



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

***Spirulina platensis* MİKROALGİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Begüm KURBE

185107007

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Oya Irmak CEBECİ

HAZİRAN 2021



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

***Spirulina platensis* MİKROALGİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Begüm KURBE

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Oya Irmak CEBECİ

HAZİRAN 2021

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı titizlikle yöneten, çalışma süresince her türlü teşvik ve fedakarlığı esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim kıymetli hocam Dr. Öğretim Üyesi Oya Irmak CEBECİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde gerekli laboratuvar imkanlarının ve ekipmanlarının sağlanmasında yardımcı olan GTS Test Laboratuvarları San. Tic. A.Ş.'ye sevgi ve saygı ile teşekkürlerimi sunarım. 2020/YL/0003 no'lu yüksek lisans projesi ile tezimi maddi olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na ayrıca teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında beni maddi ve manevi destekleriyle yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Mayıs 2021

Begüm Kurbe
Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
1.1 Alglerin Terapötik Özellikleri	3
1.1.1 Antioksidan aktivite	4
1.1.2 Antimikrobiyal Aktivite	4
1.2 Patojen Mikroorganizmalar	6
1.2.1 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6
1.2.2 <i>Salmonella typhimurium</i>	6
1.2.3 <i>Bacillus cereus</i>	7
1.2.4 <i>Escherichia coli</i>	7
1.2.5 <i>Listeria monocytogenes</i>	8
1.2.6 <i>E.coli O157</i>	8
1.2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
1.2.8 <i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	9
1.3 Optimizasyon	9
1.4 Yanıt Yüzey Metodu (RSM)	10
2 MATERYAL METOT	11
2.1 Materyaller	11
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Alg Örneğinin Yetiştirilmesi	11
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	11
2.1.3 Besiyerlerinin hazırlanması	11
2.1.4 Kimyasallar	13
2.2 Metot	14
2.2.1 Örneklerin Hazırlanması	14
2.2.2 Yüzey Yanıt Metodu ile Optimizasyon	14
2.2.3 Ekstraksiyon İşlemi	16
2.2.4 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	17
3 BULGULAR	19
3.1 <i>Listeria monocytogenes</i> için inhibisyon zonu sonuçları	20
3.2 <i>Salmonella typhimurium</i> için inhibisyon zonu sonuçları	23
3.3 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> için inhibisyon zonu sonuçları	25
3.4 <i>Bacillus cereus</i> için inhibisyon zonu sonuçları	27
3.5 <i>Staphylococcus aureus</i> için inhibisyon zonu sonuçları	28



3.6	<i>Bacillus spizizeni</i> için inhibisyon zonu sonuçları	30
3.7	<i>Escherichia coli</i> için inhibisyon zonu sonuçları.....	33
3.8	<i>Escherichia coli</i> O157 inhibisyon zonu sonuçları.....	34
3.9	Validasyon.....	37
4	TARTIŞMA ve SONUÇ	40
	KAYNAKLAR	48
	ÖZGEÇMİŞ.....	81





KISALTMALAR

ATCC	: Amerikan Tip Kùltür Koleksiyonu
β-karoten	: Provitamin A
GLA	: Gamma linolenik asit
IFP	: Fransız Petrol Araştırma Enstitüsü
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
AIDS	: Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliğı Sendromu
pH	: Hidrojenin Gücü
E.coli	: Escherichia coli
L. monocytogenes	: Listeria monocytogenes
V. parahaemolyticus	: Vibrio parahaemolyticus
RSM	: Yanıt Yüzey Metodu
B.spizizenii	: Bacillus spizizenii
TSA	: Triptik Soy agar
TBX Agar	: Tryptone Bile X glucoronide Agar
MYP Agar	: Mannitol Egg yolk Polymyxine
XLD Agar	: Xylose Lysine Deoxycholate Agar
CCD	: Central Composite Design
B. cereus	: Bacillus cereus
V. parahaemolyticus	: Vibrio parahaemolyticus



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1 Bazı denizel alg türlerinin antimikrobiyel aktiviteleri	5
Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	12
Çizelge 2.2 Deneme deseni faktörleri	14
Çizelge 2.3 Deneme deseni ve uygulanan denemeler	15
Çizelge 3.1 <i>Spirulina platensis</i> ekstraktının antimikrobiyal etkileri deney sonuçları	19
Çizelge 3.2 <i>Listeria monocytogenes</i> için ANOVA sonuçları	21
Çizelge 3.3 <i>Salmonella typhimurium</i> için ANOVA sonuçları	23
Çizelge 3.4 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> için ANOVA sonuçları	25
Çizelge 3.5 <i>Bacillus cereus</i> için ANOVA sonuçları.....	27
Çizelge 3.6 <i>Staphylococcus aureus</i> için ANOVA sonuçları.....	29
Çizelge 3.7 <i>Bacillus spizizeni</i> için ANOVA sonuçları	31
Çizelge 3.8 <i>Escherichia coli</i> için ANOVA sonuçları	33
Çizelge 3.9 <i>Escherichia coli</i> O157 için ANOVA sonuçları	35
Çizelge 3.10 Optimizasyon validasyonunda kullanılacak faktörler.....	37
Çizelge 3.11 Optimum nokta validasyonunda çözümler	38
Çizelge 3.12 Optimizasyon validasyonunda beklenen ve elde edilen değerler	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1 <i>Spirulina platensis</i> (a) ve <i>Spirulina maxima</i> (b)'nin mikroskopik görüntüsü [2].	1
Şekil 2.1 <i>Spirulina platensis</i> 'in geliştirildiği LED ışık ceketli fotobiyoreaktör	11
Şekil 2.2 Ekstraktların hazırlanma aşamaları	16
Şekil 2.3 Çalışmada kullanılan bakteri suşları	17
Şekil 2.4 Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanma aşamaları	18
Şekil 3.1 İşlem parametreleri ve hekzan solventinin <i>Listeria monocytogenes</i> 'e ait zon oluşumuna etkisi	22
Şekil 3.2 İşlem parametreleri ve metanol solventinin <i>Listeria monocytogenes</i> 'e ait zon oluşumuna etkisi	22
Şekil 3.3 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>Salmonella typhimurium</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	24
Şekil 3.4 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>Salmonella typhimurium</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	24
Şekil 3.5 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>Vibrio parahaemolyticus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	26
Şekil 3.6 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>Vibrio parahaemolyticus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	26
Şekil 3.7 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>Bacillus cereus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	28
Şekil 3.8 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>Bacillus cereus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	28
Şekil 3.9 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	30
Şekil 3.10 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a ait zon oluşumuna etkisi	30
Şekil 3.11 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>Bacillus spizizeni</i> 'ye ait zon oluşumuna etkisi	32
Şekil 3.12 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>Bacillus spizizeni</i> 'ye ait zon oluşumuna etkisi	32
Şekil 3.13 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>E.coli</i> 'ye ait zon oluşumuna etkisi	34
Şekil 3.14 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>E.coli</i> 'ye ait zon oluşumuna etkisi	34
Şekil 3.15 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin <i>E.coli</i> O157'ye ait zon oluşumuna etkisi	36
Şekil 3.16 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin <i>E.coli</i> O157'ye ait zon oluşumuna etkisi	36



***Spirulina platensis* MİKROALGİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

ÖZET

Sunulan bu tez çalışmasında, uygun kültür koşullarında üretilen *Spirulina platensis* mikroalginin, farklı solventler (su, metanol, hekzan) kullanarak elde edilen ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmasının temel amacı, *Spirulina platensis*' den elde edilen ekstraktların gıdalarda bozulmalara sebep olan bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini test etmektir.

Elde edilen ekstraktların antibakteriyel etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *E.coli* (O157:H7) (ATCC 43888) bakterileri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Spirulina platensis'in, hekzan ekstraktlarının *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) bakterilerine karşı en yüksek bakteriyel etkiye sahip olduğu, metanol ekstraktlarının ise *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633) bakterilerine karşı en yüksek bakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*; antibakteriyel, metanol; hekzan; ekstrakt



ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF EXTRACTS FROM *Spirulina platensis*

ABSTRACT

In this thesis study presented, the antibacterial activities of the extracts of *Spirulina platensis* Algae produced under suitable culture conditions using different solvents (Methanol, Hexane) were investigated. The main purpose of the thesis is to test the antimicrobial effect of the extracts obtained from *Spirulina platensis* against bacteria that cause food spoilage.

Antibacterial effects of the extracts obtained were tested on *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 14028) *Escherichia coli* (O157: H7) (ATCC 43888) bacteria by using disk diffusion method.

Spirulina platensis, hexane extracts were found to have the highest bacterial effect against *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) bacteria. Methanol extracts were found to have the highest bacterial effect against *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633) bacteria.

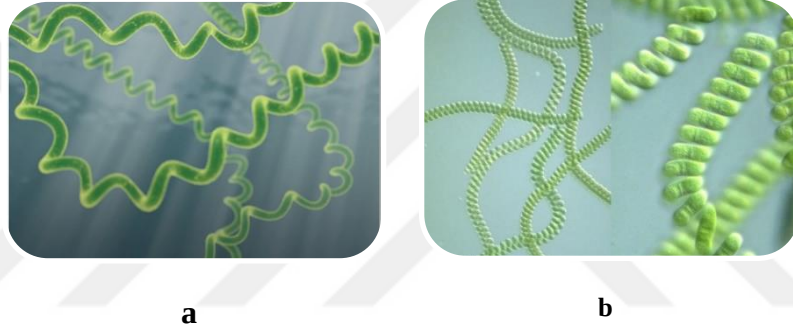
Keywords: *Spirulina platensis*; antibacterial; methanol; hexane; extract



1. GİRİŞ

Algler, deniz ve tatlı su ortamları, çöl ortamı, kaplıcalar, buzul ortamları gibi pek çok farklı ekosistemde yaşayabilmektedir. Alglerin sistematigi farklı algal türlerde bulunan fotosentetik pigmentlerin çeşit ve bunların kombinasyonlarına göre belirlenmektedir. Bu sınıflandırmaya göre ökaryotik algler 2 ana grup altında incelenmektedir; birinci grup prokaryotlar olarak adlandırılan mavi-yeşil algler'dir ve klorofil a pigmentini içermektedir; ikinci grup ise klorofil a, klorofil b, β - ve α -karoten ile ksantofiller gibi birçok pigmente sahip olan yeşil algler, kırmızı algler ve kahverengi algler olarak isimlendirilen gruptur [1].

Mavi-yeşil algler sınıfına dahil olan *Spirulina* (Şekil 1), bilimsel ve endüstriyel olarak en çok yetiştiriciliği yapılan ve en önemli mikroalg türlerinden birisidir [2].



Şekil 1.1 *Spirulina platensis* (a) ve *Spirulina maxima* (b)'nin mikroskopik görüntüsü [2].

Spirulina platensis'in taksonomik durumu şu şekildedir;

Domain	<i>Prokaryota</i>
Alem	<i>Eubacteria</i>
Divizyo	<i>Cyanobacteria</i>
Sınıf	<i>Cyanophyceae</i>
Takım	<i>Spirulinales</i>
Familya	<i>Spirulinaceae</i>
Cins	<i>Spirulina</i>
Tür	<i>Spirulina platensis</i> (Gomont) Geitler 192

Spirulina'nın dört yüzyıl kadar önce Aztek uygarlığında besin olarak değerlendirildiğine dair belgeler bulunmaktadır. Günümüzde de Çad Cumhuriyeti'nde Çad Gölü civarında yaşayan Kanembu kabilesi tarafında "dihe" adıyla kurutulmuş ekmecek olarak kullanılmaktadır. Son 30 yıldır ise besin ve özel yem halinde ticari olarak üretilmektedir [3]. *Spirulina*'nın besin olarak güvenilirliği çok sayıda toksikolojik çalışmayla ve yüzyıllar boyu insanlar tarafından kullanılmasıyla kanıtlanmıştır [4,5].

Spirulina'ya gösterilen bilimsel ve endüstriyel ilgi esas olarak protein, esansiyel aminoasitler, B12 vitamini, provitamin A (β -karoten) ve γ -linolenik asit (GLA) gibi esansiyel yağ asitleri potansiyeli sebebiyle gerçekleşmiştir. Son yıllarda ağır metallerin absorpsiyonu, radyasyona karşı koruma etkileri, bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri ile antikarsinogenik, antitumor, anti-inflamatuar gibi terapötik etkilerinin yanı sıra antiviral, antibakteriyel, antifungal ve antiparazit faaliyetleri gibi diğer biyolojik işlevlere sahip olmaları da hem mikroalgleri hem de *Spirulina* türlerini önemi yadsınamaz bir araştırma konusu haline getirmiştir [6, 3, 7, 8, 9, 10, 11].

Spirulina ilk kez 1927 yılında Turpin tarafından izole edilerek, 1962 yılında Fransız Petrol Araştırma Enstitüsü (IFP)'nın maviyeşil algler grubundan biri olan *Spirulina*'nın çok zengin bir gıda maddesi olduğunu belirtmesi ile önemi anlaşılmıştır [12]. *Spirulina* yüksek alkaniteye sahip subtropik alanlarda bulunmakta ve gelişmektedir. *Spirulina* türlerinin optimum gelişme sıcaklığı 30-35°C'dir. Uyum gösterebildiği minimum sıcaklık 18 °C, maksimum sıcaklık ise 39 °C olarak belirlenmiştir [12,13]. *Spirulina*'nın koyu yeşil rengi, karotenoid (turuncu), fikosiyain (mavi) ve klorofil (yeşil) pigmentlerinden kaynaklanmaktadır. *Spirulina* kültürlerinde sıcaklık artışı ile klorofil a'daki fikobiliprotein oranı da artmaktadır, 42-43°C sıcaklıkta ise klorofil a ve fikobiliproteinlerin yapısının bozulması ve karotenoidlerin miktarının artmasından 35°C'deki karakteristik mavi-yeşil renginin yeşile dönüştüğü gözlemlenmiştir [14,15,16]. *Spirulina*'da bulunan karotenoidler arasında astaksantin, zeaksantin ve β -karoten bulunmaktadır [17]. *S. platensis*'in zeaksantin, beta karoten ve astaksantin içeriğinin kuru ağırlık bazında sırasıyla, 1.46, 1.74 ve 0.43 mg / g olduğu bildirilmiştir. *Spirulina*'da tanımlanan diğer karotenoidler, genellikle daha düşük konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen, ksantaksantin ve luteini de içermektedir [18]. *S. platensis*'te bulunan pigmentler yalnızca bir renklendirici olarak değil, aynı zamanda potansiyel sağlık yararları olan bir bileşen olarak da kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda antitümör, kemoprotektif, antioksidan, antiinflamatuar ve

antimikrobiyal özelliklerin yanı sıra fotosensitize ediciler olarak potansiyel kullanımları görülmüştür [19,20]. *Spirulina* sp., tiamin, riboflavin, niasin ve doğadaki en zengin bitkisel B12 içeriğine sahip olup vücutta emilim oranı yüksek kalsiyum, demir, selenyum, çinko gibi pek çok önemli mineralleri de içermektedir [21, 22]. Ayrıca *Spirulina* türleri DNA onarımı, elektron transferi, yağ asidi sentezinde anahtar rol oynamaktadır [23]. *Spirulina* içeriğindeki % 65 protein oranı ile herhangi bir doğal besin maddesinden çok daha fazla protein içermekte olup yağ oranı %15-20 dir. Doymamış yağ asitleri oranı ise yüksektir [21]. *Spirulina* protein pigment kompleksleri olarak fikobilizomları da içermekte olup fikobiliproteinler (% 80-85) adlı parlak renkli polipeptitlerden oluşur. Bu mikroalge ait iki önemli biliprotein, aynı kromoforik gruba sahip olan fikosiyanin ve allofikosiyanin'dir [24, 25]. Farklı araştırmalarda *S. platensis*'in antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmiş olup, antioksidan özelliğinin ana kaynağının ise içeriğindeki birçok maddenin yanı sıra temel olarak fikosiyaninden geldiği bildirilmiştir. Fikosiyanin denilen pigmentin antioksidan özelliği yanı sıra serbest radikallerin yok edilmesinde, antiinflamatuvar ve nöroprotektif etkilerin bulunduğu saptanmıştır [26,27]. Yapılan çalışmalarda küçük dozlarda alınan *Spirulina* 'nın hem hümmoral hemde bağışıklık sisteminin hüccresel mekanizmayı onardığı rapor edilmiştir [28, 29].

