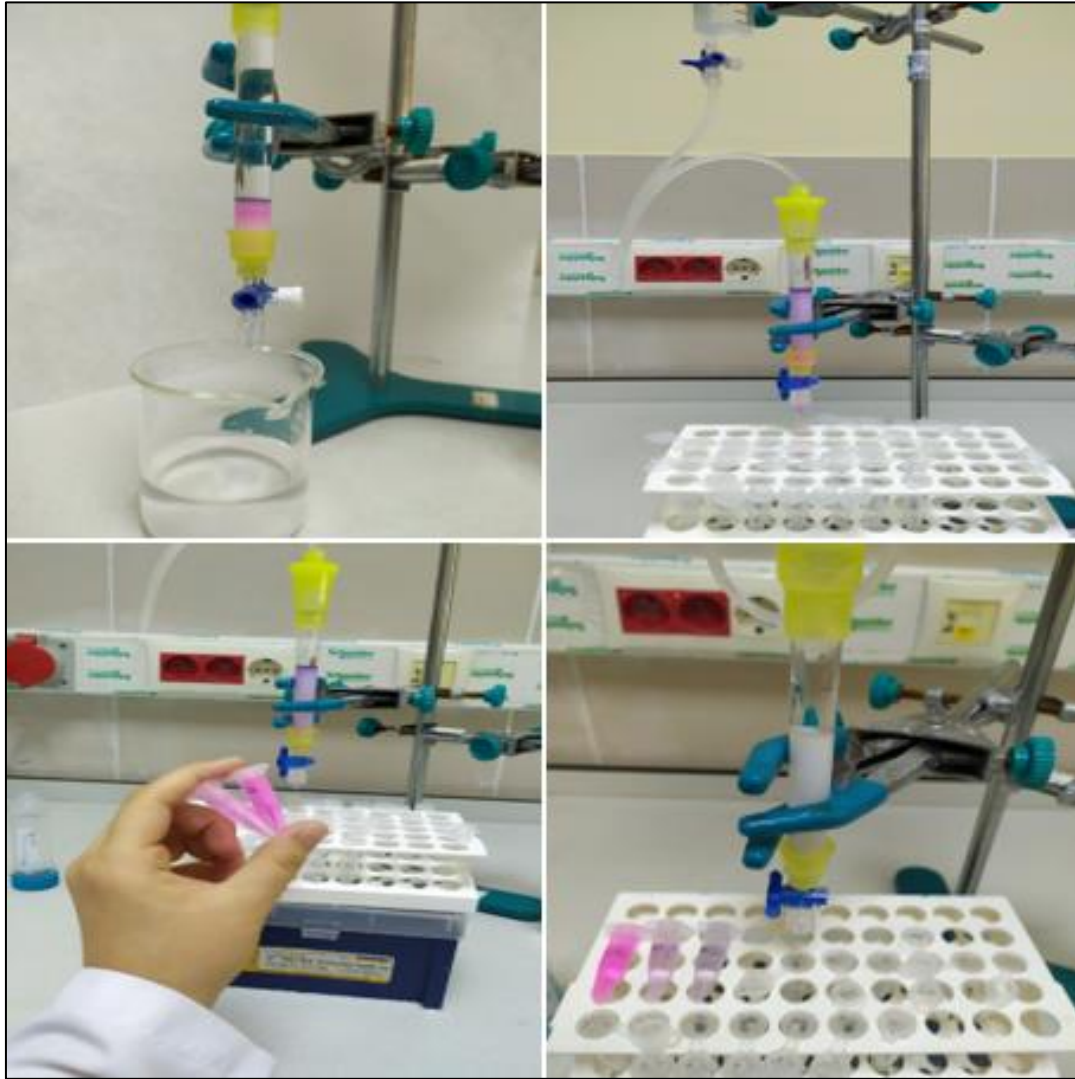
Amonyum sülfat çöktürme basamağında elde edilen ve C-FE içeren pelet fosfat tamponunda çözünmüştür. Önceden şişirilmiş Sephadex G-25 (medium) cam kolona (5x1 cm) paketlenmiştir. Örnek, 1 mL olacak şekilde kolona yüklenip fraksiyonlanmıştır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Elde edilen çökeğin Sephadex G-25 kolondan geçirilme işlemi

2.2.7. DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi

Örnekler daha önceden sodyum asetat tamponu (50 mM, pH: 5,5) ile dengelenmiş DEAE-selüloz kolona yüklenmiştir. Akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlandıktan sonra 0-0,5 M NaCl ile doğrusal gradient uygulanarak örnek fraksiyonlanmış, fraksiyonların saflık oranı kontrol edilerek daha sonraki analizler için 4 °C’de saklanmıştır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. 0-0,5 M NaCl ile doğrusal gradient uygulanarak numunenin eppendorf tüplere fraksiyon toplama işlemi

2.2.8. Saflaştırılmış C-FE'nin UV-VIS ve floresans spektrumlarının ölçülmesi

İyon değişim kromatografisi sonucunda elde edilen fraksiyonların UV-VIS spektrumu taraması mikrolaka okuyucuda (Multiskan Go, Thermo) 230-900 nm arasında gerçekleştirilip maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu belirlenmiştir. Örneklerin floresans taraması bir floresans spektrofotometre yardımıyla (Cary Eclipse, Agilent) gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.13). Eksitasyon dalga boyu 566 nm olarak seçilip maksimum emisyon verdiği dalga boyu derişim bağımlı olarak incelemiştir.



Şekil 2.13. Floresans spektroskopisi analizi

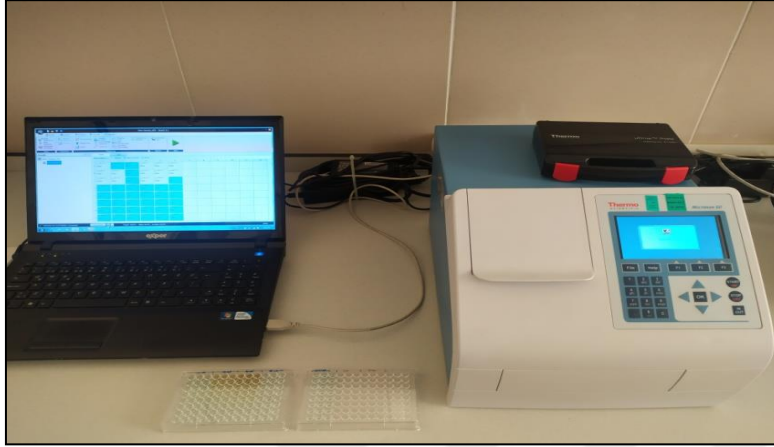
2.2.9. C-FE'nin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması

Saflaştırılan C-FE'nin biyolojik aktivite araştırması kapsamında, $ABTS^{+ \cdot}$ katyonik radikali sönmüleme aktivitesi, Fe^{3+} indirgeme gücü, Cu^{2+} indirgeme gücü ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

2.2.10. $ABTS^{+ \cdot}$ katyonik radikali sönmüleme aktivitesi

Saflaştırılmış C-FE'nin $ABTS^{+ \cdot}$ katyonik radikali sönmüleme aktivitesi Re ve diğerleri (1999) metoduna göre belirlenmiştir. Standart antioksidan olarak BHA kullanılmıştır. $ABTS^{+ \cdot}$ katyonik radikali çözeltisi son derişimleri 7 mM ABTS ve 2,45 mM $K_2S_2O_8$ olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan $ABTS^{+ \cdot}$ çözeltisinin absorbansı mikrolaka okuyucu yardımıyla (Multiskan Go, Thermo) 734 nm'de 0.720 ± 0.02 'e ayarlanmıştır (Şekil 2.14).

Farklı derişimlerde 30 µl örnek 170 µl ABTS⁺ çözeltisi ile karıştırılıp 30 dk karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda 734 nm’de absorbansı ölçülüp sonuçlar IC₅₀ değeri ile ifade edilmiştir. IC₅₀ değeri ortamdaki ABTS⁺ çözeltisinin yarısını sönmüleyebilen örnek derişimini ifade etmektedir (Gülçin, Elias, Gepdiremen, Chea ve Topal, 2010).



Şekil 2.14. Mikroplaka okuyucu (Multiskan Go, Thermo)

2.2.11. Cu²⁺ indirgeme gücünün belirlenmesi

Cu²⁺ indirgeme gücü Apak ve diğerleri (2006) metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla, farklı derişimlerdeki örnek mikroplaka kuyucuklarına koyulup üzerine hacmi 65 µL olacak şekilde saf su eklenmiştir. Daha sonra, sırasıyla bütün kuyucuklara 50 mL CuCl₂ (100 mM), 50 mL Neokuproin (7,5.10⁻³ M), 50 mL NH₄Ac (1 M, pH: 7) eklenip 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 450 nm’de absorbans değeri (Multiskan Go, Thermo) okunup kaydedilmiştir. Sonuçlar BHA standardının Cu²⁺ katyonunu indirgeme gücü ile kıyaslanmıştır.

2.2.12. Fe³⁺ katyonu indirgeme gücünün (FRAP) belirlenmesi

Fe³⁺ katyonu indirgeme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla, mikroplaka kuyucuklarına farklı derişimlerde 30 µL örnek eklenmiştir. Daha sonra üzerine sırasıyla 50 µL fosfat tamponu (200 mM pH: 6,6) ve 50 µL % 1’lik K₃[Fe(CN)₆] çözeltisinden ilave edilerek 50 °C’de 20 dk boyunca bir ısıtıcı blok (Dri-Block DB-4D, Techne) yardımıyla inkübe edilmiştir (Şekil 2.15). İnkübasyon sonunda 50 µL % 10’luk

TCA ve 20 µL % 0,1'lik FeCl₃ ilave edilip 700 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Standart antioksidan olarak galik asit (GA) kullanılmış olup sonuçlar formül 1'e göre indirgeme gücü olarak hesaplanmıştır (Oyaizu, 1986; Topal ve diğerleri, 2016).

$$\text{İndirgeme Gücü} = \frac{\text{Eğim}_{(\text{örnek})}}{\text{Eğim}_{(\text{GA})}}$$

1

Eğim değerleri grafiğin doğrusal olarak arttığı bölgede hesaplanmıştır.