Tezin amacı, farklı solventler (metanol, hekzan ve su) kullanılarak elde edilen mikroalgal ekstraktların, gıdalarda raf ömrü boyunca bozulmalara sebep olan gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibakteriyal etkilerinin araştırılmasıdır.

1.1 Alglerin Terapötik Özellikleri

Spirulina uluslararası pazarda çok kabul gören besleyici bir besin maddesi olarak ifade edilebilir Besin değeriinin ötesinde, *Spirulina* türleri spesifik terapötik özelliklere sahiptir. Bazı *Spirulina* türlerinin immüno-modülasyon ve biyomodülasyon özellikleri sergilediği belirtilmiştir. Ayrıca, bağışıklık sistemi üzerinde olumlu ve düzenleyici bir etkiye sahip olduğu belirtilmiş, birçok çalışmada insan ve hayvanlarda immün arttırıcı özellikleri keşfedilmiştir [30, 31]. Bununla birlikte gerçekleştirilen moleküler çalışmalarda, çeşitli kanser türleri, AIDS ve diğer viral hastalıkları olan deneklerde immünolojik direnci artırdığı da saptanmıştır. [32, 33].

1.1.1 Antioksidan aktivite

Antioksidanlar, insan vücudunun membran lipidlerine, proteinlerine ve DNA gibi makromoleküllerine saldıran, kanser, diyabet, yaşlanma ve nöro-dejeneratif gibi sorunlara karşı koruyabilen aktivitelere sahiptir [34]. Alglerin antioksidan aktivite gösteren tanen, fenol ve flavonoid gibi fenolik yapıdaki bileşenleri içerdiği bildirilmiştir [35, 36, 37]. Algler ile yapılan çalışmalarda ekstraktlarında bulunan polifenollerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur [35, 36]. Denizel alglerde bulunan ve güçlü antioksidanlar olarak gösterilen bileşiklerden fukoksantin, fikoeritrobin, klorofil ve bunların türevlerinin, radikal süpürücü etkisi, tekli oksijen söndürme aktivitesi, lipid peroksit inhibisyonu, süperoksit radikali ve hidroksil radikali süpürme gibi aktiviteleri mevcuttur [38]. Antioksidan aktivite dışında alglerin antimikrobiyal [39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48], anti-inflamatuvar [39, 41, 42, 47, 48] ve antiviral [41, 49, 50, 51, 52] aktivitelerinin de olduğu belirlenmiştir.

1.1.2 Antimikrobiyal Aktivite

Doğada yaşayan birçok canlının kendine ait bir savunma sistemi vardır. Bazı bakteriler, filamentli küfler ve bitkiler bu savunma sisteminde görev alan antimikrobiyal bileşikler üretmektedirler [53]. Hayatta kalmak için ekolojik basınca bir cevap olarak ürettikleri ikincil metabolitler olarak da adlandırılan biyoaktif bileşenlerden bazıları diğer rekabetçi mikroorganizmaların büyüme ve gelişmesini sınırlandırıcı ya da engelleyici (antimikrobiyal) özellik göstermektedir [54, 55]. Alglerin üretmiş olduğu yağ asitleri, hidroksil doymamış yağ asitleri, glikolipitler, steroidler, fenolikler ve terpenoidlerin potansiyel antibiyotikler olarak tanımlanmaktadır [56, 57, 58]. Yapılan bir çalışmada beş tatlı su alg türü olan *Anabaena sphaerica*, *Chroococcus turgidus*, *Oscillatoria limnetica*, *Spirulina platensis* ve *Cosmarium leave* türlerinin, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Streptococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel aktiviteye sahip polisakaritler içerdiği bildirilmiştir [59]. Aynı zamanda *Spirulina* türleri tarafından üretilen fikosiyaninin *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *E. coli*, *Bacillus* sp., ve *Pseudomonas* sp. üzerine antibakteriyel etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır [60, 61]. Alglerde bulunan bu antimikrobiyal bileşikler sayesinde insanların yararına olabilecek alanlarda bu özellikten yararlanılmaktadır [62]. Bazı denizel alg türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri Çizelge 1.1 'de listelenmiştir.

Çizelge 1.1 Bazı denizel alg türlerinin antimikrobiyel aktiviteleri

Tür	Mikroorganizma	Kaynak
<i>Caulerpa racemosa</i> , <i>Ulva lactuca</i> , <i>Gracilaria folifera</i> , <i>Hypneme muciformis</i> , <i>Sargassum myricocystum</i> , <i>Sargassum tenneerimum</i> , <i>Padina tetrastomatica</i>	<i>Klebsiella pnemoniae</i> , <i>Enterobacter aerogens</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Enterobacter faecalis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	[63]
<i>Sargassum wightii</i> , <i>Amphiroa anceps</i> , <i>Padina tetrastomatica</i> , <i>Stoechospermum marginatum</i> , <i>Gracilaria pygmaea</i> , <i>Ulva fasciata</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	[64]
<i>Laminaria digitata</i> , <i>Laminaria saccharina</i> , <i>Himanthalia elongata</i> , <i>Palmaria palmata</i> , <i>Chondrus crispus</i> , <i>Enteromorpha spirulina</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella abony</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[65]
<i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha linza</i> , <i>Ulva rigida</i> , <i>Cystoseira barbata</i> , <i>Padina pavonica</i> , <i>Corallina officinalis</i> , <i>Ceramium ciliatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escheria coli</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[66]
<i>Colpomenia sinuosa</i> , <i>Dictyota dichotoma</i> var. <i>Implexa</i> , <i>Petalonia fascia</i> , <i>Scytosiphon lomentaria</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>methisilin-oksasilin dirençli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>hemorojik Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i>	[67]
<i>Spatoglossum asperum</i>	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhi</i>	[68]

1.2 Patojen Mikroorganizmalar

Patojenlik mikroorganizmaların hastalık yapabilme yeteneğidir. Bazı mikroorganizmalar insanda veya insanın kullandığı bitki ve hayvanlarda hastalık meydana getirebilmektedir. Bir bakterinin patojen olup olmaması konusundaki temel özellik minimal enfeksiyon dozunun düşük olmasıdır. Bu durumda, minimal enfeksiyon dozu ne kadar düşük ise bakterinin patojenitesi o denli yüksektir.

1.2.1 *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus, Vibrinaceae familyasında bulunan gram negatif, spor oluşturmeyen, çubuk veya bükülmüş çubuk şekillerinde gözlemlenen polar flagellasıyla hareket kabiliyetine sahip bir bakteridir [69, 70]. *V. parahaemolyticus* gelişimi için ortamda %2-3 oranında NaCl bulunması gerekmekte olup optimal tuz ihtiyacı %3'tür. Bu sebeple zorunlu halofil olarak tanımlanmaktadır. Mezofil bir bakteri olan *V. parahaemolyticus*'un optimum üreme sıcaklığı 37 °C olup, minimum 5 °C ve maksimum 43 °C'de gelişebilmektedir. *V. parahaemolyticus*'un gelişebildiği minimum su aktivitesi (a_w) değeri 0,94'tür [71]. Optimum koşullar sağlandığında *V. parahaemolyticus*'un generasyon süresi oldukça hızlı olup, bu süre 9-13 dakika olabilmektedir [69]. *V. parahaemolyticus* çiğ ya da az pişmiş deniz ürünlerinin tüketilmesini takiben ortaya çıkan şiddetli kramp, karın ağrısı, kusma ve kanlı diyare ile karakterize akut bir gıda enfeksiyonuna neden olmaktadır [70, 72, 73]. Bununla birlikte yolcu hastalığı, yara enfeksiyonu, kulak enfeksiyonu ve sekonder septisemi de *V. parahaemolyticus*'un insanlarda sebep olduğu diğer hastalıklardır [73]. Mikroorganizma insanlar için patojen özellik göstermekte olup doğal yaşamı denizlerdir. Bu nedenle morina, sardalya, uskumru, dere pisi, istiridye, ahtapot, karides, yengeç, ıstakoz, kerevit, deniz kabuğu, istiridye ve diğer yüzgeçli balıklar gibi deniz kaynaklı gıdalardan izole edilmektedir [70].

1.2.2 *Salmonella typhimurium*

Salmonella ilk olarak Salmon ve Smith tarafından 1885 yılında domuzdan izole edilerek *Bacillus choleraesuis* olarak isimlendirilmiştir [74, 75, 76]. 1986 yılında ise David Salmon'a atfen bu cinse *Salmonella* adı verilmiştir [77, 78]. 1982 yılında farelerde ortaya çıkan diyare salgınında etken olarak *Bacillus typhimurium* izole edilmiş olup bu suş 1919 yılında Castellini ve Chalmers tarafından *Salmonella typhimurium* olarak isimlendirilmiştir [79]. *Salmonella*'lar bakteriyolojik

identifikasyon metotlarının gelişmesi ile *Salmonella* soyu altında typhus, paratyphus ve enteridis olarak 3 gruba ayrılmış ve *Enterobacteriaceae* familyasına dahil edilmiştir [77, 80]. *Salmonella sp.* için gıdalarda optimum gelişebileceği a_w değerinin 0,995 ve minimum 0,930 olduğu, ortam su aktivitesinin bu değer altına düştüğünde ise inhibe oldukları bildirilmiştir [77, 81, 82]. *Salmonella* türlerinin antibakteriyel ilaçlara karşı direnci değişkenlik göstermektedir [83].

1.2.3 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, peritriköz kamçı (tüm yüzeyde kamçılı) vasıtasıyla hareketlerini sağlayarak gama fajı ile oluşan lizise karşı direnç göstermektedirler. Bu bakteri türleri kanlı agar besiyerinde, zayıf veya kuvvetli bir β -hemolitik zonlarla düz veya hafif dışbükey, düzensiz, hafif yeşil bir renk tonu ile donuk gri koloniler olarak yaklaşık 2-5 mm çapında koloni oluşturmaktadırlar [84]. Bazı durumda, pürüzsüz koloniler oluşturarak tek başına veya kaba kolonilerin ortasında gelişmektedir [85]. 5-50 °C arasındaki sıcaklıklarda optimum olarak gelişmekte olup çok çeşitli çevresel koşullara uyum sağlayabilmektedirler [84]. Gelişebildiği minimum a_w değeri 0.93 olup, optimal pH aralığı 4.9-9.3'tür. Ortalama %7.5-10 oranında NaCl içeren ortamlarda ise *Bacillus cereus*'un birçok suşu gelişebilmektedir [86]. Bazı suşları insanlar için zararlıdır ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olması ile insanların korunması gereken bakteri suşlarından biridir [87].

1.2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* ailesine ait bir Gram negatif bakteridir [88]. Az hareketli 2-6 μm boyunda çomakcıklardır. Optimal gelişme ısısı 37°C olmasına rağmen 20-44°C arasında da gelişme gösterebilmektedirler [89]. İnsanların ve hayvanların özellikle kalın bağırsağında normal flora üyesi olarak bulunurken gerek gastrointestinal sistem içinde gerekse de dışında patojen olarak rol alabilmektedirler [90]. Genel olarak ishal, kolesistit, kolanjit, diyare, dizanteri, yeni doğanlarda menenjit, idrar yolu enfeksiyonları gibi hastalıklara sebep olurlar [91]. Yapılan çalışmalarda mevcut antibiyotik direnç krizinin temel nedeninin çeşitli insan faaliyetlerine bağlı olabileceği ve antibiyotiklerin aşırı kullanımının direncin evrimini açıkça etkileyebileceği gösterilmiştir [92].

1.2.5 *Listeria monocytogenes*

Listeria cinsi bakteriler sporsuz ve fakültatif anaerob, 1-2 µm uzunluğunda ve 0.5 µm genişliğinde yuvarlak uçlu gram pozitif çomak şeklinde bakterilerdir [93]. Optimum gelişme sıcaklığı 35-37°C olan bu bakteriler, -0.4°C ile 45°C gibi oldukça geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilme yeteneğine sahiptirler. Psikrotrof özelliğine sahip olduklarından buzdolabı sıcaklığında da varlıklarını sürdürebilmekte olup, soğutulmuş gıdalarda gelişerek halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturmaktadır. 0.90 a_w, 4.0 ila 9.6 pH aralığında (optimum 6.8) aerobik ve anaerobik koşullarda gelişebilmektedirler [93, 94, 95, 96]. *Listeria* cinsinin günümüzde 21 adet türü bulunmaktadır ve bu türler içinde insan patojeni olarak en sık rastlanılan türün *L. monocytogenes* olduğu rapor edilmiştir [97].

1.2.6 *E.coli* O157

E.coli O157:H7 cinsi bakterilerinin minimum gelişme sıcaklığı 8°C, maksimum gelişme sıcaklığı 44-45°C olduğu belirtilmiştir [98,99]. Yapılan çalışmalarda merkez sıcaklığı 60°C olan 2-3 dakikalık pişirme işlemine tabi tutulan ürünlerde *E.coli* O157:H7'nin öldüğü tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7 cinsi bakterilerin dondurma işlemlerine karşı da dayanıklı olduğu bildirilmiştir [98, 100, 101]. *E. coli* O157:H7 cinsi bakterilerin gelişmesi ve yaşamını sürdürmesi üzerinde etkili olan bir diğer kriter pH değeri olup, düşük pH'lı ortamlara karşı dayanıklı olduğu belirtilmiştir [98, 102, 103].

1.2.7 *Staphylococcus aureus*

Kok morfolojisinde, “Staphylococci” teriminin; Gram (+), tür ve suşların durumuna bağlı olarak hücre çapları yaklaşık 0,5 ile 1,5 µm arasında olan küçük bir grubu tanımladığı belirtilmiştir [115, 116, 117, 118]. Stafilokokların katalaz pozitif, oksidaz negatif, hareket yeteneği olmayan, kapsülsüz ve sporsuz bakterilerden oluştuğu belirlenmiştir [119, 120, 121, 122]. *Staphylococcus aureus* bakterisinin Gram pozitif olup, hareketsiz ve fakültatif anaerob özellikte olduğu görülmüştür. Yüksek konsantrasyonda tuz içeren ortamlarda ve 18- 40 C sıcaklık aralıklarında geliştiği gözlemlenmiştir [90]. *Staphylococcus aureus* bakterisinin, hastanın yaşı, iklimi veya coğrafi bölgesine bakılmaksızın dünya çapındaki cilt enfeksiyonlarında en sık izole edilen patojen olduğu gözlemlenmiştir [123]. Deri ve burun bölgesinde bulunması nedeniyle insanlarda sık sık hastane enfeksiyonlarına, gıda zehirlenmelerine ve akut

diareye neden olabileceği bildirilmiştir [90]. *Staphylococcus aureus* bakterisi normalde sağlıklı ciltte enfeksiyona neden olmaz iken kan dolaşımına veya iç dokulara girdiğinde, bazı ciddi enfeksiyonlara neden olabileceği görülmüştür [124].

1.2.8 *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*

Bacillus spizizenii bakterisi bir *Bacillus* türü olarak, genelde gram pozitif boyanmaktadır. Vejetatif formları düz, kenarları birbirine paralel, ucu yuvarlak veya künt biten, 0,5-1,2 mikrometre eninde 2,5-10 mikrometre boyundadır. Yapılan çalışmalarda tek tek veya uzun zincirler halinde olduğu gözlemlenmiştir [104].

Bacillus subtilis türleri, aerobik ve fakültatif anaerobik olarak 20-30°C’de gelişmekte olup kuluçka süresinin 2-18 saat olduğu belirtilmiştir [125]. *Bacillus spizizenii* bakterisinin vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecesine birkaç saat dayanabilmektedir. Toz, toprak, su ve her yerde bulunduklarından besin maddelerine kolaylıkla bulaşı sağlayabilmektedir. Süt ürünlerinde çoğaldıkları zaman kazeini parçaladıkları için zehirli maddeler açığa çıkarabilmektedir. Diğer besin maddelerinde üredikleri zaman ise toksin oluşturabilmektedir.