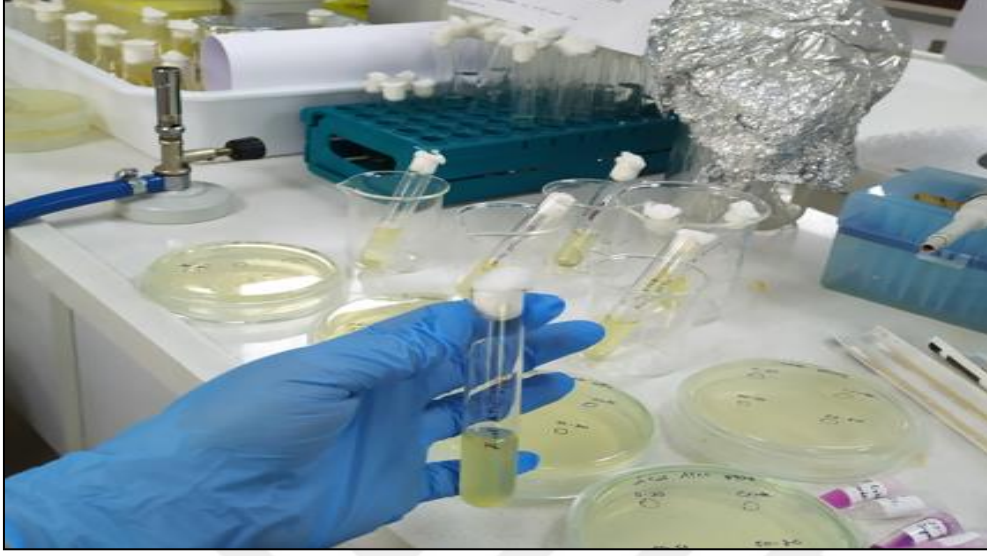


Şekil 2.15. Alüminyum ısıtıcı blok ve Mikroplaka okuyucu

2.2.13. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Bu çalışmada Cernek Gölü'nden izole edilen izolata (C32) ait ekstraktın Gram pozitif (+) bakterisi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Gram negatif (-) bakterisi *Pseudomonas aeruginosa* NRLL 132679 ve mayalardan ise *Candida albicans* ATCC 14053 test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal aktivitesi MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Test mikroorganizmaları 37±0,1 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda optik yoğunluğu (OD) ayarlamak için spektrofotometre (Genesys 10S, Thermo) ile 600 nm'deki bakteri absorbansı 0,1 A ayarlanmıştır. 96 kuyucuklu plate'de 1 mg/mL konsantrasyondan başlanarak fikoeritrinin yarı yarıya seri dilüsyonu yapılmıştır (Şekil 2.16). Dilüsyonlar üzerine 100 µL test mikroorganizması eklenerek 37±0,1 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üremeyi engelleyen ekstre konsantrasyonu gözlemlenmiştir. Daha sonra NA plaklarına steril şartlarda çizgi ekim yapılarak 37±0,1 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonlandığında MİK değerleri NA plaklarında gözlemlenerek üremenin olmadığı kuyucukların konsantrasyon değeri baz alınmıştır (Zgoda ve Porter, 2001).

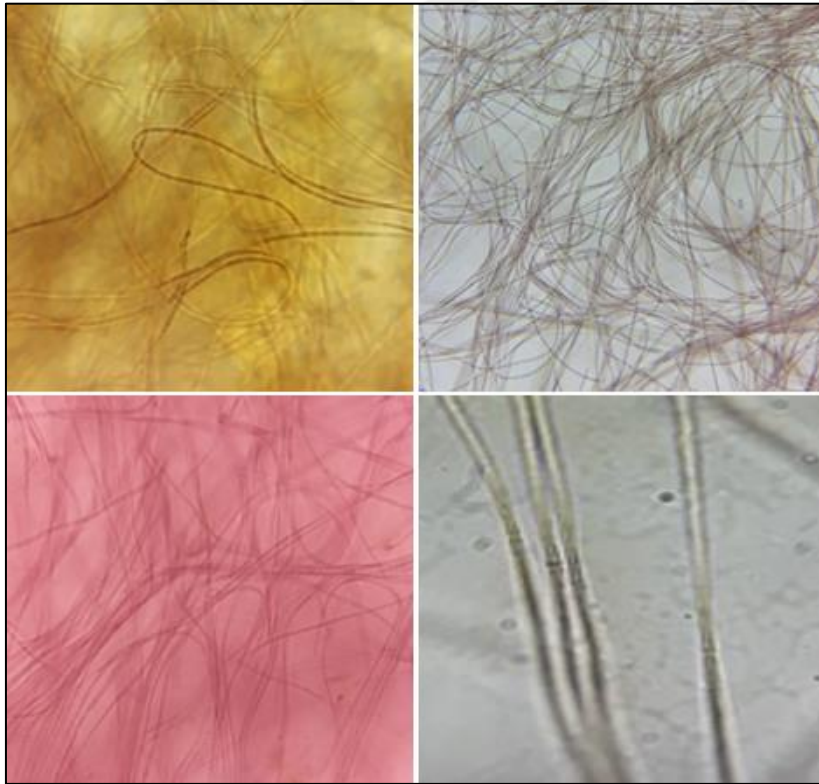


Şekil 2.16. Minimum inhibisyon konsantrasyonu deneysel çalışmaları

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Su Örneklerinden Siyanobakteri İzolasyonu

Bu çalışma Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteriler ile yapıldığı için izolatlar Cernek Gölü'nün baş harfi olan C ile kodlanmış olup gölden elde edilen C32 izolatıyla çalışmalar yürütülmüştür. Önceki çalışmalarda Cernek Gölü'nden izole edilen koyu kırmızı kahve renkli filamentli siyanobakterinin (izolat C32) 16S rRNA ITS sekans analizi sonucunda *Leptolyngbya compacta* ile % 99,23 benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Ceniklioğlu, 2022). Işık mikroskobu (Leica DM 500) altında 40x objektifte *Leptolyngbya compacta* izolatının morfolojik incelenmesi yapılarak mikroskop fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Saf siyanobakteri türünün mikroskobik görünümü (C32; Flamentli)

3.2. Fikoeritrin Saflaştırma Bulguları

C-FE'nin siyanobakteriden saflaştırılmasında kullanılan amonyum sülfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ çöktürmesi, anyon değişim kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisine ilişkin sonuçlar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

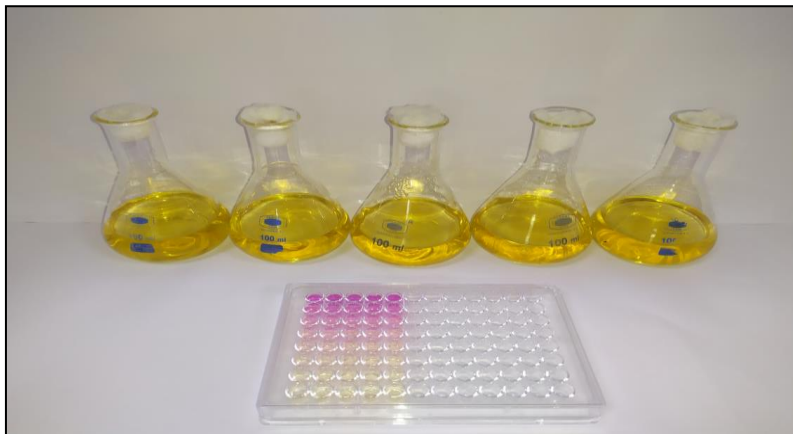
Çizelge 3.1. Fikoeritrinin saflaştırılma çizelgesi

Örnek adı	C-FE derişimi (µg/ml)	C-FE saflık oranı
Siyanobakteri ekstraktı	4,66	1,85
% 0-25 (NH ₄) ₂ SO ₄ çöktürmesi	-	0,85
% 25-65 (NH ₄) ₂ SO ₄ çöktürmesi	84,1	2,33
DEAE-Selüloz Kromatografisi	33,9	3,66
Jel Filtrasyon Kromatografisi	6,2	10,6

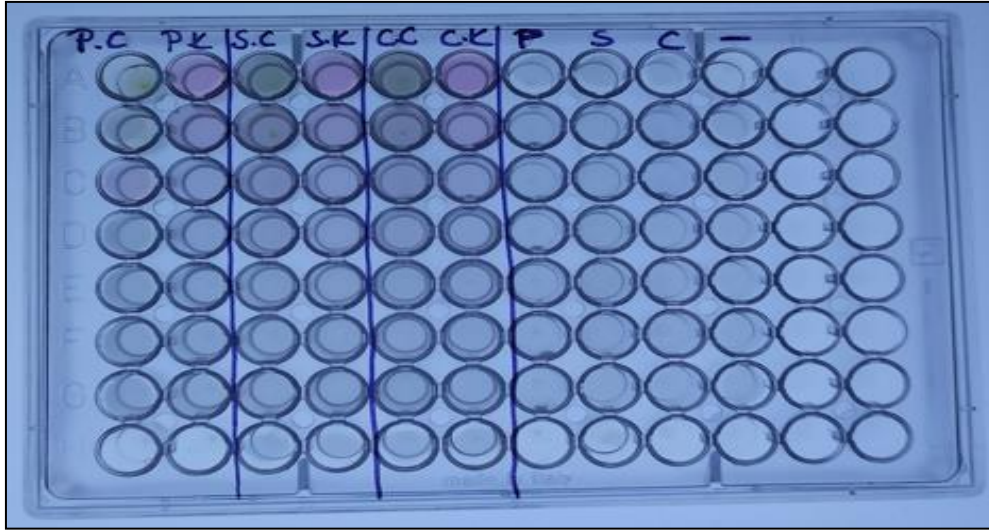
Siyanobakterilerden elde edilen ekstrakttaki C-FE'nin saflığı 1,85 olarak belirlenmiştir. % 0-25 (NH₄)₂SO₄ çöktürmesi sonucu saflık oranı düşmüş olup ekstraktta C-FE derişimi miktarının çok düşük olması sebebiyle hesaplanamamıştır. % 25-65'lik (NH₄)₂SO₄ çöktürmesi yapılmış ve saflık oranı 2,33 olarak hesaplanmış olup C-FE derişimi 84,1 µg/ml bulunmuştur. Anyon değişim kromatografisi sonucunda C-FE'nin saflık oranı ve derişimi, sırasıyla 3,66 ve 33,9 µg/ml hesaplanmıştır. Saflaştırma işleminin son basamağındaki jel filtrasyon kromatografisi ile 10,6 saflık oranında C-FE elde edilmiş olup derişimi 6,2 olarak hesaplanmıştır.

3.3. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Siyanobakteri ekstraktının ve saflaştırılan fikoeritrinin MİK değeri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 3.2). Cernek Gölü'nden izole edilen C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin MİK plate görüntüsü Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) deney düzeneği



Şekil 3.3. Cernek Gölü’nden izole edilen C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin MİK plate görüntüsü

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında gram pozitif (+) bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, gram negatif (-) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* NRLL 132679 ve mayalardan *Candida albicans* ATCC 14053 kullanılmıştır. *Leptolyngbya compacta* türü ile ilişkilendirilen C32 kodlu izolatın crude ekstraktının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisinin zayıf olduğu (MİK > 12 mg/mL), saflaştırılan fikoeritrinin ise *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 türüne karşı önemli derecede antimikrobiyal etkiye sahip olduğu (MİK: 6 mg/mL) tespit edilmiştir. Saflaştırılan fikoeritrinin *Pseudomonas aeruginosa* NRLL 132679 ve *Candida albicans* ATCC 14053 üzerine MİK değerinin 12 mg/mL olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Siyanobakteri ekstraktının, bakteriyel test mikroorganizmaları üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerleri (mg/mL)

Test Mikroorganizmaları	C32 Crude	C32 Saf Fikoeritrin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>12	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRLL 132679	>12	12
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	>12	12

Tüm dünyada medikal ve zirai alanda ciddi bir sorun olmaya başlayan antimikrobiyal direnç sık ve bilinçsiz antibiyotik uygulamaları sonucunda daha da artmaktadır. Hayvan ve insan sağlığını ciddi olarak tehdit eden bu duruma bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri

direnç sebep olmaktadır. Direnç mekanizması üzerinde yapılmış olan biz dizi çalışmalar ile antimikrobiyallerin klinik kullanımları tanımlanmıştır (Helms, Vastrup, Gerner-Smidt ve Mølbak, 2002). Bakteriyal direncin nasıl oluştuğunun bilinmesi ile antimikrobiyaller, mikroorganizmalar ve çevre üzerindeki etkileşimin anlaşılması kolaylaşacaktır. Duyarlı bir bakteri dirençli duruma gelebilmektedir. Bunun için birçok yol mevcut olmasının yanı sıra genel olarak antimikrobiyallere karşı direnç içsel veya dışsal olabilir. Bakteri tarafından taşınan direnç genlerinin varlığına bağlı olması durumuna içsel direnç neden olurken, iyileştirici özelliği olmayan antimikrobiyallerin kullanımı ya da ani mutasyonlara bağlı genomdaki değişimler gibi birçok nedene dışsal direnç sebep olabilmektedir. Özellikle direnç gelişimindeki en yaygın sorunlardan birisi olarak nitelendirilen durum ise tedavi edici dozun altında madde kullanımıdır (Mc Dermott, Walker ve White, 2003).

Fikoeritrinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesine yönelik çalışmalar daha çok disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup MİK değerinin belirlenmesine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar incelendiğinde kuraklığa dayanıklı olan *Nostoc* sp. suşundan saflaştırılan fikoeritrinin 3,9-7,8 µg/mL konsantrasyonu aralığında gram pozitif ve negatif bakteriler ve funguslar üzerine antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Nowruzi, Fahimi ve Lorenzi, 2020). Bu çalışmanın verilerine göre *Leptolyngbya compacta* türünden saflaştırdığımız fikoeritrinin antimikrobiyal aktivitesinin daha düşük olduğu bulunmuştur.

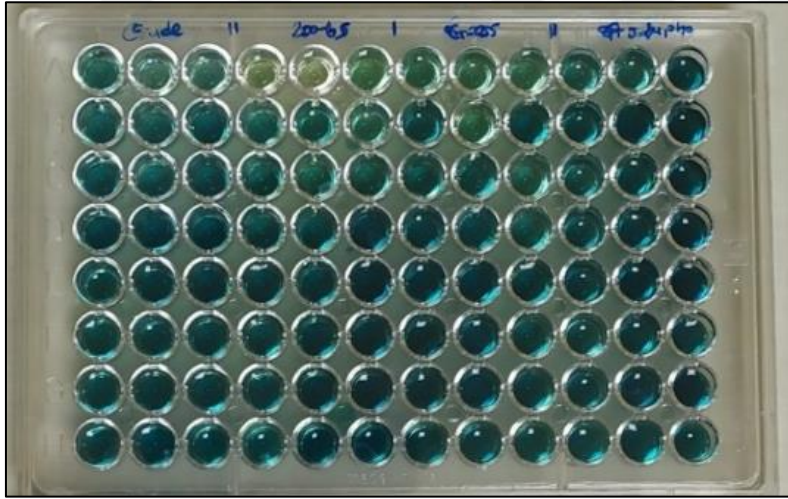
Disk difüzyon yöntemi ise bir maddenin MİK değeri hakkında bilgi vermezken antimikrobiyal özelliğinin var olup olmadığı hakkında bilgi sağlar. Bir çalışmada *Gracilaria verrucosa* kırmızı alginden elde edilen ekstraktın *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğu belirtilmiştir (Dayuti, 2018). Benzer başka bir çalışmada *Porphyridium cruentum*'dan elde edilmiş olan B-PE'nin ise gram pozitif bakterileri olan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve gram negatif bakterilerden *Salmonella typhimurium*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmiştir (Najdenski ve diğerleri, 2013). Bir çalışmada *Nostoc carneum* dan saflaştırılan fikoeritrinin aracılığıyla sentezlenen AgNO₃ nanopartiküllerin *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Streptococcus* sp. test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu nanopartiküllerin antihemolitik, in vivo ve in vitro sitotoksik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (El-Naggar, Hussein ve El-Sawah, 2018).

3.4. Antioksidan Aktivite Bulguları

Antioksidan aktivite çalışmalarında Cernek Gölü'nden izole edilen C32 kodlu siyanobakteri ekstraktı kullanılmıştır. Antioksidan aktivitesini belirlemek amacı ile Cu^{2+} indirgeme gücü, Fe^{3+} indirgeme gücü ve ABTS^+ sönmüleme aktivitesi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

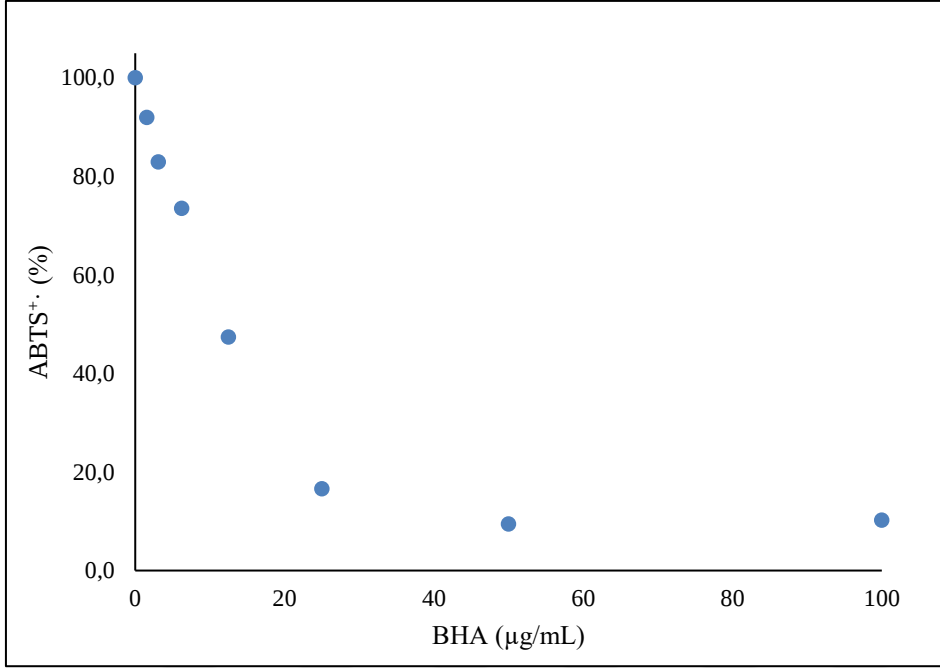
3.4.1. ABTS^+ sönmüleme aktivitesi bulguları

C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin ABTS^+ sönmüleme aktivitesinin plate görüntüsü Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

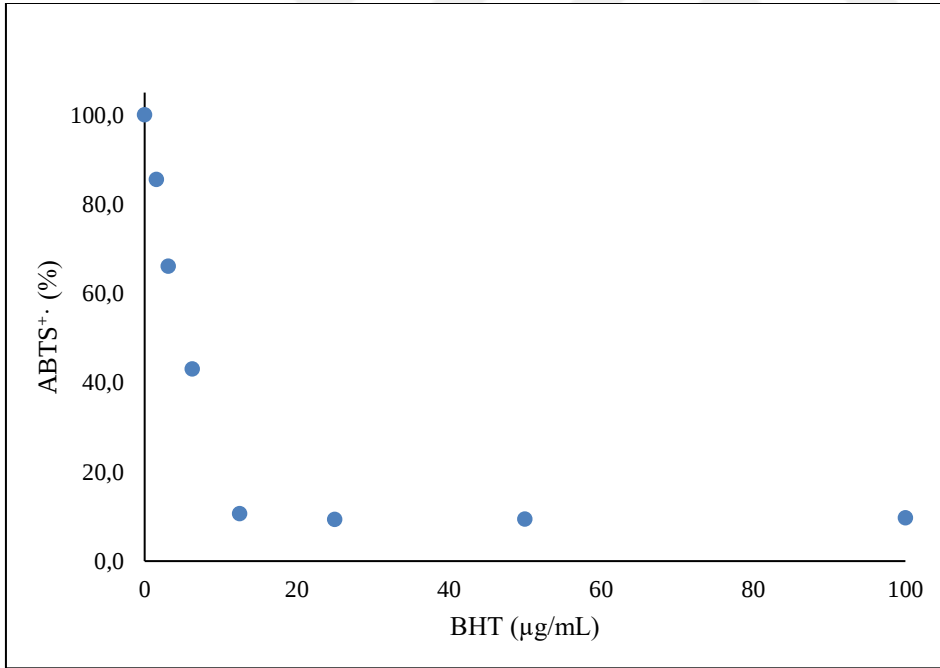


Şekil 3.4. C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin ABTS^+ sönmüleme aktivitesinin plate görüntüsü

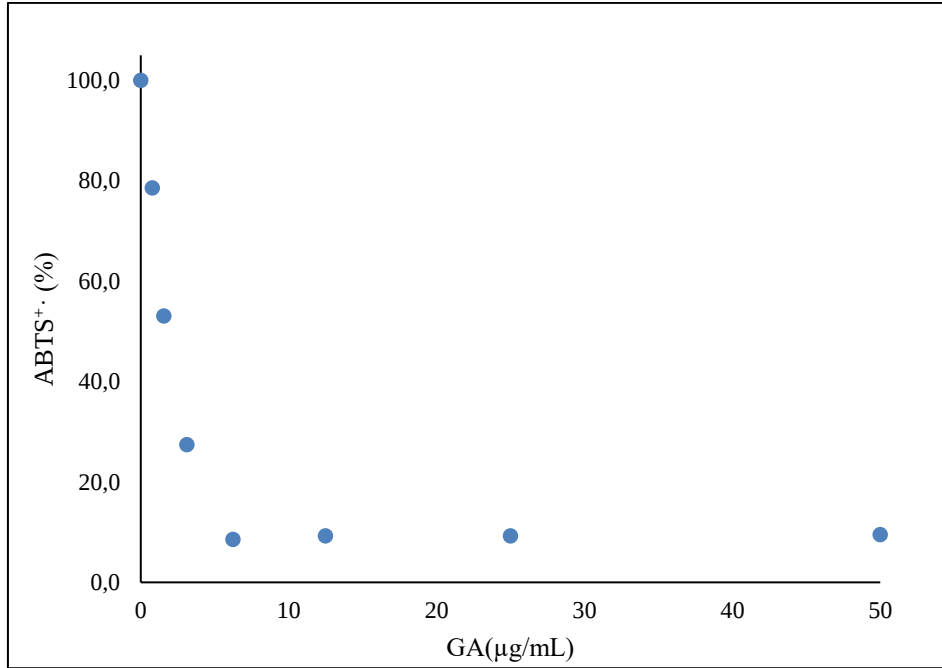
Standart olarak kullanılan BHA (Şekil 3.5) ve BHT (Şekil 3.6) ile saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS^+ sönmüleme aktivitesinin (Şekil 3.7) derişim ile ilişkisi incelenmiştir.