1.3 Optimizasyon

Optimizasyon; sistemin hedefleri doğrultusunda, sistemdeki değişkenlerin birbiriyle olan etkileşimleri ve bu bağımsız değişkenlerin hedefe olan etkileri de göz önünde bulundurularak bir araya getirilmesi ve sisteme uygulanması işlemidir [126]. Optimizasyonda ulaşılmak istenen hedefe etki eden çok sayıda yanıt kullanılmakta ve yanıtlar birbirleri ile etkileşim halinde oldukları için birlikte değerlendirmeye alınmaktadırlar. Böyle karmaşık yapıdaki sistemlerin optimizasyonlarında karışıklık ve hataları önlemek için constrained, desirability fonksiyonu, response surface methodology gibi yaklaşımlar geliştirilmiştir [127]. Yapılan çalışmalar neticesinde biyoteknoloji, gıda bilimi ve teknolojisi ve kimyasal teknolojiler alanında en çok kullanılan optimizasyon tekniklerden biri Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology) dir [126]. Bu yöntemde hedefi etkileyen parametreler bir arada ve eşzamanlı olarak incelenir. Böylece, prosesin işlem parametrelerindeki değişime verdiği yanıt olabilecek en az sayıda deneme yapılarak en iyi şekilde tanımlanabilmektedir.

1.4 Yanıt Yüzey Metodu (RSM)

“Response surface” metodoloji olarak da bilinen bu metotta, optimizasyon içeren istatistiksel ve matematiksel teknikler bir arada kullanılmaktadır. İlk olarak 1951 yılında “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile Box ve Wilson tarafından geliştirilmiş ve yine ilk olarak kimya endüstrisinde uygulanmıştır. 2000’li yıllardan bu yana da mühendislik alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. RSM “eleme denemeleri”, “bölge araştırması”, “ürün veya prosesin optimizasyonu” olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır [127]. Eleme denemeleri aşaması daha verimli ve daha az sayıda deneme yapılmasını saylayan aşamadır. Bölge araştırması aşamasında yapılan eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin sistem yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya yaklaşp yaklaşmadığı incelenmektedir. Prosesi etkileyen parametreler bağımsız değişken olarak adlandırılmaktadır. Sistemin bağımsız değişkenlere verdiği yanıtlar optimum noktaya yaklaşınca üçüncü aşamaya geçilir. Prosesin optimizasyonu aşamasında ise gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik gösterir. Bu eğrilik öngörülürken non-lineer, ikinci dereceden polinomiyal, üssel ya da eksponensiyel modeller kullanılır. Elde edilen uygun model optimum noktanın araştırılmasında kullanılmaktadır. Modelin matematiksel form uygunluğunun test edilmesi “Lack of fit” testi ve kalıntı analizi gibi farklı test yöntemleri uygulanmaktadır. Matematiksel form uygunsuzluğunun istatistiki olarak önemsiz olması ve regresyon modeli için de önemli olması beklenmektedir [126, 127, 128].

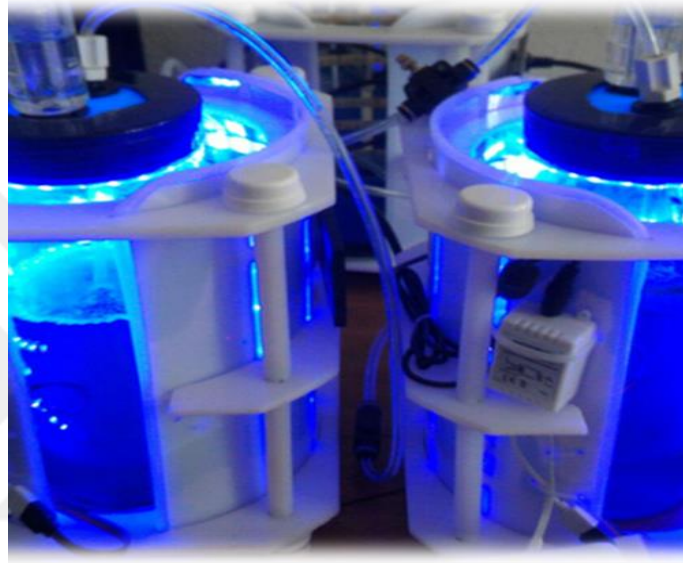
Yanıt yüzeyi yöntemi için üzerinde çalışılmış birçok özel tasarım mevcuttur. Bunlar dönersel tasarımlar ve merkezi kompozit tasarımıdır. Merkezi kompozit tasarım ikinci dereceden en çok başvuru alan tasarımlardan bir tanesidir ve merkez noktalı faktöriyel ve kesirli faktöriyel tasarımla başlayan ve eğriliği tahmin etmek için yıldız noktaları ekleyen bir deney tasarım yöntemidir. Bu tasarımın en önemli avantajı yeni bir deney tasarımına gerek duymadan, sadece yeni eksen ve merkez noktalarının eklenmesiyle yeni tasarımın elde edilmesidir.

2 MATERYAL METOT

2.1 Materyaller

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Alg Örneğinin Yetiştirilmesi

Schössler ortamındaki *Spirulina platensis*, Yalova Üniversitesi Gıda Biyokimyası ve Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda 25 ± 2 °C, $150 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 'de 24 saatlik kesintisiz aydınlatma koşulları ile 2 L'lik bir fotobiyoreaktörde (Şekil 2.1) geliştirilmiştir.



Şekil 2.1 *Spirulina platensis*'in geliştirildiği LED ışık ceketli fotobiyoreaktör

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

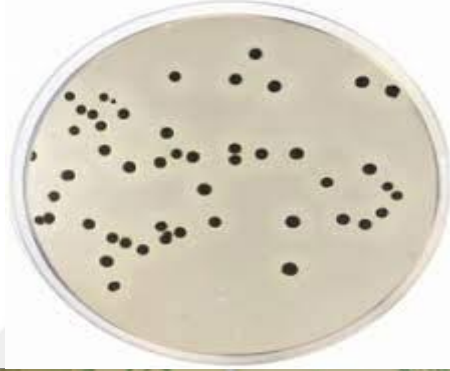
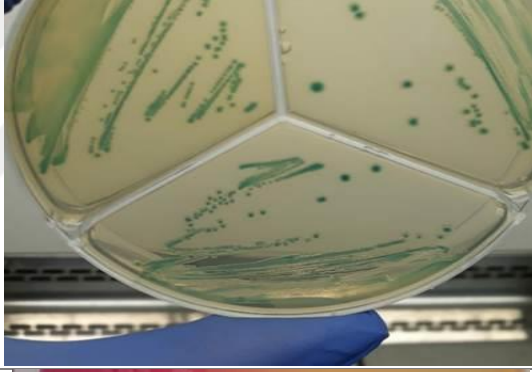
Bu çalışmada gram pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), gram negatif bakteriler *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *E.coli* (O157:H7) (ATCC 43888) olmak üzere toplam 8 bakteri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan suşlar Thermo Fisher firması tarafından temin edilmiştir.

2.1.3 Besiyerlerinin hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite testi için *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *B.spizizenii*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *E.coli* (O157:H7) bakterileri kullanılmış olup, analiz aşamasında selektif olmayan bir besiyeri olan Triptik Soy agar (TSA) kullanılmıştır. Ayrıca

kullanılan mikroorganizmaların canlandırma işleminden sonra elde edilen kültürlerine ait serolojik özelliklerin doğrulanması amacı ile her bir bakteri kendi selektif besiyerine ekilmiştir. Serolojik özelliklerinin kontrol edilmesi için kullanılan besiyerleri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

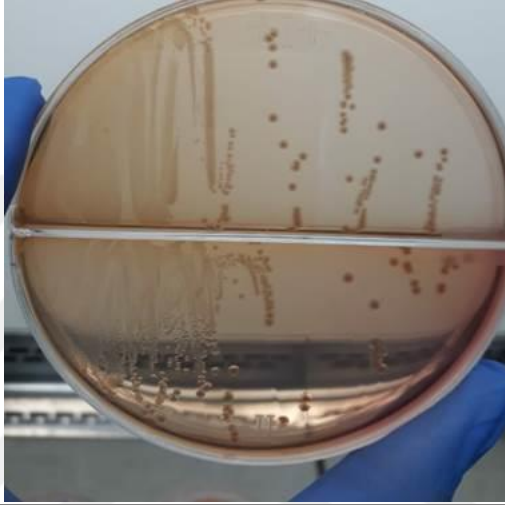
Çizelge 2.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri

Besiyeri	
Baird-Parker Agar	
TBX Agar	
MYP Agar	
XLD Agar	

Tuzlu Nutrient



Mac Conkey Agar



Oxford Agar



2.1.4 Kimyasallar

Çalışmada, Metanol (Merck), Hekzan (Merck), Alkaline peptone water (Biolife), Vibrio chromogenic agar (Labm), Xld agar (Biolife), Smac agar (Biolife), Tbx agar (Biolife), Bacillus cereus agar (Biolife), Baird parker agar (Biolife), Oxford agar (Merck), Nutrient broth (Biolife), Ct-supplement (Merck), Oxford supplement (Merck), Egg yolk tellurite emulsion %20 (Biolife), Egg yolk emulsion %50 (Biolife) kimyasalları kullanılmıştır.

2.2 Metot

2.2.1 Örneklerin Hazırlanması

Kültürler optik yoğunluk takibinden elde edilen sonuca göre, logaritmik fazın bitimi ve duraklama fazının başlamasıyla birlikte 0,45 µ göz açıklığına sahip olan Whatman GF/C membran filtre kağıtlarından vakumlu süzme düzeneği kullanılarak hasat edilmiştir. Elde edilen yaş biyokütleler Xianou XO 106 model liyofilizatörde -68°C’de 30-40 Pa basınç altında 18-24 saat kurutulmuştur. Kurutulan biyokütle, boyutlarının küçültülmesi için öğütücüde öğütülerek, ekstraksiyon işlemine kadar hava almayacak bir şekilde ambalajlanarak bekletilmiştir.

2.2.2 Yüzey Yanıt Metodu ile Optimizasyon

Ekstaktların eldesinde kullanılacak solvent/biyokütle oranları ve antimikrobiyal aktiviteyi tespit için kullanılacak ekstrakt konsantrasyonları yüzey yanıt yöntemi için etkili değişken faktörler olarak belirlenmiştir. Bu faktörlerin disk difüzyon yöntemi ile bulunacak antimikrobiyal aktivite değeri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla Yüzey Yanıt Metoduna (YYM) (Response Surface Methodology) bağlı Merkezi Bileşen Deneme Desenine (Central Composite Design (CCD)) göre hazırlanan faktörler ve deneme deseni sırasıyla Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3’te verilmiştir. Deneme deseni, Design Expert 11.0.5 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Çizelge 2.2 Deneme deseni faktörleri

Faktör	İsim	Birim	Tip	Minimum	Maksimum	En Düşük / Kod	En Yüksek / Kod
A	Solvent / Biyokütle Oranı		Numerik	4,00	16,00	-1 ↔ 5,00	+1 ↔ 15,00
B	Ekstrakt Konsantrasyonu	mg/ ml	Numerik	6,00	54,00	-1 ↔ 10,00	+1 ↔ 50,00
C	Solvent Cinsi		Kategorik	Hekzan – Metanol – Su			

Çizelge 2.3 Deneme deseni ve uygulanan denemeler

Std	Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3
		A: Solvent / Biyokütle	B: Ekstrakt Konsantrasyonu	C: Solvent Cinsi
11	1	10	30	Hekzan
15	2	10	30	Hekzan
8	3	10	54	Hekzan
36	4	10	30	Metanol
22	5	15	50	Metanol
35	6	10	30	Metanol
51	7	10	30	Su
54	8	10	30	Su
27	9	10	30	Metanol
40	10	15	50	Su
43	11	10	6	Su
23	12	4	30	Metanol
3	13	5	50	Hekzan
39	14	5	50	Su
52	15	10	30	Su
30	16	10	30	Metanol
12	17	10	30	Hekzan
49	18	10	30	Su
4	19	15	50	Hekzan
34	20	10	30	Metanol
33	21	10	30	Metanol
32	22	10	30	Metanol
6	23	16	30	Hekzan
38	24	15	10	Su
16	25	10	30	Hekzan
10	26	10	30	Hekzan
14	27	10	30	Hekzan
5	28	4	30	Hekzan
46	29	10	30	Su
45	30	10	30	Su
18	31	10	30	Hekzan
9	32	10	30	Hekzan
20	33	15	10	Metanol
28	34	10	30	Metanol
53	35	10	30	Su
21	36	5	50	Metanol
2	37	15	10	Hekzan
29	38	10	30	Metanol
1	39	5	10	Hekzan
42	40	16	30	Su
41	41	4	30	Su
19	42	5	10	Metanol
25	43	10	6	Metanol
24	44	16	30	Metanol
17	45	10	30	Hekzan
7	46	10	6	Hekzan
13	47	10	30	Hekzan
26	48	10	54	Metanol

48	49	10	30	Su
50	50	10	30	Su
37	51	5	10	Su
31	52	10	30	Metanol
47	53	10	30	Su
44	54	10	54	Su

2.2.3 Ekstraksiyon İşlemi

Toz haline getirilmiş *Spirulina* biyokütlesi Çizelge 2.3'te belirtilen oranlarda ve cinslerde solventler kullanılarak, daha önceden gerçekleştirilmiş ön denemelerde belirlenen, 60°C'de 20 dakika ultrasonik su banyosunda ultrasese maruz bırakılmış ve ardından oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Bu işlemden sonra ekstrakt 3500 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve dönerli buharlaştırıcı cihazında solventlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Solvent uzaklaştırıldıktan sonra yine Tablo 2.3'te belirtilen konsantrasyonlardaki ekstraktlar hazırlanmıştır. Konsantrasyonları ayarlanan ekstraktlar benzer çalışmalarda olduğu üzere antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılmak üzere +4°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir [129]. Ekstraktların hazırlanma aşamaları ve ekstraktlara ait bazı fotoğraflar Şekil 2.2'de verilmiştir.

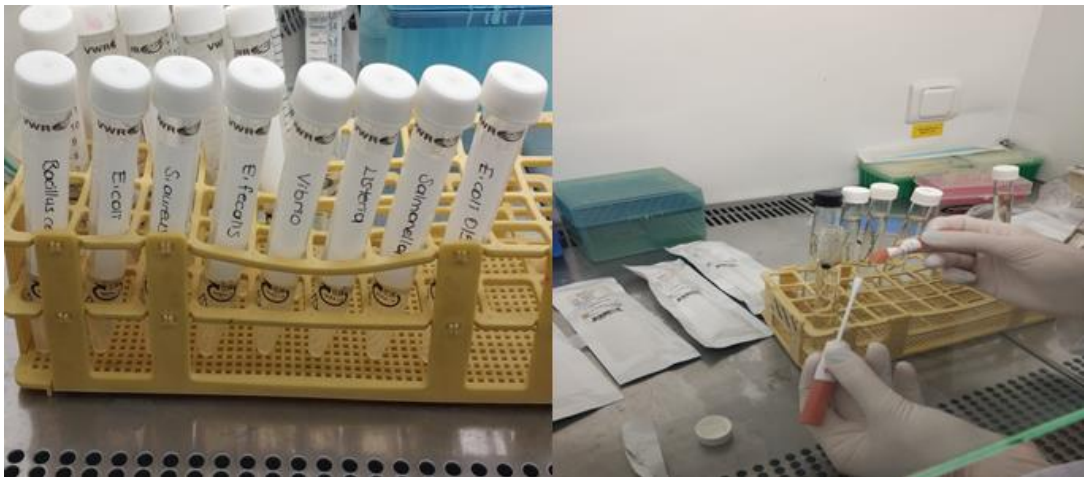


Şekil 2.2 Ekstraktların hazırlanma aşamaları

2.2.4 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Spirulina platensis'e ait farklı ekstraktların belirtilen bakteriler üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır [130, 131, 132]. 6 mm çapında olan boş steril disklere her konsantrasyondan 40 µl alg ekstraktı emdirilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite testi için *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *B.spizizenii* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *E.coli* (O157:H7) (ATCC 43888) için TSA agar, *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802) için ise tuzlu Nutrient agar besiyerleri kullanılmıştır. Bakteri suşları (Şekil 2.3) Mc Farland 0.5 (1.5×10^8)'e göre ayarlanmıştır. 121°C'de 15 dakika otoklavlanan besiyerleri, petrilere dökülmüş ve besiyerlerinin soğutulması sağlanmıştır (Şekil 2.4). Bu besiyerlerinin yüzeyine daha önceden 10^8 düzeyinde hazırlanan bakteri kültürleri eküvyon çubuğu yardımı ile yayılmıştır. Farklı dilüsyonlarda alg ekstraktı içeren diskler bakteri yayılmış besiyeri üzerine yerleştirildikten sonra 37 C'de inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece metanol, hekzan ve su emdirilmiş diskler kullanılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında inhibisyon zonları oluşup oluşmadığı gözlenerek disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları milimetrik cetvel kullanılarak ölçülmüş ve sonuçlar fotoğraflanmıştır (EK). Denemeler aseptik şartlar altında doğrulukları saptanması amacıyla iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir [133,134,135].



Şekil 2.3 Çalışmada kullanılan bakteri suşları



Şekil 2.4 Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanma aşamaları



3 BULGULAR

Bu çalışmada, *Spirulina platensis* örneklerinin metanol, hekzan ve sudan elde edilmiş ekstraktlarının gram (+) ve gram (-) bazı bakteriler üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktların kullanılan bakteri suşlarına karşı oluşturdukları inhibisyon zonları disk ve etrafında oluşan zonu ile tüm sınırı ölçülerek milimetrik olarak kaydedilmiştir. Solvent olarak “su” kullanımında hiçbir besiyortamında zon oluşumu gözlenmemiş olup hekzan ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarda gözlenen antimikrobiyal etki inhibisyon zonu olarak Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 *Spirulina platensis* ekstraktının antimikrobiyal etkileri deney sonuçları

A	B	C	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. spizizeni</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157	
Solvent: Biyokütle	mg/ml	Solvent	Zon (mm)								
1	16	30	Metanol	0	1	0	0	0	0	0	
2	10	54	Metanol	7	7	1	8	7	8	7	
3	10	6	Hekzan	0	0	0	0	0	0	0	
4	15	10	Hekzan	0	0	0	0	0	0	0	
5	10	54	Hekzan	7	1	1	6	0	8	5	
6	16	30	Hekzan	0	0	0	0	0	0	0	
7	10	30	Metanol	0,5	6	2	6	6	7	6	
8	10	30	Hekzan	0	0	0	0	0	7	6	
9	15	50	Hekzan	0	0	0	0	0	6	0	
10	10	6	Metanol	0	2,5	0	0	0	0	0	
11	10	30	Hekzan	0,1	0	0	0	0	7,5	6,5	
12	15	10	Metanol	0	6	0	0	0	0	0	
13	10	30	Hekzan	0,1	1	0	0	0	7	6,5	
14	10	30	Hekzan	0,1	0	0	0	0	7,5	6,1	
15	10	30	Hekzan	0,1	1	0	0	0	7	6,2	
16	4	30	Metanol	9	9	8	10	9	11	9	
17	10	30	Metanol	0,5	6	0	6	6	7,5	6	
18	4	30	Hekzan	9	8	8	8	8	10	8	
19	10	30	Metanol	0,6	6,5	0	6	6	7	6,5	
20	15	50	Metanol	0	0,1	0	0	0	5	0	
21	5	10	Hekzan	7	6	6	6	6	8	5,5	
22	5	50	Metanol	8	9,5	7	8	8	9	8	
23	10	30	Metanol	0,6	6	0	6	6	7,5	6	
24	5	10	Metanol	7	7	6	9	7	8	7	

25	5	50	Hekzan	8	8	7	7	7	9	7	6,5
26	10	30	Metanol	0,5	7	0	6	6	7	6,5	6,5

Çizelge 3.1’de *Spirulina platensis*’dan elde edilen hekzan ve metanol ekstraktlarının test bakterilerine karşı antibakteriyal etkileri görülmektedir. Elde edilen zon çaplarına göre *Spirulina platensis* alginin hekzandan elde edilen ekstraktlarında *B.spizizenii*’ye karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal aktivite diğer test bakterilerine göre yüksektir. Hekzan muamelesi ile elde edilen ekstraktlar bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisini sıralamak gerekirse ilk olarak *B.spizizenii* ardından eşit etkilenen *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* bakterileri gelmektedir. Ayrıca ekstrakt konsantrasyonu yoğun olan disklerin oluşturduğu zon çapları, konsantrasyonu seyreltilmiş olan disklerdeki zon çaplarına göre daha yüksektir. *Spirulina platensis*’ten hekzan ile elde edilmiş ekstraktların konsantrasyonu azaldıkça bakteriler üzerindeki antibakteriyel özellikleri azalmış olup bazı konsantrasyonlarında ise inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. Hekzan ile ekstrakte edilmiş *Spirulina platensis* ekstraktlarına karşı *Vibrio parahaemolyticus*, *E.coli* (O157:H7) ve *Staphylococcus aureus* bakterileri en çok direnç gösteren bakteriler olmuştur.

Bununla birlikte elde edilen zon çaplarına göre metanolden elde edilen ekstraktlarda *B.spizizenii*’yedeki antimikrobiyal aktivite diğer test bakterilerine göre yüksek olarak bulunmuştur. Metanol muamelesi ile elde edilen ekstraktların bakteriler üzerinde ki antimikrobiyal etkisini sıralamak gerekirse ilk olarak *B.spizizenii* ardından *B. cereus* gelmektedir. Ayrıca ekstrakt konsantrasyonu yoğun olan disklerin oluşturduğu zon çapları, konsantrasyonu seyreltilmiş olan disklerdeki zon çaplarına göre daha yüksektir. *Spirulina platensis*’den metanol ile elde edilmiş ekstraktların konsantrasyonu azaldıkça bakteriler üzerindeki antibakteriyel özellikleri azalmış olup bazı konsantrasyonlarında ise inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. Metanol ile ekstrakte edilmiş *Spirulina platensis* ekstraktlarına karşı, *Vibrio parahaemolyticus* en çok direnç gösteren bakteri olmuştur.

3.1 *Listeria monocytogenes* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.2’de *Spirulina* ekstraktlarının *Listeria monocytogenes* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 12738,33 olarak belirlenmiştir ve model istatistiksel olarak önemli olarak bulunmuştur. Çizelgede görüldüğü üzere A, B, C, AB, AC, BC, A², B², ABC faktörleri model için önemli

bulunmuştur. Aynı zamanda uyum eksikliği F değeri 0,81 olarak belirlenmiş ve istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir.

Çizelge 3.2 *Listeria monocytogenes* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri
Model	275,59	9	30,62	12738,33	< 0.0001
A-Solvent/Biyomas Oranı	57,61	1	57,61	23964,00	< 0.0001
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	23,29	1	23,29	9688,09	< 0.0001
C-Solvent	0,5250	1	0,5250	218,39	< 0.0001
AB	16,43	1	16,43	6835,40	< 0.0001
AC	0,1986	1	0,1986	82,61	< 0.0001
BC	0,1986	1	0,1986	82,61	< 0.0001
A ²	5,32	1	5,32	2213,58	< 0.0001
B ²	0,2722	1	0,2722	113,23	< 0.0001
ABC	0,1569	1	0,1569	65,27	< 0.0001
Artık	0,0240	10	0,0024		
Uyum Eksikliği	0,0040	2	0,0020	0,8076	0,4792
Hata	0,0200	8	0,0025		
Düzeltilmiş Toplam	275,61	19			
Standart Sapma	0,05				
R²	0,9999				
Ayarlanmış R²	0,9998				

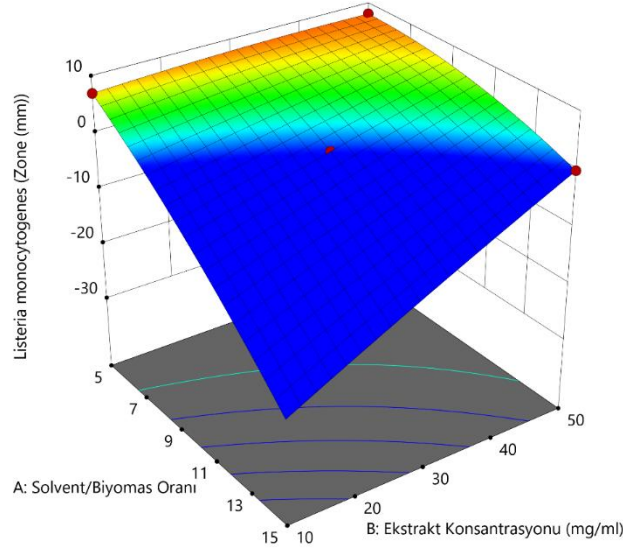
Modelin doğruluğunun p ve F değerleri ile R² değerlerinin yüksekliği ve birbirleri arasında 0,2 değerinden daha az fark olması sonucunda elde edilen kübik yani üçüncü dereceden matematiksel denklem aşağıda verilmiştir (**Denk. 1, Denk. 2**).

$$\text{Hekzan için; } L.monocytogenes \text{ zonu} = 18,82 - 2,13 * A - 0,20 * B + 0,06 * AB - 0,08 * A^2 - 0,001 * B^2 \quad (1)$$

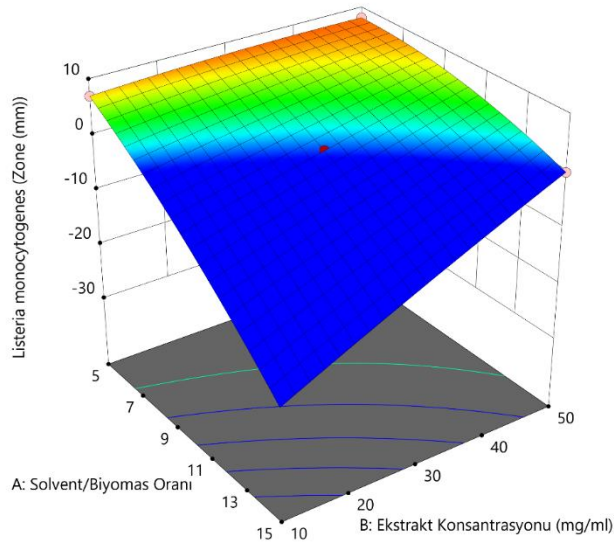
$$\text{Metanol için; } L.monocytogenes \text{ zonu} = 17,77 - 1,92 * A - 0,18 * B + 0,05 * AB - 0,08 * A^2 - 0,001 * B^2 \quad (2)$$

İşlem parametrelerinin solvent olarak hekzan kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.1’de ve solvent olarak metanol kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.2’de verilmiştir.

Görüldüğü üzere her iki solvent de birbirine benzer bir etki grafiği sergilemişlerdir. Ancak yine de elde edilen matematiksel modele uygunluk göz önüne alındığında, Şekil 3.1’de belirtildiği üzere “beklenen değerlere eş ya da değer üzerinde”ki dizayn noktaları hekzan ile elde edilmiştir. Bu durumda bu bakteri için hekzan ile elde edilen ekstraktların kullanımı solvent:biyomas oranının azaldığı ve ekstrakt konsantrasyonunun arttığı durumlarda artan değerler göstermektedir.



Şekil 3.1 İşlem parametreleri ve hekzan solventinin *Listeria monocytogenes*’e ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.2 İşlem parametreleri ve metanol solventinin *Listeria monocytogenes*’e ait zon oluşumuna etkisi

3.2 *Salmonella typhimurium* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.3'te *Spirulina* ekstraktlarının *Salmonella typhimurium* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 86,59 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, C, AB, BC, A², B², ABC ve A²C faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. Uyum eksikliği F değeri 1,66 değeri ile istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Modele ait p değerinin önemli, ancak uyum eksikliği F değerinin önemsiz bulunması modelin doğruluğunun bir ispatı olarak belirtilebilmektedir.

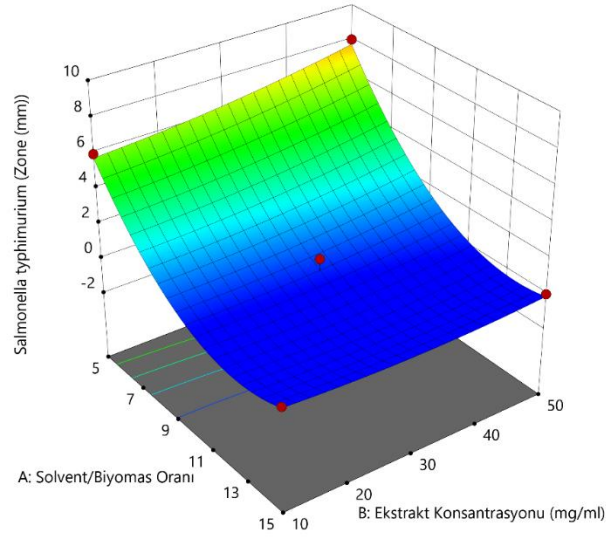
Çizelge 3.3 *Salmonella typhimurium* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	299,02	11	27,18	86,59	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	138,15	1	138,15	440,08	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	0,1329	1	0,1329	0,4232	0,5267	
C-Solvent	93,55	1	93,55	298,00	< 0.0001	Önemli
AB	13,52	1	13,52	43,07	< 0.0001	Önemli
AC	0,9419	1	0,9419	3,00	0,1069	
BC	3,68	1	3,68	11,72	0,0045	Önemli
A ²	5,04	1	5,04	16,05	0,0015	Önemli
B ²	1,48	1	1,48	4,73	0,0488	Önemli
ABC	5,12	1	5,12	16,31	0,0014	Önemli
A ² C	30,35	1	30,35	96,68	< 0.0001	Önemli
B ² C	0,2260	1	0,2260	0,7200	0,4115	
Artık	4,08	13	0,3139			
Uyum Eksikliği	2,08	5	0,4162	1,66	0,2483	Önemsiz
Hata	2,00	8	0,2500			
Düzeltilmiş Toplam	303,10	24				
Standart Sapma	0,56					
R²	0,9865					
Ayarlanmış R²	0,9751					

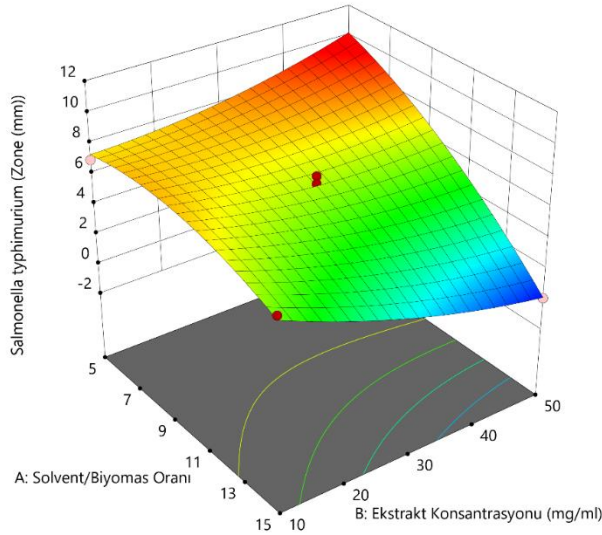
Modelden elde edilen kübik yani üçüncü dereceden matematiksel denklem aşağıda verilmiştir (**Denk. 3, Denk. 4**).

Hekzan için; *S. typhimurium* zonu = $16,45 - 2,70 * A - 0,03 * B + 0,005 * AB - 0,108 * A^2 - 0,0007 * B^2$ (3)

Metanol için; *S. typhimurium* zonu = $3,76 + 0,96 * A + 0,08 * B - 0,021 * AB - 0,046 * A^2 + 0,0016 * B^2$ (4)



Şekil 3.3 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *Salmonella typhimurium*'a ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.4 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *Salmonella typhimurium*'a ait zon oluşumuna etkisi

İşlem parametrelerinin solvent olarak hekzan kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.3'te ve solvent olarak metanol kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.4'te verilmiştir. Görüldüğü üzere her iki solvent de birbirinden çok farklı etki grafiği sergilemişlerdir. Elde edilen matematiksel modelleme denklemleri de bu farklı etkileri göstermektedir.