Şekil 3.5. BHA'nın ABTS⁺· söndürme aktivitesi

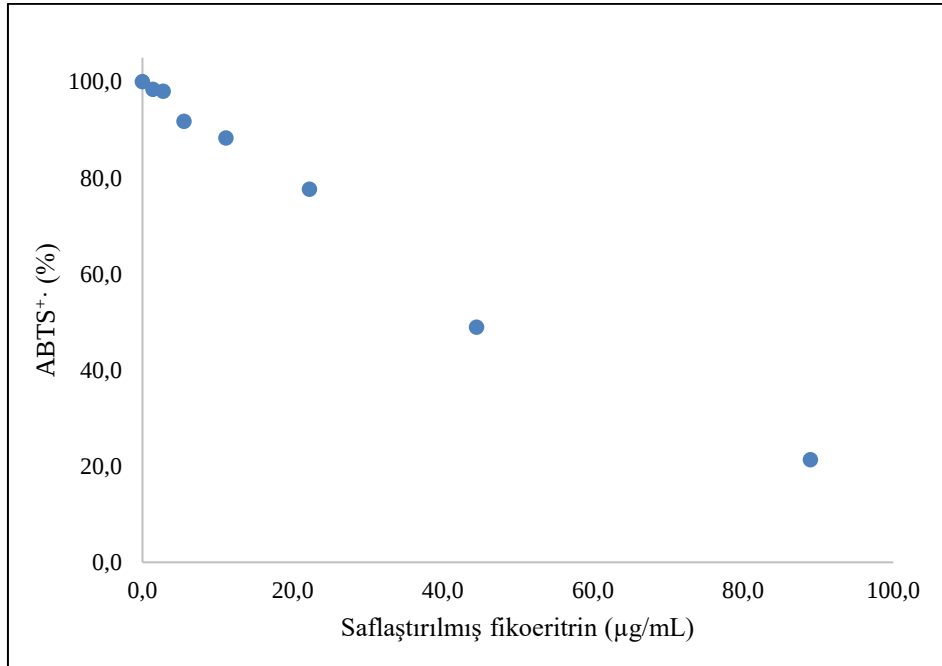


Şekil 3.6. BHT'nin ABTS⁺· söndürme aktivitesi



Şekil 3.7. GA'nın ABTS⁺· sönümlleme aktivitesi

Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil 3.7. incelendiğinde, BHA, BHT ve GA'nın derişiminin artmasıyla ABTS⁺· sönümlleme aktivitesi artmış olup IC₅₀ değerleri sırasıyla 13,73, 6,76 ve 2,00 µg/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. Saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS⁺· sönümlleme aktivitesi

Şekil 3.8’de verilen saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS⁺ sönümleme aktivitesi incelendiğinde C-FE’e ait IC₅₀ değeri 52,83 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

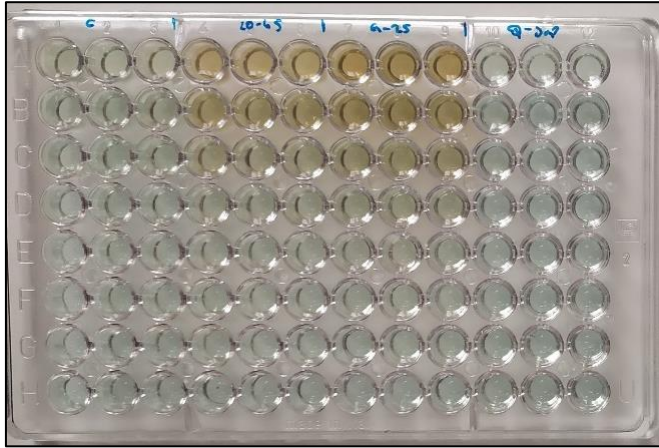
Çizelge 3.3. Standartlar ve saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS⁺ sönümleme aktivitesi

Örnek	IC ₅₀ (µg/mL)
BHA	13,73
BHT	6,26
GA	2,00
Saflaştırılmış fikoeritrin	52,83

Çizelge 3.3. incelendiğinde, saflaştırılmış fikoeritrinin ABTS⁺ sönümleme aktivitesi standart olarak kullanılan antioksidanlara göre daha düşük bulunmuştur.

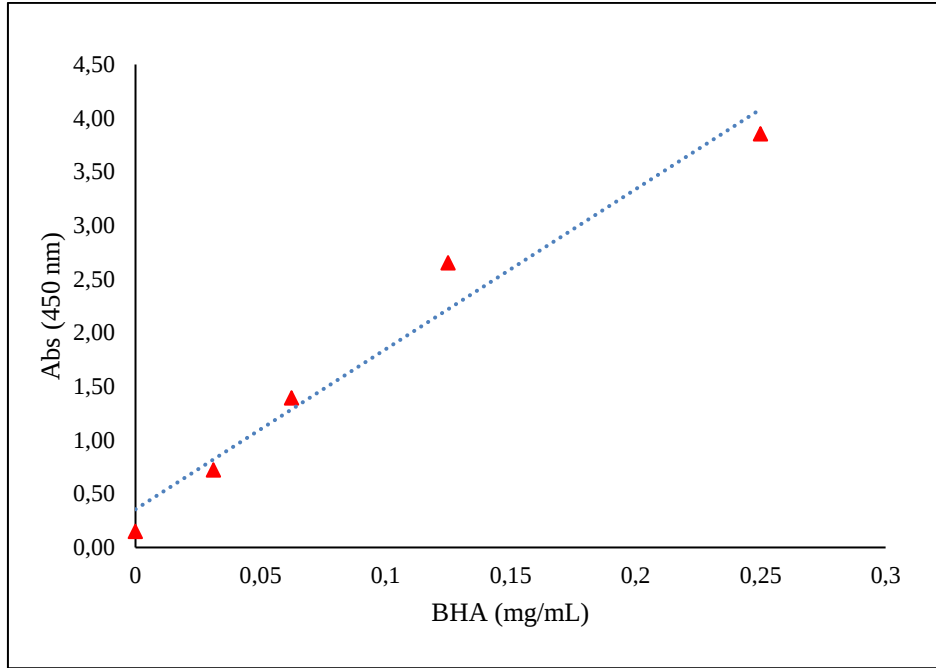
3.4.2. Cu²⁺ indirgeme gücü bulguları

C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin Cu²⁺ indirgeme aktivitesinin plate görüntüsü Şekil 3.9’da gösterilmiştir.

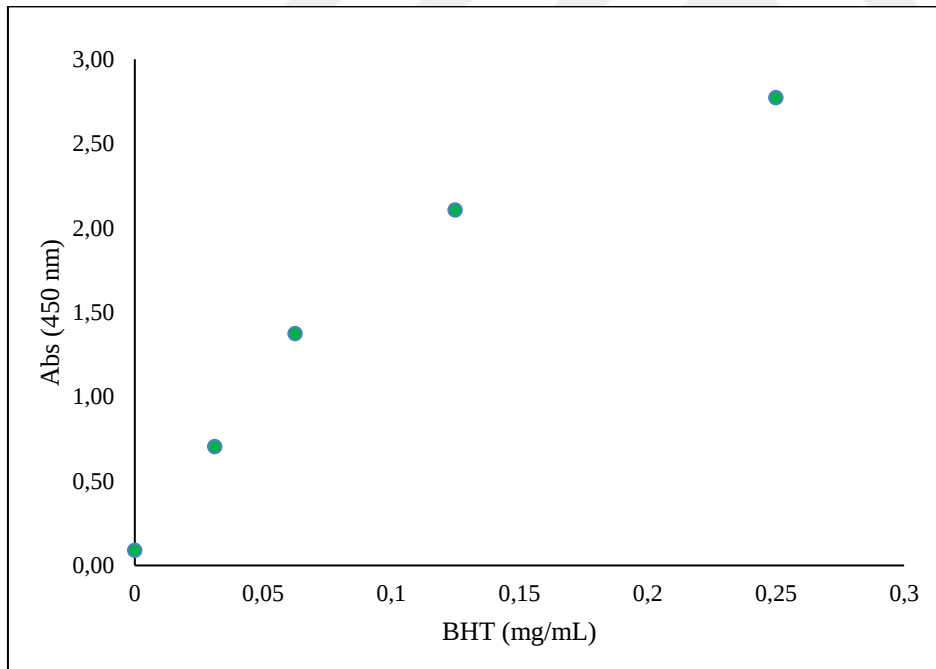


Şekil 3.9. C32 kodlu siyanobakteri crude ekstraktının ve saf fikoeritrinin Cu²⁺ indirgeme aktivitesinin plate görüntüsü

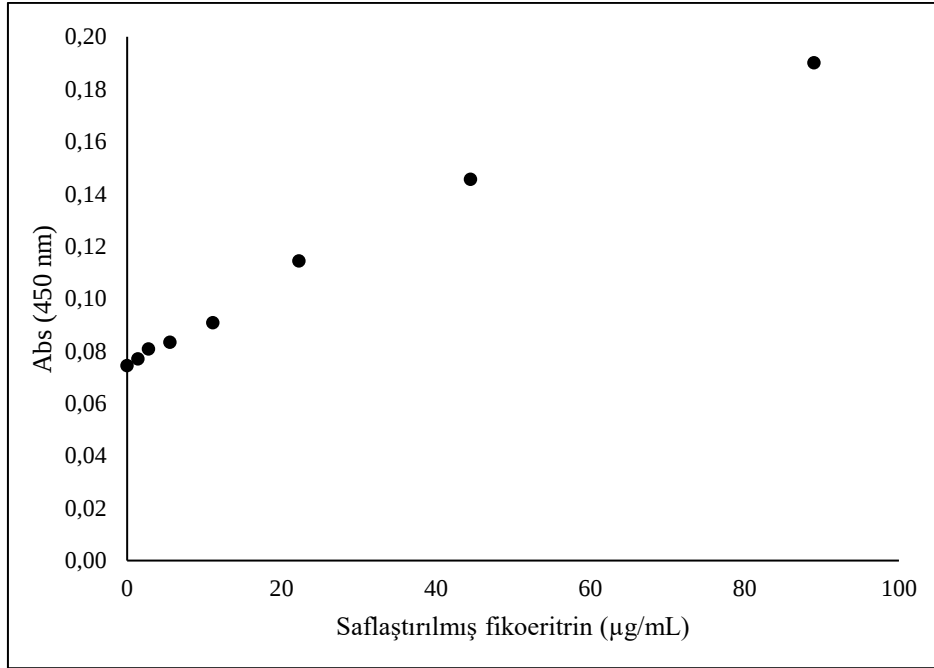
Standart olarak kullanılan BHA (Şekil 3.10) ve BHT (Şekil 3.11) ile saflaştırılmış fikoeritrinin Cu²⁺ indirgeme aktivitesinin (Şekil 3.12) derişim ile ilişkisi incelenmiştir.



Şekil 3.10. BHA'nın Cu^{2+} indirgeme aktivitesi



Şekil 3.11. BHT'nin Cu^{2+} indirgeme aktivitesi



Şekil 3.12. Saflaştırılmış fikoeritrinin Cu^{2+} indirgeme aktivitesi

BHA (Şekil 3.10) ve BHT (Şekil 3.11) ile saflaştırılmış fikoeritrinin (Şekil 3.12) Cu^{2+} indirgeme grafikleri incelendiğinde grafiklerin doğrusal bölgelerine ait eğimler sırasıyla 14,91, 16,08 ve 1,70 olarak hesaplanmıştır.