Hem matematiksel model denkleminde hem de üç boyutlu etki grafiğinden görüldüğü üzere solvent olarak metanol kullanımının bu bakteri türüne karşı daha etkili olmuştur. Azalan solvent miktarı ve artan ekstrakt konsantrasyonu ile maksimum oranda zon oluşumunun elde edileceği de Şekil 3.4'te açıkça gözlemlenmektedir.

3.3 *Vibrio parahaemolyticus* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.4'te *Spirulina* ekstraktlarının *Vibrio parahaemolyticus* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 106,05 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, B, A² faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. Diğer bakterilerden farklı olarak *V.parahaemolyticus* için kuadratik model daha uygun bulunmuş ve modelin doğruluğu sonuçlarla ortaya konmuştur.

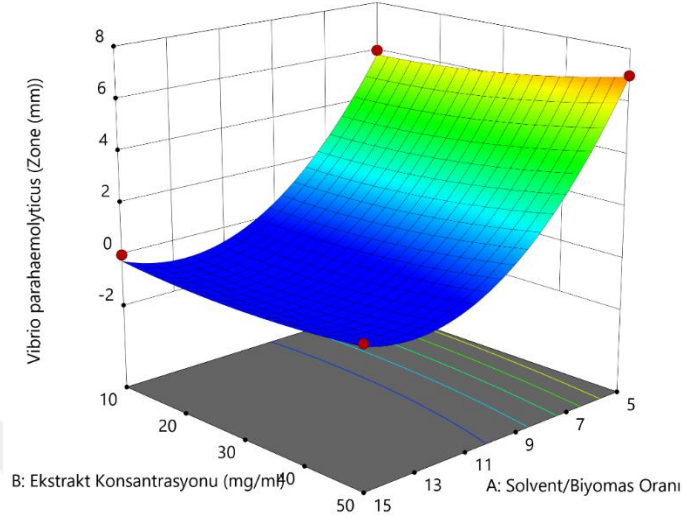
Çizelge 3.4 *Vibrio parahaemolyticus* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	218,95	9	24,33	106,05	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	148,48	1	148,48	647,26	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	1,41	1	1,41	6,13	0,0248	Önemli
C-Solvent	0,1538	1	0,1538	0,6707	0,4248	Önemli
AB	0,5000	1	0,5000	2,18	0,1593	
AC	0,0000	1	0,0000	0,0000	1.0000	
BC	0,0000	1	0,0000	0,0000	1.0000	
A ²	66,13	1	66,13	288,26	< 0.0001	Önemli
B ²	0,7367	1	0,7367	3,21	0,0921	
Artık	3,67	16	0,2294			
Uyum Eksikliği	0,4703	9	0,0523	0,1306	0,9969	Önemsiz
Hata	3,20	8	0,4000			
Düzeltilmiş Toplam	222,62	25				
Standart Sapma	0,46					
R²	0,9835					
Ayarlanmış R²	0,9758					

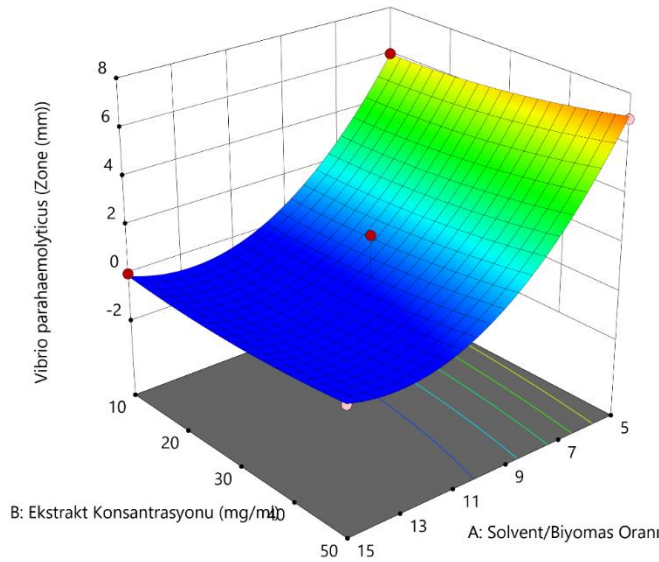
Doğruluğu kanıtlanmış kuadratik modelin denklemleri (Denk. 5 ve Denk. 6) şu şekilde oluşmuştur;

Hekzan için; $V.parahaemolyticus$ zonu = $16,96 - 2,76 * A - 0,02 * B - 0,0025 * AB + 0,108 * A^2 + 0,0007 * B^2$ (5)

Metanol için; $V.parahaemolyticus$ zonu = $17,11 - 2,76 * A - 0,02 * B - 0,0025 * AB + 0,108 * A^2 + 0,0007 * B^2$ (6)



Şekil 3.5 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *Vibrio parahaemolyticus*'a ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.6 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *Vibrio parahaemolyticus*'a ait zon oluşumuna etkisi

İşlem parametrelerinin solvent olarak hekzan kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.5'te ve solvent olarak metanol kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.6'da verilmiştir.

Görüldüğü üzere her iki solvent de birbirine benzer bir etki grafiği ve matematiksek model denklemi sergilemişlerdir. Bu bakteri için hekzan ve metanol kullanımı benzer şekilde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

3.4 *Bacillus cereus* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.5'te *Spirulina* ekstraktlarının *Bacillus cereus* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 27,75 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, B, C faktörleri dışındaki yüksek dereceli faktörler önemsiz olarak bulunmuş ve en uygun model "lineer" model olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.5 *Bacillus cereus* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	259,10	3	86,37	27,75	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	193,50	1	193,50	62,18	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	5,43	1	5,43	1,74	0,2015	
C-Solvent	60,17	1	60,17	19,33	0,0003	Önemli
Artık	62,24	20	3,11			
Uyum Eksikliği	62,24	12	5,19			
Hata	0,0000	8	0,0000			
Düzeltilmiş Toplam	321,33	23				
Standart Sapma	1,76					
R²	0,8063					
Ayarlanmış R²	0,7773					

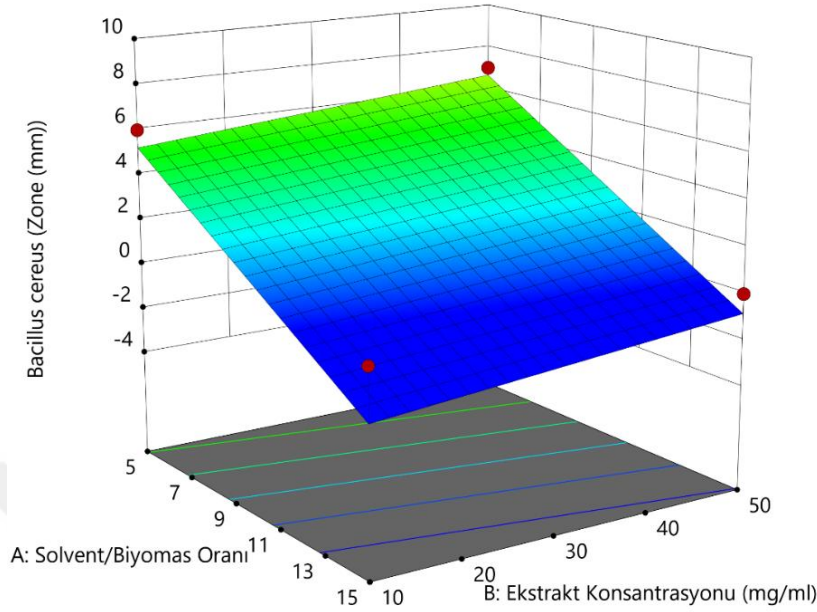
Elde edilen lineer modele uygun matematiksel denklemler (Denk. 7 ve Denk. 8) şu şekildedir;

$$\text{Hekzan için; } B. \text{cereus zonu} = 8,60 - 0,75 * A + 0,036 * B \quad (7)$$

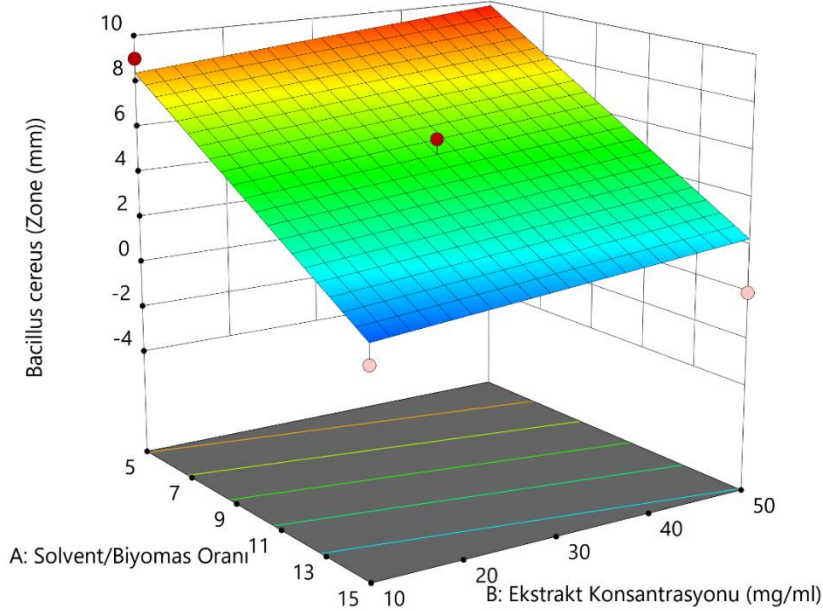
$$\text{Metanol için; } B. \text{cereus zonu} = 11,77 - 0,75 * A + 0,036 * B \quad (8)$$

Lineer dizayn modelinde ekstrakt konsantrasyonu istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, solvent miktarı ve solvent çeşidine bağlı olarak *B.cereus* için oluşan inhibisyon zonu ölçümü değişim göstermektedir. Şekil 3.7 ve 3.8'de görüldüğü üzere, solventin metanol olarak seçimi oluşan zonu arttırmaktadır. Aynı zamanda

yine solvent miktarı azaltılıp, ekstrakt konsantrasyonu artırıldığında zon yüzeyi artmaktadır.



Şekil 3.7 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *Bacillus cereus*'a ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.8 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *Bacillus cereus*'a ait zon oluşumuna etkisi

3.5 *Staphylococcus aureus* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.6'da *Spirulina* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 29,05 olarak belirlenmiş

ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, B, C faktörleri dışındaki yüksek dereceli faktörler önemsiz olarak bulunmuş ve en uygun model “lineer” model olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.6 *Staphylococcus aureus* için ANOVA sonuçları

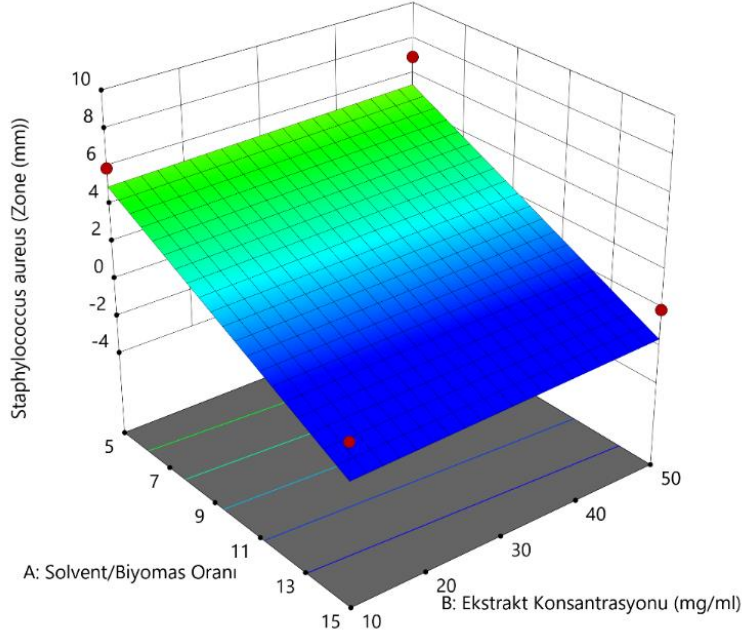
	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	237,37	3	79,12	29,05	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	170,24	1	170,24	62,51	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	0,4549	1	0,4549	0,1670	0,6871	
C-Solvent	66,67	1	66,67	24,48	< 0.0001	Önemli
Artık	54,47	20	2,72			
Uyum Eksikliği	54,47	12	4,54			
Hata	0,0000	8	0,0000			
Düzeltilmiş Toplam	291,83	23				
Standart Sapma	1,65					
R²	0,8134					
Ayarlanmış R²	0,7854					

Elde edilen lineer modele uygun matematiksel denklemler (Denk. 9 ve Denk. 10) şu şekildedir;

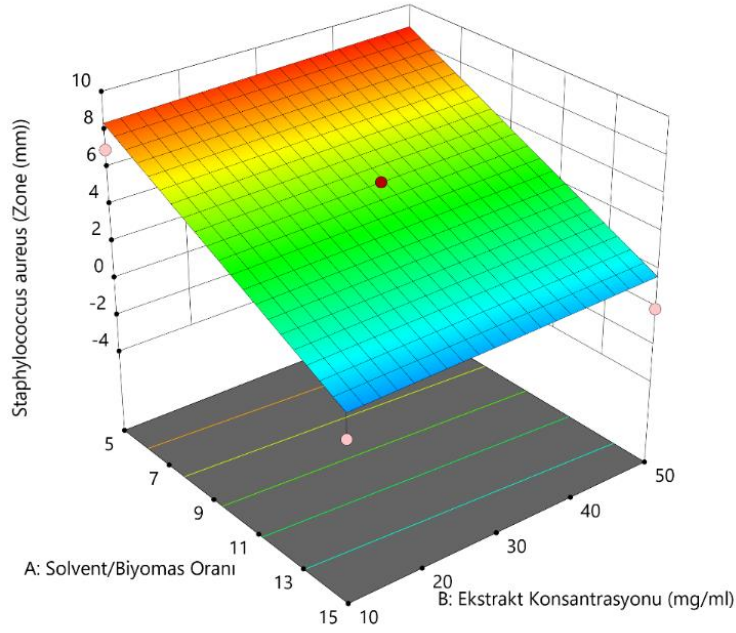
$$\text{Hekzan için; } S. aureus \text{ zonu} = 8,45 - 0,703 * A + 0,01 * B \quad (9)$$

$$\text{Metanol için; } S. aureus \text{ zonu} = 11,78 - 0,703 * A + 0,01 * B \quad (10)$$

Lineer dizayn modelinde ekstrakt konsantrasyonu istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, solvent miktarı ve solvent çeşidine bağlı olarak *S.aureus* için oluşan inhibisyon zon ölçümü değişim göstermektedir. Şekil 3.9 ve 3.10’da görüldüğü üzere, solventin metanol olarak seçimi oluşan zon yüzeyini arttırmaktadır. Aynı zamanda yine solvent miktarı azaltılıp, ekstrakt konsantrasyonu arttırıldığında zon yüzeyi artmaktadır.



Şekil 3.9 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *Staphylococcus aureus*'a ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.10 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *Staphylococcus aureus*'a ait zon oluşumuna etkisi

3.6 *Bacillus spizizeni* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.7'de *Spirulina* ekstraktlarının *Bacillus spizizeni* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 282,57 olarak belirlenmiş

ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, B, AB, A², B² faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. *V.parahaemolyticus* için olduğu gibi *B.spipizeni* için de kuadratik model daha uygun bulunmuş ve modelin doğruluğu sonuçlarla ortaya konmuştur.

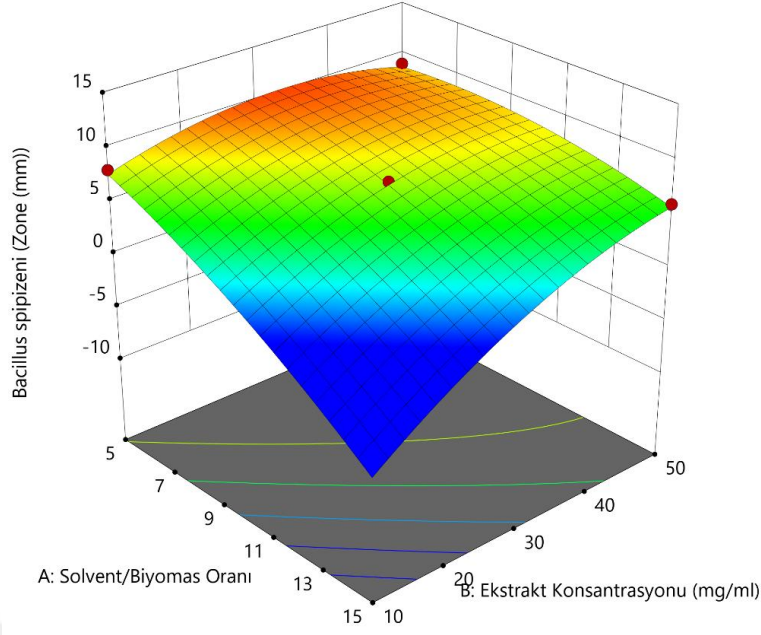
Çizelge 3.7 *Bacillus spipizeni* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	229,31	8	28,66	282,57	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	185,93	1	185,93	1832,88	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	102,26	1	102,26	1008,12	< 0.0001	Önemli
C-Solvent	0,0026	1	0,0026	0,0257	0,8747	
AB	34,75	1	34,75	342,52	< 0.0001	Önemli
AC	0,3622	1	0,3622	3,57	0,0783	
BC	0,0310	1	0,0310	0,3055	0,5886	
A²	12,11	1	12,11	119,36	< 0.0001	Önemli
B²	34,91	1	34,91	344,14	< 0.0001	Önemli
Artık	1,52	15	0,1014			
Uyum Eksikliği	0,9216	7	0,1317	1,76	0,2236	Önemsiz
Hata	0,6000	8	0,0750			
Düzeltilmiş Toplam	230,83	23				
Standart Sapma	0,32					
R²	0,9934					
Ayarlanmış R²	0,9899					

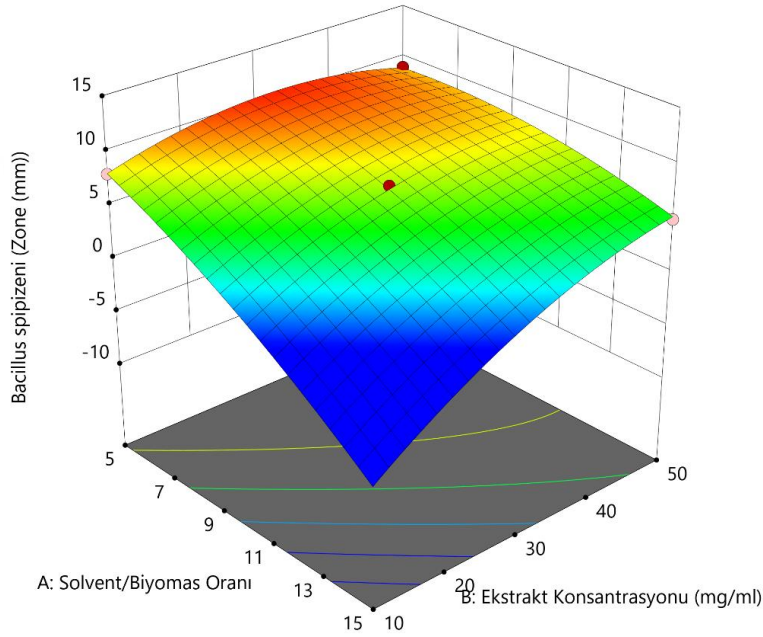
Doğruluğu kanıtlanmış kuadratik modelin denklemleri (Denk. 11 ve Denk. 12) şu şekilde oluşmuştur;

$$\text{Hekzan için; } B. \text{ spipizeni } \text{zonu} = 9,53 - 0,72 * A + 0,202 * B + 0,028 * AB - 0,05 * A^2 + 0,0052 * B^2 \quad (11)$$

$$\text{Metanol için; } B. \text{ spipizeni } \text{zonu} = 10,39 - 0,79 * A + 0,20 * B + 0,028 * AB - 0,05 * A^2 + 0,0052 * B^2 \quad (12)$$



Şekil 3.11 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *Bacillus spizizeni* 'ye ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.12 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *Bacillus spizizeni* 'ye ait zon oluşumuna etkisi

İşlem parametrelerinin solvent olarak hekzan kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.11'de ve solvent olarak metanol kullanıldığı modele ait grafik Şekil 3.12'de verilmiştir. Görüldüğü üzere her iki solvent de birbirine benzer bir etki grafiği sergilemişlerdir. Ancak yine de elde edilen matematiksel model denklemi göz önüne alındığında, daha yüksek değerler metanol ile elde edilmiştir. Bu durumda bu bakteri

için metanol ile elde edilen ekstraktların kullanımı solvent:biyomas oranının azaldığı ve ekstrakt konsantrasyonunun arttığı durumlarda artan değerler göstermektedir.

3.7 *Escherichia coli* için inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.8’de *Spirulina* ekstraktlarının *Escherichia coli* üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 206,13 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Model incelendiğinde A, B, AB, AC, A², B² faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda uyum eksikliği F değeri 2,11 olarak belirlenmiş ve istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur *Escherichia coli* için kuadratik model modelin doğruluğunun yüksekliği sebebiyle tercih edilmiştir.

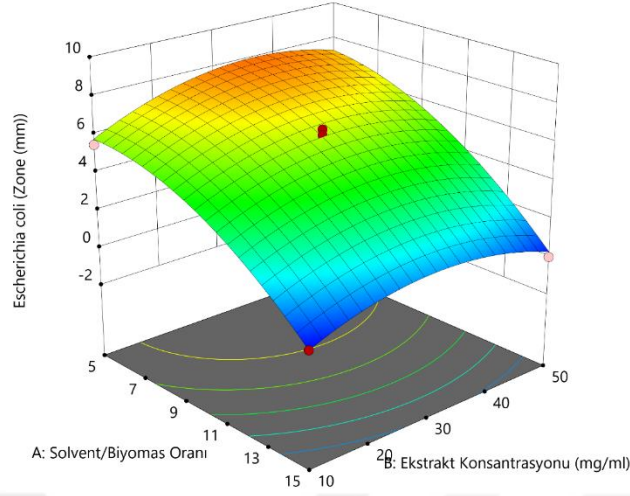
Çizelge 3.8 *Escherichia coli* için ANOVA sonuçları

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	206,13	8	25,77	272,74	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	166,74	1	166,74	1764,99	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	1,09	1	1,09	11,53	0,0043	Önemli
C-Solvent	0,4022	1	0,4022	4,26	0,0581	
AB	0,7813	1	0,7813	8,27	0,0122	Önemli
AC	0,9949	1	0,9949	10,53	0,0059	Önemli
BC	0,0909	1	0,0909	0,9623	0,3433	
A²	14,05	1	14,05	148,75	< 0.0001	Önemli
B²	8,99	1	8,99	95,17	< 0.0001	Önemli
Artık	1,32	14	0,0945			
Uyum Eksikliği	0,8106	6	0,1351	2,11	0,1619	Önemsiz
Hata	0,5120	8	0,0640			
Düzeltilmiş Toplam	207,45	22				
Standart Sapma	0,30					
R²	0,9936					
Ayarlanmış R²	0,9900					

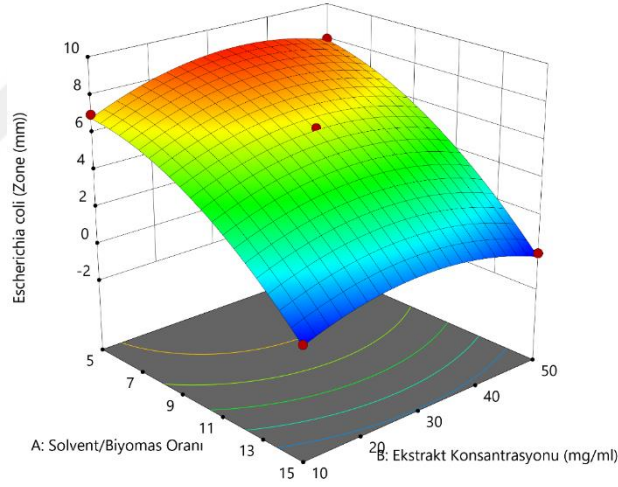
E.coli için kuadratik modelin denklemleri (Denk. 13 ve Denk. 14) şu şekilde oluşmuştur;

$$\text{Hekzan için; } E. coli \text{ zonu} = 2,20 + 0,60 * A + 0,25 * B - 0,003 * AB - 0,057 * A^2 - 0,033 * B^2 \quad (13)$$

Metanol için; *E. coli* zonu = $3,85 + 0,49 * A + 0,24 * B - 0,003 * AB - 0,057 * A^2 + 0,0033 * B^2$ (14)



Şekil 3.13 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *E.coli* 'ye ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.14 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *E.coli* 'ye ait zon oluşumuna etkisi

İşlem parametrelerinin ve solventlerin etkileri Şekil 3.13 ve 3.14'te gösterilmektedir. Denklem 13 ve 14 ile şekiller göz önüne alındığında solvent cinsinin zon değerlerine önemli derecede etki etmediği görülmektedir. Bu bakteri için hekzan ve metanol kullanımı benzer şekilde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

3.8 *Escherichia coli* O157 inhibisyon zonu sonuçları

Çizelge 3.9'da *Spirulina* ekstraktlarının *Escherichia coli* O157 suşu üzerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir. Modele ait F değeri 436,52 olarak belirlenmiş

ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. İndirgenmiş kübik model incelendiğinde A, C, AB, AC, A², B², A²C, B²C faktörleri önemli olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda uyum eksikliği p değeri 0,0983 olarak belirlenmiş ve istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur, ancak F değerinin 2,95 olarak belirlenmesi yüzde 10'dan düşük bir oranda modelde sapmaya sebep olabilmektedir.

Çizelge 3.9 *Escherichia coli* O157 için ANOVA sonuçları

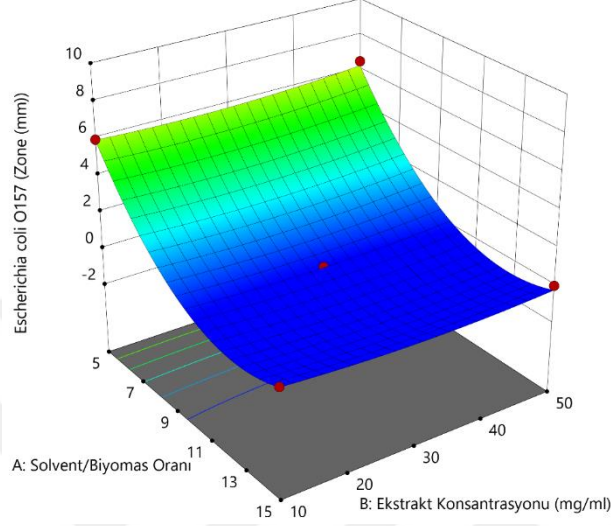
	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	275,80	11	25,07	436,52	< 0.0001	Önemli
A-Solvent/Biyomas Oranı	162,59	1	162,59	2830,78	< 0.0001	Önemli
B-Ekstrakt Konsantrasyonu	0,1509	1	0,1509	2,63	0,1333	
C-Solvent	98,65	1	98,65	1717,54	< 0.0001	Önemli
AB	0,2813	1	0,2813	4,90	0,0490	Önemli
AC	1,34	1	1,34	23,39	0,0005	Önemli
BC	0,1199	1	0,1199	2,09	0,1765	
A²	4,15	1	4,15	72,33	< 0.0001	Önemli
B²	1,19	1	1,19	20,74	0,0008	Önemli
ABC	0,0313	1	0,0313	0,5441	0,4762	
A²C	25,84	1	25,84	449,90	< 0.0001	Önemli
B²C	2,85	1	2,85	49,64	< 0.0001	Önemli
Artık	0,6318	11	0,0574			
Uyum Eksikliği	0,3318	3	0,1106	2,95	0,0983	Önemsiz
Hata	0,3000	8	0,0375			
Düzeltilmiş Toplam	276,43	22				
Standart Sapma	0,24					
R²	0,9977					
Ayarlanmış R²	0,9954					

Modelin doğruluğunun p ve F değerleri ile R² değerlerinin yüksekliği ve birbirleri arasında 0,2 değerinden daha az fark olması sonucunda elde edilen indirgenmiş kübik matematiksel denklem aşağıda verilmiştir (**Denk. 15, Denk. 16**).

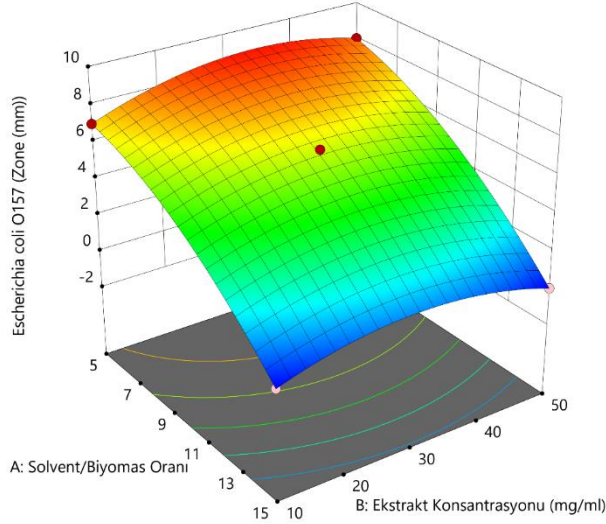
$$\text{Hekzan için; } E. coli \text{ O157 } \text{zonu} = 17,47 - 2,80 * A - 0,027 * B - 0,0013 * AB + 0,11 * A^2 + 0,0007 * B^2 \quad (15)$$

$$\text{Metanol için; } E. coli \text{ O157 } \text{zonu} = 5 + 0,27 * A + 0,23 * B - 0,025 * AB - 0,047 * A^2 - 0,0031 * B^2 \quad (16)$$

İşlem parametrelerinin ve solvent cinsinin inhibisyon zonu oluşumuna etkisi şekil 3.15 ve 3.16’da verilmiştir. Çizelge 3.9 ve oluşturulan matematiksel denklemlerden de görülebileceği gibi, ekstraksiyon konsantrasyonu inhibisyon zonu üzerine önemli derecede etkili olmamakla birlikte solvent:biyomas oranının etkili olduğu ama en önemli etkinin solvent cinsi olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.15 İşlem parametrelerinin ve hekzan solventinin *E.coli* O157’ye ait zon oluşumuna etkisi



Şekil 3.16 İşlem parametrelerinin ve metanol solventinin *E.coli* O157’ye ait zon oluşumuna etkisi

3.9 Validasyon

Design Expert programı ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında, yapılan denemeler ile elde edilen sonuçlar ışığında Çizelge 3.10’da verilen faktörler ve değerleri kullanılarak optimum değerleri elde edebilecek noktalar seçilmiştir. Bu veriler ile elde edilen çözüm önerileri ise Çizelge 3.11’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.10 Optimizasyon validasyonunda kullanılacak faktörler

	<i>Hedef</i>	<i>Alt limit</i>	<i>Üst Limit</i>	<i>Önem Düzeyi</i>
<i>A:Solvent/Biyomas Oranı</i>	minimum	1	10	5
<i>B:Ekstrakt Konsantrasyonu</i>	minimum	10	100	5
<i>C:Solvent</i>	değer aralığı	Hekzan	Metanol	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	maksimum	0	20	5
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	maksimum	0	20	5
<i>Bacillus cereus</i>	maksimum	0	20	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	maksimum	0	20	5
<i>Bacillus spizizeni</i>	maksimum	0	20	5
<i>Escherichia coli</i>	maksimum	0	20	5
<i>Escherichia coli O157</i>	maksimum	0	20	5