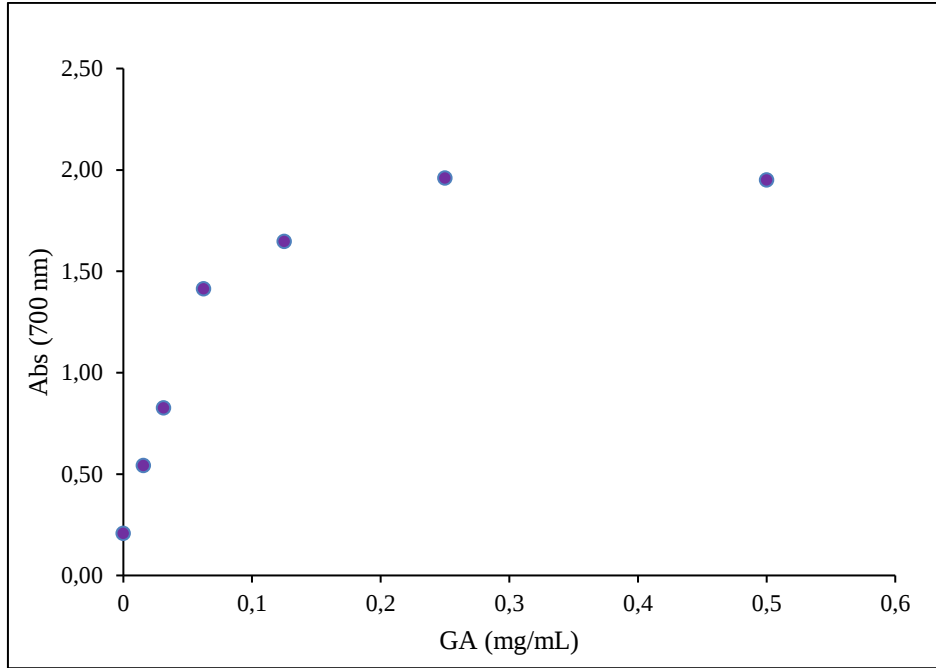
Çizelge 3.4. Saflaştırılmış fikoeritrinin Cu^{2+} indirgeme gücü

Örnek	Cu^{2+} indirgeme gücü (mg BHA Eřdeđer/g C- FE)	Cu^{2+} indirgeme gücü (mg BHT Eřdeđer/g C-FE)
Saflaştırılmış fikoeritrin	114	106

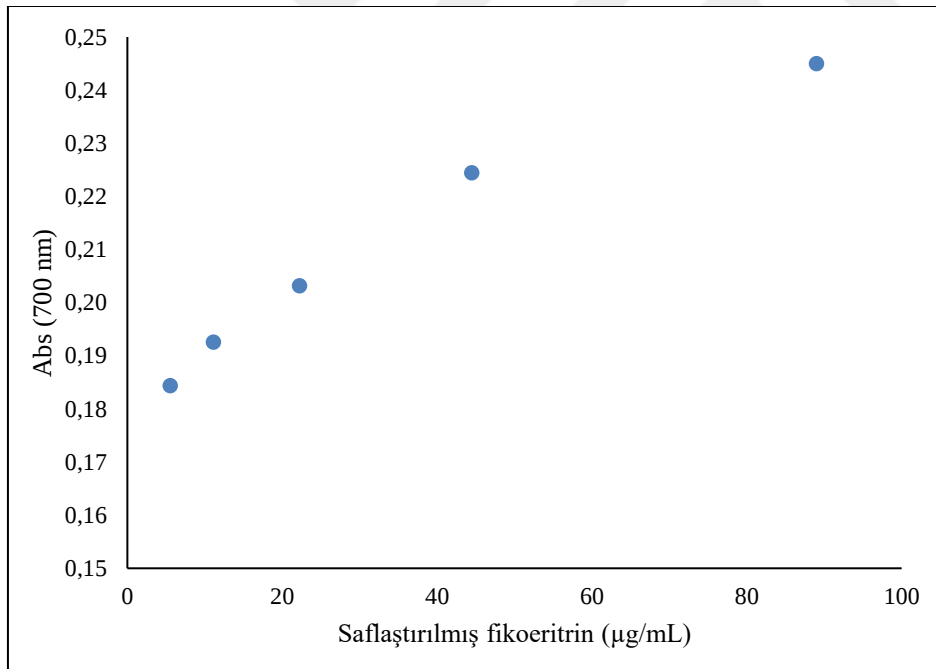
Çizelge 3.4. incelendiğinde, saflaştırılmış fikoeritrinin Cu^{2+} indirgeme gücü 114 mg BHA E/g C-FE ve 106 mg BHT E/g C-FE olarak hesaplanmıştır.

3.4.3. Fe^{3+} indirgeme gücü bulguları

Saflaştırılmış fikoeritrinin Fe^{3+} indirgeme gücü gallik asit eşdeğer (GAE) cinsinden hesaplanmış olup GA (Şekil 3.13) ve saflaştırılmış fikoeritrin (Şekil 3.14) için Fe^{3+} indirgeme aktivitesinin derişim ile ilişkisi gösterilmiştir.



Şekil 3.13. GA'nın Fe^{3+} indirgeme aktivitesi



Şekil 3.14. Saflaştırılmış fukoeritrinin Fe^{3+} indirgeme aktivitesi

GA (Şekil 3.13) ve saflaştırılmış fukoeritrin (Şekil 3.14) için Fe^{3+} indirgeme grafiklerine ait eğim değerleri sırasıyla 19,15 ve 1,0 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.5. Saflaştırılmış fikoeritrinin Fe^{3+} indirgeme gücü

Örnek	Fe^{3+} indirgeme gücü (mg GAE/g C-FE)
Saflaştırılmış fikoeritrin	52,2

Saflaştırılmış fikoeritrinin Fe^{3+} indirgeme gücü (Çizelge 3.5) 52,2 mg GAE/g C-FE olarak bulunmuştur.

Siyanobakterilerin total ekstraktlarının antioksidan aktivitelerine dair birçok çalışma bulunmaktadır. C-Fikoeritrinin antioksidan aktivitesi ile ilgili literatürde az sayıda çalışma bulunmuştur. Bir çalışmada *Lyngbya* sp. A09DM suşunda saflaştırılan fikoeritrinin 150 mg/mL konsantrasyonda DPPH radikalinin % $84,29 \pm 1,64$ 'ünü süpürdüğü bildirilmiştir. IC_{50} değeri ise $232,79 \pm 0,31$ µg/mL olarak bildirilmiştir. ABTS radikali süpürme aktivitesi için IC_{50} değeri $28,26 \pm 0,30$ µg/mL, demir iyonu şelatlama gücü ise $120,92 \pm 1,31$ µg/mL olarak bildirilmiştir (Sonani, Singh, Kumar, Thakar ve Madamwar, 2014). Diğer çalışmada ise *Nostoc* sp. suşundan saflaştırılan fikoeritrinin BHT ve askorbik asite yakın DPPH, ABTS ve Süperoksit radikali süpürme aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Nowruzi, Fahimi ve Lorenzi, 2020). Bir deniz siyanobakterisi olan *Halomicronema* sp. R31DM'dan saflaştırılan fikoeritrinin ökaryotik bir model organizma olan *Caenorhabditis elegans* üzerinde antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Patel ve diğerleri, 2018). Bu çalışmalarla kıyaslandığında saflaştırdığımız fikoeritrinin antioksidan kapasitesinin daha düşük olduğu bulunmuştur.

Alglerden elde edilen fikoeritrinin antioksidan aktiviteleri ise daha çok araştırılmıştır. Kırmızı bir alg olan *Spyridia filamentosa* (Wulfen) 'dan saflaştırılan fikoeritrinin DPPH radikali süpürme aktivitesinin (IC_{50} : 128,25 µg/mL), nitrik oksit süpürme aktivitesinin (IC_{50} : 87,85 µg/mL), hidroksit radikali süpürme aktivitesinin (IC_{50} : 34,56 µg/mL) ve süperoksit radikali süpürme aktivitesinin (IC_{50} : 3,13 µg/mL) olduğu bildirilmiştir (Brabakaran, Venkatesan, Jayappriyan, Roselin ve Thangaraju, 2020).

Tatlı sularda yaşayan filamentli bir kırmızı alg olan *Bangia atropurpurea*'dan saflaştırılan fikoeritrinin antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada DPPH radikali süpürme

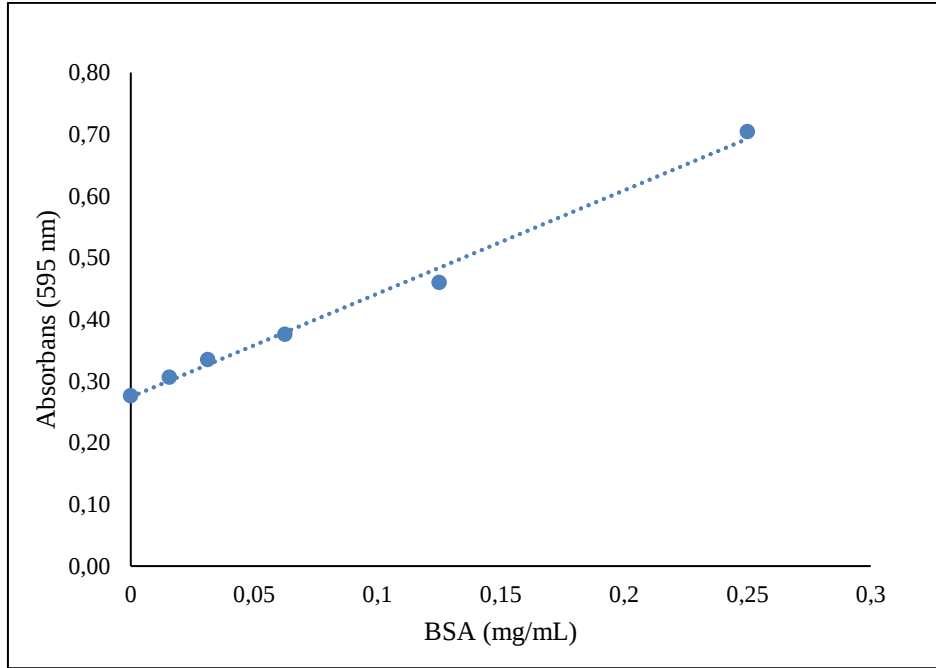
(IC₅₀: 7,66 ± 0,81 µg/mL) ve demir şelatlama (54,74 ± 0,11 mg GAE/1g ekstrakt) aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Punampalam, Khoo ve Sit, 2018).

Bangia fusco-purpurea’dan saflaştırılan fikoeritrinin antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada ABTS radikali süpürme aktivitesi (IC₅₀: 769,9 µg/mL), DPPH radikali süpürme aktivitesi (IC₅₀: 421,9 µg/mL), hidroksil radikali süpürme aktivitesi (IC₅₀: 32,4 µg/mL) ve indirgeyici güce (IC₅₀: 625,8 µg/mL) sahip olduğu bildirilmiştir (Wu ve diğerleri, 2015).

Fikoeritrinin kanser hücreleri üzerine de sitotoksik etkisinin olduğu bilinmektedir. *Lyngbya* sp. A09DM suşundan saflaştırılan fikoeritrinin insan akciğer karsinoma (A549) hücreleri üzerinde doz artışına bağlı olarak hücre canlılığında azalma, mitokondri membran potansiyelinde ve laktat dehidrogenaz enzimi salınımında artışa sebep olduğu, ayrıca hücrelerin G₀/G₁ fazında apoptotik faaliyetlerinin arttığı bildirilmiştir (Madamwar, Kaushal, Patel ve Devkar, 2015). Kırmızı alglerden elde edilen fikoeritrin ile yapılan başka bir çalışmada SGC-7901 hücre hattında S fazında iken apoptozu tetiklediği bildirilmiştir (Tan ve diğerleri, 2016).

3.5. Protein Tayini Bulguları

Albumin (sığır albümini) kullanılarak Bradford yöntemi ile çizilen standart grafik Şekil 3.15’te gösterilmiştir.



Şekil 3.15. BSA standart grafiği

Şekil 3.15'teki standart grafiği incelendiğinde, grafiğe ait lineer regresyon katsayısı 0,9935 olarak bulunmuştur. Protein derişiminin hesaplanmasında Şekil 3.15'teki verilerden yararlanılarak elde edilen formül 2'deki denklem kullanılmıştır.