Çizelge 3.11 Optimum nokta validasyonunda çözümler

A	B	C	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus spipizeni</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	Arzu Edilebilirlik		
<u>1</u>	<u>1,000</u>	<u>19,521</u>	<u>Metanol</u>	<u>12,939</u>	<u>14,649</u>	<u>11,721</u>	<u>11,286</u>	<u>11,934</u>	<u>7,703</u>	<u>8,410</u>	<u>0,655</u>	<u>Seçilen</u>
2	1,000	19,532	Metanol	12,938	14,649	11,721	11,286	11,934	7,704	8,411	0,655	
3	1,000	19,421	Metanol	12,956	14,646	11,717	11,285	11,932	7,692	8,400	0,655	
4	1,000	19,602	Metanol	12,926	14,651	11,724	11,287	11,935	7,712	8,418	0,655	
5	1,000	19,356	Metanol	12,967	14,645	11,715	11,284	11,931	7,685	8,393	0,655	
6	1,000	19,279	Metanol	12,980	14,643	11,712	11,283	11,929	7,676	8,385	0,655	
7	1,000	19,123	Metanol	13,006	14,640	11,707	11,282	11,925	7,659	8,369	0,655	
8	1,000	20,045	Metanol	12,852	14,661	11,740	11,291	11,943	7,760	8,462	0,655	
9	1,000	20,558	Metanol	12,765	14,674	11,758	11,296	11,948	7,814	8,512	0,655	
10	1,000	18,408	Metanol	13,124	14,624	11,681	11,274	11,906	7,576	8,293	0,655	

Çizelge 3.12 Optimizasyon validasyonunda beklenen ve elde edilen değerler

Çözüm Önerisi #1	Beklenen Değer (mm)	Elde Edilen Değer (mm)
<i>Listeria monocytogenes</i>	12,94	11
<i>Salmonella typhimurium</i>	6,45	7
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14,65	12
<i>Bacillus cereus</i>	11,72	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,28	11
<i>Bacillus spizizeni</i>	11,93	9,5
<i>Escherichia coli</i>	7,70	8
<i>Escherichia coli O157</i>	8,40	9

Çizelge 3.12’de solvent:biyomas oranının “1”, ekstraksiyon konsantrasyonunun “20” olarak seçildiği ve solvent çeşidi olarak “metanol”ün kullanıldığı 3 tekerürlü validasyon sonucu elde edilen değerler verilmiştir.

4 TARTIŞMA ve SONUÇ

Rao ve arkadaşlarının, *Spirulina platensis* mikroalgleri ile antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için yapmış oldukları çalışmaların sonucunda, metanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* bakterisinin üzerinde 15.20 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu gözlemişlerdir. Bu çalışmada metanol ekstrakttan elde edilen aktivitenin diğer ekstraktlardan elde edilen aktivitelerden yüksek olduğu bildirilmiştir [136]. Bu çalışmada elde edilen etkinlik sonuçlarındaki yüksek aktivitenin yine kullanılan ekstraksiyon metodundaki farklılıktan meydana geldiği düşünülmektedir.

Özdemir ve arkadaşlarının, *S.platensis*'e ait 1/10 oranında etanol ve hekzan ekstraktları ile antimikrobiyal aktivite kapasitesinin belirlenmesi için yapmış oldukları çalışmada, etanol ekstraktlarında *Salmonella typhimurium* bakterilerine karşı 7mm çapında inhibisyon zonu gözlemlemiş olup, çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sonuçlar ile benzerlik göstermiştir [137].

Ayrıca çalışmamızda metanol muamelesi ile elde edilen ekstraktlarda alınan zon çapı sonuçlarını hekzan muamelesi ile elde edilmiş ekstraktların zon çapı sonuçları ile karşılaştırdığımızda, ekstrakt yönteminin *Spirulina platensis* alginin antimikrobiyal özelliklerini etkilediği gözlemlenmiştir. *Spirulina platensis* 'in, antimikrobiyal özellikler içeren bileşiklerinin ekstrakte edilmesinde, metanolün hekzana kıyas ile daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

Özdemir ve çalışma arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, *Spirulina platensis* mikroalgi, metanol, diklorometan, petrol eteri, etil asetat çözücüler ile ekstrakte edilmiştir. Özdemir elde etmiş olduğu bu ekstraktlar ile, dört Gram pozitif, altı Gram-negatif ve *Candida albicans* ATCC 10239 suşlarında, disk difüzyonu yöntemini kullanarak, antibakteriyel aktivite testlerini gerçekleştirmiştir. Özdemir çalışmasında 15 gram toz haline getirilmiş *Spirulina platensis* mikroalgini 150 ml miktarında olacak şekilde farklı çözücüler kullanarak ekstrakte etmiş olup, 1, 2, 4 ve 8 mg konsantrasyonlarında ki metanol, diklorometan, petrol eteri, etil asetat ekstraktlarını disklerle emdirmiştir. Metanol ekstraktlarında *Bacillus Subtilis* bakterisine karşı 8 mm, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı 7 mm, *Escherichia coli* bakterisine karşı 7 mm, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 7 mm inhibisyon zonu gözlemlemiş olup etil asetat ekstraktlarında ise hiç bir bakteride inhibisyon zonu gözlemleyememiştir. Özdemir'in elde etmiş olduğu sonuçlara göre

metanol ekstraktları, petrol eteri ve etil asetat ekstraktlarından daha güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir [27].

Mansuya ve çalışma arkadaşlarının 2010 yılında, 6 alg türü ile yapmış olduğu antibakteriyel aktivite çalışmasında, sulu ekstraktta inhibisyon bölgesi 45 - 9 mm, metanolik ekstraktta ise 40 - 6 mm arasında değişmiştir. Maksimum aktivite 200 mg konsantrasyonundaki sulu *Ulva reticulata* ekstresinden *Salmonella typhi*'ye karşı 45 mm olarak, minimum aktivite ise *Ulva lactuca* tarafından *Streptococcus pyogenes*'e karşı 50 mg konsantrasyonunda 9 mm olarak kaydedilmiştir. Metanolik ekstraktta maksimum aktivite 200 mg konsantrasyonundaki *Ulva reticulata* ekstresinden, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı 40 mm olarak, minimum aktivite ise *Kappaphycus alvarezii* tarafından *Staphylococcus epidermis*'e karşı 50 mg konsantrasyonunda 6 mm olarak kayıt edilmiştir. Mansuya elde etmiş olduğu tüm sonuçları incelediğinde metanolik ekstraktların, sulu ekstraktlara göre daha yüksek derecede antibakteriyel aktivite sergilediğini tespit etmiştir [138]. Mansuya ve çalışma arkadaşlarının sulu ekstraktta maximum inhibisyon zonunu elde etmesinin sebebi alglerin sulu ve metanolik ekstraktlarında, çözücüye geçen antimikrobiyel maddelerin farklı olması ve bu antimikrobiyel maddelerin her bakteri üzerinde farklı etki göstermesidir.

Suthindhiran Krish ve çalışma arkadaşı 2014 yılında, *Cladophora rupestris* alginin antioksidan, antimikrobiyal ve antidiyabetik aktivitesini kontrol etmek için, insan ve karides patojen bakterilerine karşı disk difüzyon testi ile antimikrobiyal aktivite çalışması yapmıştır. Krish çalışmada *Cladophora rupestris* alginin metanol, etil asetat ve etanol ekstraktlarını kullanmış olup, 1000 µg/ml konsantrasyona sahip metanol ekstraktlarında *E. Coli* bakterisine karşı 15.9, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 15.3, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı 16.3, etil asetat ekstraktlarında *E. Coli* bakterisine karşı 14.4, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 14.2, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı 13.2, etanol ekstraktlarında ise *E. Coli* bakterisine karşı 12.3, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 11.9, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı 11.3 inhibisyon gözlemlemiştir. Krish çalışmasının tamamlanması ile, metanol ekstraktları ile elde etmiş olduğu antimikrobiyal aktivite sonuçlarını, etanol ve etil asetat ekstraktları ile karşılaştırdığında, metanol ekstraktlarının aktivitelerinin daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir [139].

M. Pandithurai ve arkadaşları 2015 yılında, kahverengi deniz yosunu olan *Spatoglossum asperum*'un 1:3 oranında su, metanol, kloroform, etil asetat ve hekzan ekstraktlarını disklerle 100 µg/mL miktarında emdirmiş olup, elde etmiş oldukları antifungal aktivite testi sonuçlarında metanolik ekstraktların, *Candida albicans* 'a karşı 14.67, *Candida tropicalis*'e karşı 15.33, *Aspergillus flavus*'a karşı 11.15 inhibisyon zonu oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Hekzan ekstraktlarında ise inhibisyon zonu oluşumu gözlemleyememişlerdir. Elde etmiş oldukları sonuçları karşılaştırdıklarında ise metanolik ekstraktların, diğer çözücü ekstraktlara kıyasla *Candida albicans* 'a (% 57.14) ve *Candida tropicalis*'e (% 54.75) karşı önemli bir antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle, kahverengi deniz yosunu *Spatoglossum asperum*'un metanolik özütünün dermatofitik mantarlar üzerinde daha etkili olduğu düşüncesini savunmuşlardır [140].

Basharat Sadiq ve arkadaşları 2016 yılında, 2 alg türünü kullanarak yapmış olduğu çalışmada, 1/10 ve 1/100 oranında metanol, etanol ve aseton ile elde etmiş oldukları ekstraktlarda antimikrobiyal aktivite testi gerçekleştirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada pozitif kontrol olarak Erythromycin, Tetracycline, Amoxicillin antibiyotiklerini kullanarak alg ekstraktları ile karşılaştırmalar yapmışlardır. Elde etmiş oldukları sonuçlara göre *Bacillus subtilis* bakterisi üzerinde eritromisin tarafından 2.5 cm, *Lyngbya diguetii*'nin 1/10 oranındaki metanolik özütleri tarafından ise 2.05 cm inhibisyon sonuçları gözlemlemişlerdir. Basharat Sadiq ve arkadaşları yapmış oldukları değerlendirmeye göre metanol ve etanol ekstraktlarının diğer çözücülerden farklı olarak kullanılan antibiyotiklere çok yakın sonuçlar gösterdiğini tespit etmişlerdir [141].

Aseer Manilal ve çalışma arkadaşları 2016 yılında, kahverengi alglerden biri olan *Padina tetrastromatica* algini, 100 ve 500 µg/ml oranında dietil eter, kloroform, aseton, diklorometan ve metanol gibi artan polariteye sahip çeşitli organik çözücüler kullanılarak ekstrakte etmiş olup, metanolik ekstraktlarda *Staphylococcus aureus*'a karşı 96,23 mm², *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* karşı sırasıyla 41.63 mm², 39.63 mm² inhibisyon zonu gözlemlemişlerdir. Aseer Manilal ve çalışma arkadaşlarının elde etmiş oldukları sonuçlara göre *Padina tetrastromatica*'nın metanolik ekstraktı en geniş ve en yüksek antibakteriyel aktivite aralığını sergilemiştir. Ayrıca *Padina tetrastromatica* ' dan elde edilen metanolik ekstraktların, çeşitli

aralıklarda test edilen tüm bakteriyel patojenleri başarıyla inhibe eden en geniş ve en yüksek aktiviteyi sergilediğini tespit etmişlerdir [142].

Hussain Yousif 2006 yılında *Spirulina maxima*, *Oscillatoria*, *Cladophora fracta* alglerinin 1/10 oranındaki sulu ve alkollü ekstraktlarını 100, 250, 500, 750, ve 1000 µg/ml konsantrasyonunda disklere emdirerek, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivite test çalışması yapmıştır. 1000 µg/ml konsantrasyonundaki metanolik ekstraktlarda *Staphylococcus aureus*'a karşı 15 mm, *Escherichia coli*'e karşı 19 mm, *Bacillus subtilis*'e karşı 12 mm, sulu ekstraktlarda ise *Staphylococcus aureus*'a karşı 11 mm, *Escherichia coli*'e karşı 12 mm, *Bacillus subtilis*'e karşı 9 mm inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. Hussain Yousif gerçekleştirdiği çalışmada, patojenik bakteri türlerine karşı test edilen alkollü ekstraktların, sulu ekstraktlara kıyas ile bakterilerin büyümesini engellemede daha aktif olduğunu tespit etmiştir [143].

Alglerin antibakteriyel özelliklerine ilişkin çok sayıda çalışma yapılmış olup Polifenoller, flavonoidler ve polisakkaritler gibi bileşenlerin kahverengi, kırmızı ve yeşil alglerde antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Alglerin antimikrobiyal aktivitesi klorofil türevleri, akrilik asit, terpenler, fenolik maddeler, halojenli alifatik bileşenler ve sülfür içeren heterosiklik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşenlerin yanında antimikrobiyal aktivitenin bazı aminoasitler, florotanninler, steroidler, halojenli ketonlar ve alkanlar, siklik polisülfidler ve yağ asitlerinden de kaynaklandığı belirtilmiştir.

Cox ve arkadaşları, 6 alg türü ile yapmış olduğu antimikrobiyal aktivite çalışmasında, tüm metanolik deniz alg ekstraktlarının, test edilen gıda patojenik bakterilerini inhibe ettiğini tespit etmiş olup, alglerin zengin doğal antioksidan bileşik kaynakları olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca çalışmada algal ekstraktlarının fenolik bileşikleri incelenen deniz yosunlarının toplam fenolik içeriği 37.66 ila 151.33 mg GAE / g ekstrakt arasında değişmiştir. Yapılan çalışmada fenolik içerik antimikrobiyal özelliklerinin kaynağı olarak görülmüş olup bu bileşikler antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olan aktif madde olarak bildirilmiştir [65].

Srivastava ve arkadaşlarının 2010 yılında 2 alg türü ile yapmış olduğu antimikrobiyal aktivite testinde, Metanol, Etanol, Butanol, Aseton, Kloroform ve Diklorometan ekstraktları seçilen insan patojenlerine karşı test edilmiş olup, toplanan her iki alg

türüde <15 mm inhibisyon bölgesi ile orta düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca ekstraktlarda yapılan Fitokimyasal analizlerde alkaloidlerin hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı yaygın olarak antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Tüm ekstraktlarda alkaloidlerin bulunması ve dolayısıyla Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı dikkate değer bir antibakteriyel aktivite sergilemesi ile elde edilen sonuçlar ve daha önce yapılan benzer çalışmalardaki sonuçların eşliğinde, deniz yosunu özlerinin zengin bir fenolik bileşik kaynağı olduğunu düşündürmüştür [144].

Salem ve arkadaşları 2011 yılında, Kızıldenizden ve Mısır'dan toplanan sekiz farklı algden elde edilen metanol ve etil asetat ekstraktlarını, hem gram pozitif bakterilere hem de gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri açısından taramıştır. Metonolik ekstraktlar da elde edilen sonuçlarda, gram pozitif bakterilere karşı 19 mm'ye kadar inhibisyon zonu oluşumu gözlemlenmiş olup en yüksek aktivite elde edilmiştir. Gram negatif bakterilerde ise 14 mm'ye kadar inhibisyon zonu oluşumu görülmüştür. Ancak antibakteriyel aktivitedeki farklılıklar, ekstraksiyon yöntemine, ekstraksiyonda kullanılan çözücüye ve numunelerin toplandığı mevsime bağlı olabileceği düşünülmüştür. Toplanan alglerde elde etmiş oldukları güçlü antibakteriyel aktivitenin, alg ekstraktlarında bulunan ve güçlü bakterisidal aktivite gösteren florotanninler ile eckol gibi fenolik bileşiklere bağlı olabileceği konusunda fikir sunmuşlardır [145].