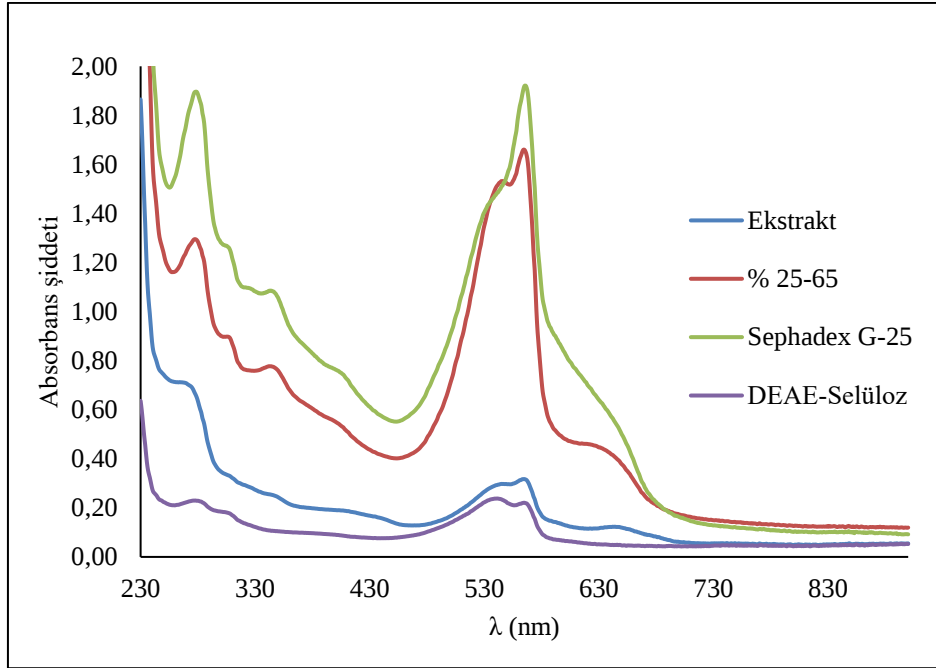
$$A = 1,6737B + 02742$$

2

Formül 2'de A absorbansı, B ise protein miktarı albümin cinsinden derişimini ifade etmektedir.

3.6. UV-VIS Analizi Bulguları

Siyanobakteri ekstraktı ve her basamakta saflaştırılan fikoeritrine ait UV-VIS spektrumları Şekil 3.16'da gösterilmiştir.

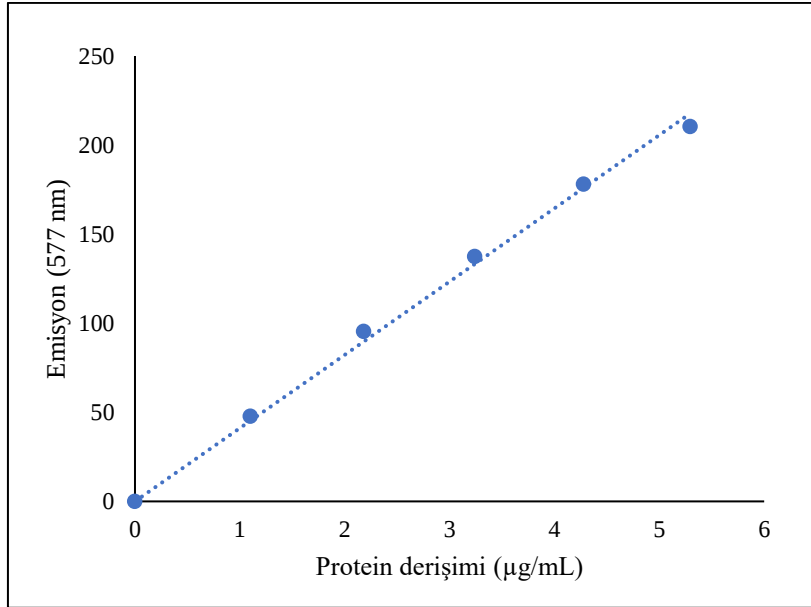


Şekil 3.16. Örneğe ve fraksiyonlara ait UV-VIS taraması

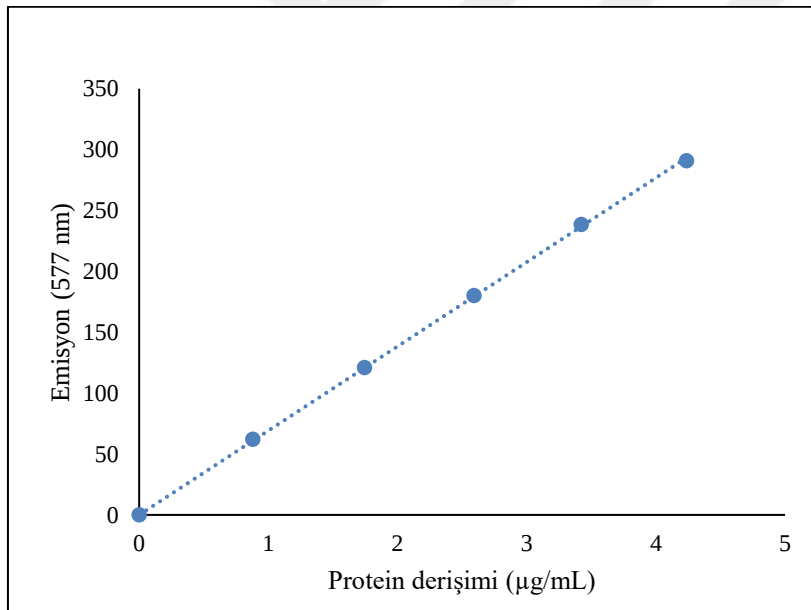
Şekil 3.16 incelendiğinde, hem % 25-65 amonyum sülfat çökeğine ait spektrumda hem de DEAE-selüloz saflaştırma basamağından elde edilmiş fraksiyona ait spektrumda 536 nm civarında belirgin bant gözlenmiştir. 568 nm’de tüm örneklerde izlenen bant saflaştırma ile birlikte daha belirgin hale gelmiştir. Saflaştırma basamaklarının artmasıyla birlikte 610-670 nm arasında safsızlıklardan kaynaklandığı düşünülen bandın şiddeti azalmıştır.

3.7. Floresans Analizi Bulguları

Siyanobakteri ekstraktı ve saflaştırılmış örneğin farklı derişimlerine karşı 577 nm dalga boyundaki emisyon şiddetleri sırasıyla Şekil 3.17 ve Şekil 3,18’de gösterilmiştir.



Şekil 3.17. Siyanobakteri ekstraktının protein derişimine bağı emisyon grafiğı (Eksitasyon: 566 nm; Emisyon: 577 nm)



Şekil 3.18. Saflaştırılmış fikoeritrinin protein derişimine bağı emisyon grafiğı (Eksitasyon: 566 nm; Emisyon: 577 nm)

Siyanobakteri ekstraktı ve saflaştırılmış fikoeritrine ait emisyon şiddeti-derişim grafiklerine ait eğim değerleri sırasıyla 41,12 ve 69,18 olarak bulunmuş olup saflaştırılma ile birlikte eğim değeri artış göstermiştir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Samsun il sınırları içerisindeki Kızılırmak Deltası'nda Ramsar Alanı içinde yer alan Cernek Gölü'nden Gölü'nden izole edilen *Leptolyngbya compacta* siyanobakteri türünden yüksek miktarda fikoeritrin ekstraksiyonu yapılarak, kromatografik tekniklerle saflaştırılması yapılmıştır. Cernek Gölü'nde izole edilen fikoeritrin içeren siyanobakterilerin ekstraktlarından biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca fikoeritrin üzerine yapılan ilk çalışma niteliği taşımaktadır.

Literatürde siyanobakterilerden saflaştırılan fikoeritrin ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamız literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. *Leptolyngbya compacta* türünden saflaştırılan fikoeritrinin karakterize edilerek potansiyel biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Bu amaçla saf fikoeritrinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu biyolojik ajanların ülkemizde üretilmeyip yurtdışından getirilmesi oldukça maliyetlidir. Fikoeritrinin saf halde eldesi ile biyoteknolojik bir ilaç olarak kullanılabilme kapasitesi belirlenerek öncelikli alanlarda önemli bir yer tutan biyoteknolojik ilaç geliştirmenin ilk basamağı gerçekleştirilmiştir. Fikoeritrinin saflaştırılması zor ve masraflıdır bu yüzden bu alanda yapılan çalışmalar ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. Yapılan bu çalışma ile literatüre önemli bir katkı sağlandığı ve ürünün saflaştırma basamakları optimize edilerek, bu ürünün ticari olarak pazarlanmasına da alt yapı oluşturmaktadır.

Bu çalışma sonucunda Cernek Gölü'nden alınan bu siyanobakteri BG₁₁ besi ortamında uygun sıcaklık ve ışık ortamında geliştirilerek elde edilen biyokütle fikoeritrin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Saflaştırma işlemi sonucunda fikoeritrin içeren siyanobakterilerin renginin kırmızı-kahverengi olduğu ve mikroskopik incelemelerinde filamentli yapıda olduğu tespit edilmiştir. Filamentli yapıdaki siyanobakterlerde akinet, heterosist, hormogonium gibi özelleşmiş yapıların bulunması azot fiksasyonu için çok büyük bir öneme sahiptir.

C32 kodlu ekstraktın gram pozitif (+) bakterisi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Gram negatif (-) bakterisi *Pseudomonas aeruginosa* NRLL 132679 ve maya *Candida albicans* ATCC 14053 türleri üzerine antimikrobiyal aktivite deneyleri sonucunda fikoeritrinin Gram

(+) mikroorganizmalar üzerine daha etkili olduğu görülmüştür. Gram pozitif bakterilerinde kalın bir peptidoglikan tabakası bulunurken dış membran bulunmamaktadır. Gram negatif bakterilerinde ise peptidoglikan tabakası çok ince yapıda olup dış membran bulunmaktadır. Gram pozitif bakterisine karşı daha etkili olmasının sebebi ise Gram negatif bakterisinin membranlarında bulunan lipopolisakkarit yapısının dış çevreleri ile bağlantıyı engellemesinden kaynaklı olduğu bildirilmiştir.

Antimikrobiyel aktivitesinin yüksek bulunması, günümüzde gıda, kozmetik ve ilaç sektöründe yeni uygulamalarda kullanılmak üzere pigmentlerin ekstraksiyonuna yönelik çalışmalara yöneltecektir. Bunun siyanobakteri türlerinin tercih edilmesini sağlayan sebeplerden birini oluşturması beklenmektedir. Bu sebeple bundan sonraki çalışmaların siyanobakteri türlerinde çok yönlü biyolojik aktivite çalışmalarına yönelik olacaktır.

Saflaştırılan C-FE'nin biyolojik aktivite araştırması kapsamında, ABTS⁺ katyonik radikali sönmüleme aktivitesi, Fe³⁺ indirgeme gücü, Cu²⁺ indirgeme gücü ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Siyanobakterilerden saflaştırılan bu etken madde ülkemiz için öncelikli alanlar kategorisinde yer alan biyoteknolojik ilaç çalışmalarına önemli bir kaynak oluşturacaktır. Bu sayede mevcut ilaçlara farklı alternatifler önerilebilecek, dışa bağımlılık azaltılacak, oluşturulacak ürün çeşitliliği ile insanların biyoteknolojik ilaçlara ulaşılabilirlikleri kolaylaşacaktır.

Gelecekteki araştırmalarda, birçok alanda kullanılmak üzere siyanobakteri türlerinden pigmentler ekstrakte edilebilir. Elde edilen aktif bileşikler çok yönlü biyolojik aktivite çalışmaları için hedeflenmelidir. Siyanobakteriyel ekstraktların kimyasal bileşenlerinin aydınlatılması, etken maddenin izolasyonu ve fonksiyonel gruplar da dahil olmak üzere fonksiyonel grupların bu bileşenlerin hedeflerini ve mekanizmalarını belirlemek için çalışılması gerekir.

KAYNAKLAR

- Abed, R. M., Kohls, K., Schoon, R., Scherf, A. K., Schacht, M., Palinska, K. A., vd (2008). Lipid biomarkers, pigments and cyanobacterial diversity of microbial mats across intertidal flats of the arid coast of the Arabian Gulf (Abu Dhabi, UAE). *FEMS microbiology ecology*, 65(3), 449-462.
- Abedin, R. M., and Taha, H. M. (2008). Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(1), 22-31.
- Adıgüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütçü, H., Şahin, F., ve Karaman, İ. (2005). *Ocimum basilicum* (Labiatae) ekstraktının antimikrobiyal etkileri. *Türk Biyoloji Dergisi*, 29 (3), 155-160.
- Afreen, S., and Fatma, T. (2018). Extraction, purification and characterization of phycoerythrin from *Microchaete* and its biological activities. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 13, 84-89.
- Aksan, E. (2005). Çeşitli mayalardan karotenoidlerin elde edilmesi ve sucukta renklendirici olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniv. *Fen Bilimleri Enst. Doktora tezi*, 175.
- Allen, M. B., and Arnon, D. I. (1955). Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. I. Growth and nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica* Lemm. *Plant physiology*, 30(4), 366.
- Altuner, E. M. (2008). *Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi* (Doctoral dissertation, University of Ankara).
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., and Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition*, 57(5-6), 292-304.
- Arad, S. M., and Yaron, A. (1992). Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics. *Trends in Food Science and Technology*, 3, 92-97.
- Ata, M. Y., Onbaşılı, D., ve Ödevi, B. (2013). Mikroorganizmalarda Pigment Üretimi Ve Eczacilikta Kullanımı. *Bitirme ödevi. Erciyes Üniversitesi, Kayseri*.
- Becker, E. M., Nissen, L. R., and Skibsted, L. H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6), 561-571.

- Benli, M., ve Yiğit, N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(8), 1-8.
- Bermejo, R., Acién, F. G., Ibáñez, M. J., Fernández, J. M., Molina, E., and Alvarez-Pez, J. M. (2003). Preparative purification of B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* by expanded-bed adsorption chromatography. *Journal of chromatography B*, 790(1-2), 317-325.
- Bhat, V. B., and Madyastha, K. M. (2001). Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA. *Biochemical and biophysical research communications*, 285(2), 262-266.
- Blagojević, D., Babić, O., Rašeta, M., Šibul, F., Janjušević, L., and Simeunović, J. (2018). Antioxidant activity and phenolic profile in filamentous cyanobacteria: The impact of nitrogen. *Journal of applied phycology*, 30(4), 2337-2346.
- Blas-Valdivia, V., Rojas-Franco, P., Serrano-Contreras, J. I., Sfriso, A. A., Garcia-Hernandez, C., Franco-Colín, M., vd (2021). C-phycoerythrin from *Phormidium persicinum* prevents acute kidney injury by attenuating oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Marine Drugs*, 19(11), 589.
- Bottomley, P. J., Grillo, J. F., Van Baalen, C., and Tabita, F. R. (1979). Synthesis of nitrogenase and heterocysts by *Anabaena* sp. CA in the presence of high levels of ammonia. *Journal of bacteriology*, 140(3), 938-943.
- Brabakaran, A., Venkatesan, S., Jayappriyan, K. R., Roselin, L. S., and Thangaraju, N. (2020). Antioxidant Properties of R-Phycoerythrin from Red Alga *Spyridia filamentosa* (Wulfen) Harvey Collected on the Pudumadam Coast. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 12(4), 489-498.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., and Pfander, H. (Eds.). (2004). *Carotenoids: handbook*. Springer Science and Business Media.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Carmichael, W. W., Azevedo, S. M., An, J. S., Molica, R. J., Jochimsen, E. M., Lau, S., vd (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental health perspectives*, 109(7), 663-668.
- Ceniklioğlu, H. (2022). *Cernek gölü'nden izole edilen siyanobakterilerin moleküler karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi, Amasya Üniversitesi, 2022). Uluslararası Tez Özetleri, 128, 716729.
- Chang S. T, and Hayes W. A. (1978). The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. *Harcourt brace Jovanovich publishers.*, 475-493.
- Cirik, S., ve Gökpınar, Ş., (2008). Plankton Bilgisi ve Kültürü. Ege Üniversitesi Yayınları, Su Ürünleri Fakültesi, 5. Baskı, Yayın No: 47, 274 s, Bornova- İzmir.

- Codd, G. A. (2000). Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological engineering*, 16(1), 51-60.
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., and Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146-1151.
- Çelik, E., ve Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
- D'Agnolo, E., Rizzo, R., Paoletti, S., and Murano, E. (1994). R-phycoerythrin from the red alga *Gracilaria longa*. *Phytochemistry*, 35(3), 693-696.
- Damerval, T., Guglielmi, G., Houmard, J., and De Marsac, N. T. (1991). Hormogonium differentiation in the cyanobacterium *Calothrix*: a photoregulated developmental process. *The Plant Cell*, 3(2), 191-201.
- Dayuti, S. (2018). Antibacterial activity of red algae (*Gracilaria verrucosa*) extract against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 137, No. 1, p. 012074). IOP Publishing.
- Deans, S. G., Simpson, E., Noble, R. C., MacPherson, A., and Penzes, L. (1992, July). Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. In *WOCMAP I-Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 2 of 4 332* (pp. 177-182).
- Demirbas, A. (2010). Use of algae as biofuel sources. *Energy conversion and management*, 51(12), 2738-2749.
- Desmorieux, H., ve Decaen, N. (2005). Convective drying of spirulina in thin layer. *Journal of food engineering*, 66(4), 497-503.
- Dixon, R. A., Al-Nazawi, M., and Alderson, G. (2004). Permeabilising effects of sub-inhibitory concentrations of microcystin on the growth of *Escherichia coli*. *FEMS microbiology letters*, 230(2), 167-170.
- Dorman, H. D., and Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- El-Naggar, N. E. A., Hussein, M. H., and El-Sawah, A. A. (2018). Phycobiliprotein-mediated synthesis of biogenic silver nanoparticles, characterization, in vitro and in vivo assessment of anticancer activities. *Scientific reports*, 8(1), 1-20.
- El-Shehawy, R., Lugomela, C., Ernst, A., and Bergman, B. (2003). Diurnal expression of *hetR* and diazocyte development in the filamentous non-heterocystous cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum*. *Microbiology*, 149(5), 1139-1146.
- Erdal, P., ve Ökmen, G. (2013). Gıdalarda kullanılan mikrobiyal kaynaklı pigmentler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 56-68.

- Eriksen, N. T. (2008). Production of phycocyanin a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied microbiology and biotechnology*, 80(1), 1-14.
- Fay, P. (1992). Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiological reviews*, 56(2), 340-373.
- Fredriksson C., and Bergman B. (1997) Ultrastructural characterisation of cells specialised for nitrogen fixation in a non-heterocystous cyanobacterium, *Trichodesmium* spp. *Protoplasma* 197: 76–85
- Gantt, E. (1981). Phycobilisomes. *Annual Review of Plant Physiology*, 32(1), 327-347.
- Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. R., and Manual, B. S. (2005). Systematic bacteriology. *The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*, *Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics*, 2.
- Glazer, A. N. (1994). Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*, 6(2), 105-112.
- Glazer, A.N. (1981) Photosynthetic Accessory Proteins with Bilin Prosthetic Groups, *The Biochemistry of Plant*, Academic Press, New York, vol. 8: 51.s.
- Glazer, N. (1987). *Affirmative discrimination: Ethnic inequality and public policy*. Harvard University Press.
- Graham, L. E., Kodner, R. B., Fisher, M. M., Graham, J. M., Wilcox, L. W., Hackney, J. M., vd (2004). Early land plant adaptations to terrestrial stress: a focus on phenolics. In *The evolution of plant physiology* (pp. 155-169). Academic Press.
- Guesdon, J. L., Ternynck, T., and Avrameas, S. (1979). The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 27(8), 1131-1139.
- Guiry, M. D. and Guiry G. M. (2022). *AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, from <http://www.algaebase.org>*.
- Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek, M., and Apak, R. (2005). Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II)–neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. *Talanta*, 65(5), 1226-1232.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Chea, A., and Topal, F. (2010). Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: cepharanthine and fangchinoline. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 25(1), 44-53.
- Hari, R. K., Patel, T. R., and Martin, A. M. (1994). An overview of pigment production in biological systems: functions, biosynthesis, and applications in food industry. *Food Reviews International*, 10(1), 49-70.

- Helms, M., Vastrup, P., Gerner-Smidt, P., and Mølbak, K. (2002). Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium. *Emerging infectious diseases*, 8(5), 490.
- Herrero, A., Muro-Pastor, A. M., Valladares, A., and Flores, E. (2004). Cellular differentiation and the NtcA transcription factor in filamentous cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 28(4), 469-487.
- Herrero, J., Valencia, A., and Dopazo, J. (2001). A hierarchical unsupervised growing neural network for clustering gene expression patterns. *Bioinformatics*, 17(2), 126-136.
- Hitzfeld, B. C., Höger, S. J., and Dietrich, D. R. (2000). Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental health perspectives*, 108(1), 113-122.
- Hossain, M. F., Ratnayake, R. R., Meerajini, K., and Wasantha Kumara, K. L. (2016). Antioxidant properties in some selected cyanobacteria isolated from fresh water bodies of Sri Lanka. *Food science and nutrition*, 4(5), 753-758.
- Houghton, J. D. (1996). Haems and bilins. In *Natural food colorants* (pp. 157-196). Springer, Boston, MA.
- Huang, D. (2002). Ou b, Hampsch-Woodill M, et al. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. *J Agric Food Chem*, 50, 1815-1821.
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- İnternet: Gram pozitif ve gram negatif hücre duvarı yapıları. URL: <https://www.unife.it/medicina/dietistica/insegnamenti/microbiologia-igiene-e-radioprotezione/modulo-di-microbiologia-e-microbiologia-clinica/a-a-2017-2018/batteriologia-generale> Son Erişim Tarihi: 13.02.2023
- İnternet: Siyanobakteri fotosentezinde elektron akışı. URL: https://elementy.ru/images/news/science_news_early_photosynthesis_3_703.jpg Son Erişim Tarihi: 13.02.2023
- İnternet: 16S rRNA gen dizilimine göre siyanobakterilerin üç temel grup içindeki konumu. URL: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/70/Phylogenetic_tree.svg/300px-Phylogenetic_tree.svg.png Son Erişim Tarihi: 13.02.2023
- İşcan, G., Demirci, F., Kırırmer, N., Kürkçüoğlu, M., Baser, K., ve Kıvanç, M. (2002). Bazı Umbelliferae Türlerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Antimikrobiyel Etkileri. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler: 355-366.
- James, K. (1990). Immunoserology of infectious diseases. *Clinical microbiology reviews*, 3(2), 132-152.

- Johnson, L. E. (1995). Food technology of the antioxidant nutrients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(1-2), 149-159.
- Jung, S. M., Park, J. S., Shim, H. J., Kwon, Y. S., Kim, H. G., and Shin, H. S. (2016). Antioxidative effect of phycoerythrin derived from *Grateloupia filicina* on rat primary astrocytes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 21(5), 676-682.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., vd (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Karakurt, H., ve Aslantaş, R. (2008). Bitki renk maddelerinin (pigmentler) oluşum ve değişim fizyolojisi. *alatarım*, 7(2), 34-41.
- Ke, B. (2001). *Photosynthesis photobiology and photobiophysics* (Vol. 10). Springer Science and Business Media, 251-269.
- Kelvinsong, (2013). [Diagram of a cyanobacterium] from <http://en.wikipedia.org/wiki/Cyanobacteria#mediaviewer/File:Cyanobacterium-inline.syg>. Son Erişim Tarihi: 14.02.2023.
- Koksharova, O., and Wolk, C. (2002). Genetic tools for cyanobacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 58(2), 123-137.
- Kornprobst, J. M. (2014). Mollusks—1. *Encyclopedia of Marine Natural Products*, 1333-1419.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M. *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers, New York, 1993.
- Li, W., Su, H. N., Pu, Y., Chen, J., Liu, L. N., Liu, Q., vd (2019). Phycobiliproteins: Molecular structure, production, applications, and prospects. *Biotechnology Advances*, 37(2), 340-353.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193(1) 265-275.
- MacColl, R. (1998). Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of structural biology*, 124(2-3), 311-334.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., and Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046-2056.
- Mackay, D., Stiver, W., and Tebeau, P. A. (1983). Testing of crude oils and petroleum products for environmental purposes. In *International Oil Spill Conference* (Vol. 1983, No. 1, pp. 331-337). American Petroleum Institute.

- Madamwar, D., Kaushal, A., Patel, D. K., and Devkar, R. V. (2015). Cyanobacterial phycoerythrin purified from marine *Lyngbya* sp. induces apoptosis in lung carcinoma cells. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 10(4), 770-778.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., and Salunkhe, D. K. (1995). *Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives*. CRC Press, 431.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (2003). Microbial growth. *Brock biology of microorganisms*, 137-166.
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., and Lima, J. L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1), 1-19.
- Mann, C. M., and Markham, J. L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of applied microbiology*, 84(4), 538-544.
- Mayer, A. M., and Hamann, M. T. (2005). Marine pharmacology in 2001–2002: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 140(3-4), 265-286.
- Mc Dermott, P. F., Walker, R. D., and White, D. G. (2003). Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *International journal of toxicology*, 22(2), 135-143.
- Meinesz, A., ve Tarhan, E. (2010). *Yaşam nasıl başladı: evrimin üç kökeni*. ODTÜ Yayıncılık.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., and Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England: 1979)*, 84(4), 407-412.
- Mur, R., Skulberg, O. M., and Utkilen, H. (1999). Cyanobacteria in the environment.
- Murthy, K. C., Vanitha, A., Rajesha, J., Swamy, M. M., Sowmya, P. R., and Ravishankar, G. A. (2005). In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina*—a green microalga. *Life sciences*, 76(12), 1381-1390.
- Nagai, T., Myoda, T., and Nagashima, T. (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food chemistry*, 91(3), 389-394.
- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V., vd (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International journal of food science and technology*, 48(7), 1533-1540.

- Nowruzi, B., Fahimi, H., and Lorenzi, A. S. (2020, September). Recovery of pure C-phycoerythrin from a limestone drought tolerant cyanobacterium *Nostoc* sp. and evaluation of its biological activity. In *Anales de Biología* (No. 42, pp. 115-128). Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia.
- Oi, V. T., Glazer, A. N., and Stryer, L. (1982). Fluorescent phycobiliprotein conjugates for analyses of cells and molecules. *The Journal of cell biology*, 93(3), 981-986.
- Öncel, I., Üstün, S., ve Keles, Y. (2004). Fotosentez, Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu, AÜ FF Döner Sermaye İşletme Yayınları, 48, 76-77.
- Ötük, G., 1992. Antibiyogramların değerlendirilmesi. Antibiyotikler, s. 11-17.
- Palinska, K. A., and Surosz, W. (2014). Taxonomy of cyanobacteria: a contribution to consensus approach. *Hydrobiologia*, 740(1), 1-11.
- Pandey, V. D., Pandey, A., and Sharma, V. (2013). Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins. *int. J Curr. Microbiology. Application. Science*, 2 (9), 89-97.
- Patel, A., Mishra, S., Pawar, R., and Ghosh, P. K. (2005). Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein expression and purification*, 40(2), 248-255.
- Patel, S. N., Sonani, R. R., Jakharia, K., Bhastana, B., Patel, H. M., Chaubey, M. G., vd (2018). Antioxidant activity and associated structural attributes of *Halomicronema* phycoerythrin. *International journal of biological macromolecules*, 111, 359-369.
- Pokorný, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science and Technology*, 2, 223-227.
- Porter, G., Tredwell, C. J., Searle, G. F. W., and Barber, J. (1978). Picosecond time-resolved energy transfer in *Porphyridium cruentum*. Part I. In the intact alga. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 501(2), 232-245.
- Prior, R. L., and Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1. *Free radical biology and medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Punampalam, R., Khoo, K. S., and Sit, N. M. (2018). Evaluation of antioxidant properties of phycobiliproteins and phenolic compounds extracted from *Bangia atropurpurea*. *Malays. J. Fundam. Appl. Sci*, 14, 289-297.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

- Reddy, C. M., Bhat, V. B., Kiranmai, G., Reddy, M. N., Reddanna, P., and Madyastha, K. M. (2000). Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by C-phycoyanin, a biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and biophysical research communications*, 277(3), 599-603.
- Rice-Evans, C., and Burdon, R. (1993). Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Progress in lipid research*, 32(1), 71-110.
- Richmond, A. (2004). Handbook of microalgae culture: biotechnology and applied phycology. Black Well Science Ltd. *J Appl Phycol*, 16, 159-160.
- Rios, J. L., Recio, M. C., and Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.
- Sarada, R., Pillai, M. G., and Ravishankar, G. A. (1999). Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process biochemistry*, 34(8), 795-801.
- Schelz, Z., Molnar, J., and Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, 77(4), 279-285.
- Serteser, A., ve Gök, V. (2003). Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, 2(4), 83-98.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., and Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological measurement*, 28(4), R41.
- Sompong, U., Hawkins, P. R., Besley, C., and Peerapornpisal, Y. (2005). The distribution of cyanobacteria across physical and chemical gradients in hot springs in northern Thailand. *FEMS microbiology ecology*, 52(3), 365-376.
- Sonani, R. R., Singh, N. K., Kumar, J., Thakar, D., and Madamwar, D. (2014). Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: An antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in *Caenorhabditis elegans*. *Process Biochemistry*, 49(10), 1757-1766.
- Soni, B., Visavadiya, N. P., and Madamwar, D. (2009). Attenuation of diabetic complications by C-phycoerythrin in rats: antioxidant activity of C-phycoerythrin including copper-induced lipoprotein and serum oxidation. *British journal of nutrition*, 102(1), 102-109.
- Stal, L. J. (2012). Cyanobacterial mats and stromatolites. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 65-125). Springer, Dordrecht.
- Stewart, I., and Falconer, I. R. (2008). Cyanobacteria and cyanobacterial toxins. *Oceans and human health: risks and remedies from the seas*, 271-296.

- Stewart, W. D. P. (1973). Nitrogen fixation by photosynthetic microorganisms. *Annual Reviews in Microbiology*, 27(1), 283-316.
- Sukenik, A., Beardall, J., and Hadas, O. (2007). Photosynthetic characterization of developing and mature akinetes of *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanoprokaryota) 1. *Journal of Phycology*, 43(4), 780-788.
- Sun, L., Wang, S., Gong, X., Zhao, M., Fu, X., and Wang, L. (2009). Isolation, purification and characteristics of R-phycoerythrin from a marine macroalga *Heterosiphonia japonica*. *Protein Expression and Purification*, 64(2), 146-154.
- Tan, H., Gao, S., Zhuang, Y., Dong, Y., Guan, W., Zhang, K., vd (2016). R-Phycoerythrin induces SGC-7901 apoptosis by arresting cell cycle at S phase. *Marine drugs*, 14(9), 166.
- Taton, A., Grubisic, S., Balthasart, P., Hodgson, D. A., Laybourn-Parry, J., and Wilmotte, A. (2006). Biogeographical distribution and ecological ranges of benthic cyanobacteria in East Antarctic lakes. *FEMS microbiology ecology*, 57(2), 272-289.
- Thajuddin, N., and Subramanian, G. (2005). Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. *Current science*, 47-57.
- Tomaselli, L. (1997). Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (Spirulina) maxima and *Arthrospira* (Spirulina) platensis. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, 1-16.
- Tunail, N. 2009. Mikrobiyoloji. Pelin ofset, 448 s., Ankara
- Tütem, E., and Apak, R. (1991). Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using copper (II)—neocuproin reagent. *Analytica chimica acta*, 255(1), 121-125.
- Tütem, E., Apak, R., Günaydı, E., and Sözgen, K. (1997). Spectrophotometric determination of vitamin E (α -tocopherol) using copper (II)-neocuproine reagent. *Talanta*, 44(2), 249-255.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_2.pdf-AMD-TP-03-CLSI-KirbyBauer-disk-difuzyon-yontemi.pdf, Son Erişim Tarihi: 14.02.2023
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, MİK Saptama Yöntemleri. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_2.pdf-AMD-TP-04-MİK-saptamayontemleri.pdf, Son Erişim Tarihi: 14.02.2023
- Venugopal, V. C., Thakur, A., Chennabasappa, L. K., Mishra, G., Singh, K., Rathee, P., vd (2020). Phycocyanin extracted from *Oscillatoria minima* shows antimicrobial, algicidal, and antiradical activities: In silico and in vitro analysis. *Anti-Inflammatory*

and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents), 19(3), 240-253.

Walsby, A. E. (1987). Mechanisms of buoyancy regulation by planktonic cyanobacteria with gas vesicles. *The cyanobacteria*.

Walsby, A. E., Yacobi, Y. Z., and Zohary, T. (2003). Annual changes in the mixed depth and critical depth for photosynthesis by *Aphanizomenon ovalisporum* that allow growth of the cyanobacterium in Lake Kinneret, Israel. *Journal of plankton research*, 25(6), 603-619.

Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., and Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food chemistry*, 105(1), 36-41.

Ward, D. M., Castenholz, R. W., and Miller, S. R. (2012). Cyanobacteria in geothermal habitats. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 39-63). Springer, Dordrecht.

Warr, S. R. C., Reed, R. H., and Stewart, W. D. P. (1984). Physiological responses of *Nodularia harveyana* to osmotic stress. *Marine biology*, 79(1), 21-26.

Whitton, B. A. (2000). Introduction to the cyanobacteria. *The Ecology of Cyanobacteria* (Whitton BA and Potts M, eds).

Whitton, B. A., and Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 1-13). Springer, Dordrecht.

Wu, Q., Fu, X. P., Sun, L. C., Zhang, Q., Liu, G. M., Cao, M. J., vd (2015). Effects of physicochemical factors and in vitro gastrointestinal digestion on antioxidant activity of R-phycoerythrin from red algae *Bangia fusco-purpurea*. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1445-1451.

Yazıcı, C., ve Köse, K. (2004). Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-66.

Yılmaz, H. K., Dikbaş, M. D., ve Bilgüven, M. (2016). Siyanobakterilerden elde edilen pigment maddeleri ve kullanım alanları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1), 139-155.

Yılmaz-Cankılıç, M., ve Yılmaz-Sarıözlü, N. (2017). Borlu atık sulardan izole edilen siyanobakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 29.

Young, I. S., and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

Yücer, T. D., ve Pabuçcu, K. (2018). Phormidium Türlerinin Tıbbi Özelliklerinin Araştırılması. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(1), 101-115.

Zgoda, J. R., and Porter, J. R. (2001). A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharmaceutical Biology*, 39(3), 221-225.

Zhang, Y., Chen, X., Zhou, B., Zeng, C., Liu, J., Shi, D., vd (1999). A new model of phycobilisome in *Spirulina platensis*. *Science in China Series C: Life Sciences*, 42(1), 74-79.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Merve KARAASLAN

Bilimsel Faaliyetler

1-) Karaaslan, M., Konar, V., (2021, 17-18 Aralık). Fikoeritrinin Kısmi Saflaştırılması ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. 12. Uluslararası Fen ve Mühendislik Bilimleri Araştırmaları Kongresi (UBAK), İzmir.