Mendes 2012 yılında, 3 alg türü ile yapmış olduğu antibakteriyel aktivite ve antioksidan aktivite testi çalışmasında, alg ekstraktlarındaki antioksidan aktivite ile polifenol içeriği arasında bir korelasyon olduğunu düşünmüş ve alg ekstraktlarının fenolik profilini HPLC ile değerlendirmiştir. Test edilen üç çözücü ile özütlenen alg kültürünün, metanolik ekstraktlarının diğer iki çözücüye kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Elde edilmiş olan antimikrobiyal aktivitenin ise bromofenoller, yağ asitleri steroller ve diterpenoidler gibi bileşiklerden kaynaklı olduğu kanıtlanmıştır [146].

Özdemir 2004 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, *S. platensis* alg'ini 8 mg/mL konsantrasyonunda, diklorometan, petroleum eter, etil asetat ve metonol çözücülerini ile ekstrakte ederek antibakteriyel aktivite testine tabi tutmuştur. Metonolik ekstraktlarda elde edilen sonuçlara göre *Staphylococcus aureus* 'a karşı 7 mm, *Escherichia coli* 'e

karşı 7 mm, *Bacillus subtilis*'e karşı 8 mm inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. Ayrıca *S. platensis* alg'inin uçucu bileşiklerinin bileşimini belirlemek için GC-MS yöntemini kullanmış olup toplam bileşenin % 96.45'ini oluşturan on beş bileşik tanımlamıştır. Çalışmada ana bileşen olarak ise heptadekan belirlenmiş olup, heptadekanın diğer birçok siyanobakteri türünde ortak bir ana uçucu bileşen olduğunu bildirmiştir. Elde edilen tüm sonuçların ışığında *S. platensis*'in metanol ekstraktının mikroorganizmalara karşı diklorometan, petroleum eter, etil asetat ekstratlarından ve uçucu bileşenlerden daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir [27].

Çalışmamızda *S. platensis* mikroalginden elde edilen ekstraktların, gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, gram negatif bakterilerden *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *E.coli* (O157:H7) olmak üzere toplam 8 bakteri türü kullanılarak antibakteriyal etkisi incelenmiştir. Metanol ve hekzan ile elde edilen ekstraktlarda gram pozitif bakteri türlerinde, gram negatif bakteri türlerine kıyas ile daha yüksek zon çapları elde edilmiş olup *B.spizizenii*'ye karşı metanol ekstraktlarında 11 mm, hekzan ekstraktlarında ise 10 mm çapında en yüksek inhibisyon zonu oluşumu gözlemlenmiştir. Gram pozitif bakteri türlerinde elde edilen bu yüksek etkinliğin sebebinin gram negatif bakterilerin daha karmaşık bir hücre duvarı yapısına sahip olması düşünülmektedir. Gram negatif bakterilerin hücre duvarında ince bir tabaka peptidoglikan ve lipopolisakkaritten oluşan bir dış zar yapısı vardır. Karşılaştırma yapıldığında, gram pozitif bakterilerde hücre duvarındaki peptidoglikan yapısı daha kalındır ve dış zar bulunmaz. Bu daha güçlü duvar yapısı, bir zırh gibi gram negatif bakterilerin özellikle ilaçlara karşı dayanıklılığını arttırmaktadır. Gram negatif bakterilerin Gram pozitiflere kıyasla, antimikrobiyal ilaçlara ve çeşitli toksik bileşiklere karşı doğal direncinin daha fazla olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu dirençte, dış membranın katkısı bir yana bırakılacak olursa, etkili esas mekanizma, bu bakterilerde yaygın olarak bulunan çoklu ilaç pompa sistemleriyle antimikrobiyal ilaçların ve zararlı bileşiklerin hücre dışına pompalanmasıdır [147,148,149,150,151].

S. platensis içerdiği yüksek miktardaki pigmentler, proteinler ve gamma linolenik asit (GLA) gibi metabolitler sebebiyle oldukça önem taşıyan bir mikroalg türüdür. *S. platensis* türünün üretiminin ve hasadının kolay olması ayrıca yapısındaki bu yüksek katma değerli maddeleri yüksek miktarda biriktirmesinden dolayı organizmanın

potansiyel üretimi bu ürünler üzerine yoğunlaşmıştır. Dünyada endüstriyel düzeyde üretimi yapılan alg türlerinden biri olan *Spirulina* sp., değerli moleküllerdeki yüksek içerikleri nedeniyle, *tarım, gıda, kozmetik* ve *ilaç* endüstrilerde de kullanılmaktadır. *S. platensis*'in antioksidan özelliğinden yararlanılarak gıdaların raf ömrünün arttırılmasında birçok çalışma yapılmıştır. Bu konuda gerçekleştirilen bir çalışmada *S. platensis*'den elde edilen ekstraktların soğuk depolanan sardalya filetoları üzerindeki antioksidan ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışma ile önerilen toplam aerobik mezofil Bakteri limitine *S. platensis* grubu için 13. günde ulaşılmıştır. Sardalyanın başlangıç toplam aerobik mezofil bakteri sayısı 3.45 log kob/g olarak bulunmuştur. Toplam aerobik mezofil bakteri sayısı depolama süresince artış sergilemiş olup, en hızlı artış kontrol grubunda olmuştur. Kontrol grubunun duysal olarak ret edildiği depolamanın 6. gününde kontrol grubu 6.06 log kob/g, *S. platensis* grubu 6.17 log kob/g bakteri yüküne sahip olmuştur. Yapılan bu çalışma ile gıda ürünlerinde *S. platensis* ekstrakt uygulamasının bakteriyel gelişimi yükünü önemli düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir [152].

Malik [153] dondurma ve yoğurdun zenginleştirilmesinde *S. platensis* tozu kullanmış ve çalışmasında % 0.3 *S. platensis* tozu ile zenginleştirilen yoğurt grubunu mikrobiyolojik incelemeye tabi tutmuştur. Kontrol numunesinin koliform ile maya ve küf değerlerini sırasıyla 0.7 ve 1.95 log kob/g olarak bulunmuş olup, *S. platensis* tozu ile zenginleştirilen yoğurdun, koliform ile maya ve küf sayılarını ise sırasıyla 0.48 ve 1.94 log kob/g olarak bulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre *S. platensis* tozu eklenerek mikrobiyolojik kalitenin arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda *S. platensis* mikroalginden elde edilen ekstraktların *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *B.spizizenii*, *Escherichia coli*, , *E.coli* (O157:H7) bakterilerine karşı antibakteriyal etkisi incelenmiştir. *Spirulina platensis* mikroalginden ekstrakt elde edebilmek için su, metanol ve hekzan solventleri kullanılmıştır. Su ile elde edilen ekstraktlarda bakteri türlerinin hiçbirisinde inhibisyon zonu oluşumu gözlenmemiştir. Tez çalışmasından farklı olarak Chakraborty ve ark. metanol, etanol, su ve aseton kullanarak gerçekleştirdikleri antimikrobiyal aktivite çalışmasında “su”dan elde edilen ekstraktlarda 19 mm inhibisyon zonu elde edilmiştir [154]. Bunun sebebinin kullanılan ekstraksiyon metodu olduğu düşünülmektedir ve bununla birlikte Tokgöz [155] tarafından gerçekleştirilen bir çalışma ile benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır.

Yurtdışında yapılan çalışma ile ters bulgular elde edilirken, yurtiçinde gerçekleştirilen çalışmalar ile benzerlik bulunmasının sebebinin yetiştiriciliği yapılan suşun “üretim koşullarındaki” benzerlik olabileceği savunulabilir.



KAYNAKLAR

- [1] L. Tomaselli, The Microalgal Cell, Wiley Blackwell ed., New Jersey, 2004.
- [2] O.I. Şahin, *Spirulina platensis*' ten farklı ortam koşullarında biyokütle ve gamma-linolenik asit üretimi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora tezi, 2015.
- [3] A. Belay, The potential application of *spirulina* as a nutritional health and therapeutic supplement in health management, Journal of the American Nutraceutical Association. 5 (2002) 27-48.
- [4] G. Chamorro, Toxicological Research on the Alga *Spirulina*, united nations international development organization, New York, 1980.
- [5] M. Salazar, E. Martinez, E. Madrigal, L.E. Ruiz, G.A. Chamorro, Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*, Ethnopharmacol. 62 (1998) 235-41.
- [6] S. Ötleş, R. Pire, Fatty acid composition of *chlorella* and *spirulina* microalgae species, Journal of AOAC International. 84 (2001) 1708-14.
- [7] L.M. Colla, C.O. Reinehr, C. Reichert, J.A.V. Costa, Production of biomass and nutraceutical compounds by *spirulina platensis* under different tempure and nitrogen regimes, Bioresource Technology. 98 (2007) 1489-1493.
- [8] G. Usharani, G. Srinivasan, S. Sivasakthi, P. Saranraj, Antimicrobial activity of *spirulina platensis* solvent extracts against pathogenic bacteria and fungi, Biological Research. 9 (2015) 292-298.
- [9] M. Barkallah, M. Dammak, I. Louati, F. Hentati, B. Hadrich, T. Mechichi, M.A. Ayadi, I. Fendri, H. Attia, S. Abdelkafi, Effect of *spirulina platensis* fortification on phsichochemical, textural, antioxidant, and sensory properties of yoghurt during fermentation and storage, Food Science and Technology. 84 (2017) 323-330.
- [10] A.M.I. Darwish, Physicochemical properties, bioactive compounds and antioxidant activity of Kareish cheese fortified with *spirulina platensis*, World Journal of Dairy & Food Sciences. 12-2 (2017) 71-78.

- [11] S. Aydemir, *Spirulina platensis* katılarak üretilmiş yoğurtların özellikleri, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2019.
- [12] D.R. Fox, *Spirulina: production and potential*, Edisud ed., France, 1996.
- [13] A. Richmond, *Microalgal Biotechnology*, Cambridge University Press ed., UK, 1992.
- [14] E.W. Becker, *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*, Cambridge University Press ed., UK, 1995.
- [15] Z. Cohen, *The Chemicals of Spirulina*, Taylor&Francis group, London, 1997.
- [16] R. Sarada, M.G. Pillai, G.A. Ravishankar, Phycocyanin from *spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficiency of extraction methods and stability studies on phycocyanin, *Process Biochemistry*. 34 (1999) 795-801.
- [17] A. Ljubic, H. Safafar, S.L.H. Jacobsen, Biomass composition of, *Journal of Applied Phycology*. 30 (2018) 943–954.
- [18] V. Hynstova, D. Sterbova, B. Klejdus, J. Hedbavny, D. Huska, V. Adam, Separation, Identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using highperformance thin layer chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 148 (2018) 108–118.
- [19] C.D.O.R. Yagui, E.D.G. Danesi, J.C.M. Carvalho, Chlorophyll production from *spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process, *Bioresource Technology*. 92 (2004) 133–141.
- [20] L.Q. Zepka, E.J. Lopes, M. Roca, Catabolism and bioactive properties of chlorophylls, *Current Opinion in Food Science*. 26 (2019) 94–100.
- [21] E. Çağlak, M.E. Erdem, Y. Kaya, Deniz Alglerinin İnsan Besini Olarak Değerlendirilmesi, 13. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 2005, Çanakkale, Türkiye.

- [22] M. Carcea, M. Sorto, C. Batello, V. Narducci, A. Aguzzi, E. Azzini, V. Turfani, Blue-green algae from the lake Chad region in Africa, *LWT-Food Science and Technology*. 62 (2015) 753–763.
- [23] D. Monteverde, L.G. Consarnau, C. Suffridge, S. Wilhelmy, Life sutilization of B vitamins on early earth, *Geobiology*. 15 (2017) 3–18.
- [24] M.R. Edwards, C. Hauer, R.F. Stack, L.E. Eisele, R. Maccoll, Thermophilic C-phycocyanin: effect of temperature, monomer stability, and structure *biochim, Biophysical*. 1321 (1997) 157–164.
- [25] B. Szalontai, Z. Gombos, L. Csizmadia, M. Bagyinka, Structure and interactions of phycocyanobilin chromophores in phycocyanin and allophycocyanin from an analysis of their resonance raman spectra, *Biochemistry*. 33 (1994) 11823–11832.
- [26] C. Romy, R. Gonzalez, N. Ledon, D. Ramirez, V. Rimbau, Cphycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects, *Current Protein & Peptide Science*. 4 (2003) 207–216.
- [27] G. Özdemir, N.U. Karabay, M.C. Dalay, B. Pazarbaşı, Antibacterial activity of volatile component and various extracts of spirulina platensis. *Phytotherapy Research*. 18 (2004) 754-757.
- [28] Q.S. Pang, B.J. Guo, J.H. Ruan, Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of spirulina platensis, *Yi Chuan Xue Bao*. 15 (1998) 374–381.
- [29] M.A. Qureshi, J.D. Garlich, M.T. Kidd, Dietary *spirulina platensis* enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens, *Immunotoxicol*. 18 (1996) 465– 476.
- [30] T. Hirahashi, M. Matsumoto, K. Hazeki, Y. Saeki, T. Seya, Activation of the human innate immune system by *spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *spirulina platensis*, *International Immunopharmacology*. 2 (2002) 423-34.
- [31] M.A. Qureshi, J.D. Garlich, M.T. Kidd, Dietary Spirulina platensis enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens, *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 18 (1996) 465– 476.

- [32] P.A. Sandstrom, J. Murray, T.M. Folks, A.M. Diamond, Antioxidant defenses influence HIV-1 replication and associated cytopathic effects, *Free Radical Biology and Medicine*. 24 (1998) 1485-1491.
- [33] K. Hayashi, T. Hayashi, I. Kojima, A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *spirulina platensis*: in vitro and in vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities, *AIDS Research and Human Retroviruses*. 12 (1996) 1463-1471.
- [34] S. Kim, I. Wijesekara, Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides, *Journal of Functional Foods*. 2 (2010) 1–9.
- [35] T.L. Mason, B.P. Wasserman, Inactivation of red beet beta-glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds, *Phytochemistry*. 26 (1987) 2197 -2202.
- [36] S. Umayaparvathi, M. Arumugam, S. Meenakshi, Balasubramanian, In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of gulf of mannar, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1 (2012) 66-70
- [37] T. Kuda, M. Tsunekaw, H. Goto, Y. Araki, Antioxidant properties of four edible algae harvested in the noto peninsula japan, *Journal of Food Composition Analyses*. 18 (2005) 625-633.
- [38] B.L. Tutour, F. Benslimane, M. Gouleau, J. Gouygou, B.S. Quemeneur, Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae, *laminaria digitata*, *himanthalia elongata*, *fucus vesiculosus*, *fucus serratus* and *ascophyllum nodosum*, *Journal of Applied Phycology*. 10 (1998) 121-129.
- [39] W. Boonchum, Antimicrobial and anti-inflammatory properties of various seaweeds from the gulf of thailand, *International Journal of Agriculture and Biology*. 13 (2011) 100 – 4.
- [40] S. Caccamese, R. Azzolino, Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern sicily, *Planta Medica*. 9 (1979) 37-333.
- [41] H.H.A.E. Baky, F.K.E. Baz, Natural preservative ingredient from marine alga *ulva lactuca*, *International Journal Of Food Science and Technology*. 95 (2009) 44-1688.

- [42] A.M.S. Mayer, M.T. Hamann, Marine pharmacology in 2001 – 2002: marine compounds with antihelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, antiinflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis and antiviral activities. affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action, *Physiology and Biochemistry*. 140 (2005) 265 – 86.
- [43] H.M.E. Osman, A.M. Abushady, M.E. Elshobary, In vitro screening of antimicrobial activity of extracts of some macroalgae collected from abu – qir bay alexandria, egypt, *African Journal of Biotechnology*. 9 (2010) 7203 – 8.
- [44] R.M. Perez, Antimicrobial activity of some american algae, *Ethnopharmacol*. 29 (1990) 111 – 6.
- [45] M. Premalatha, Phytochemical characterization and antimicrobial efficiency of seaweed samples *ulva fasciata* and *chaetomorpha antennina*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2-1 (2011) 293.
- [46] I. Tuney, B.H. Cadırcı, D. Unal, A. Sukatar, Antimicrobial activities of crude extracts of marine algae from the coast of Urla, *Fresenius Environmental Bulletin*. 16 (2007) 428.
- [47] C.S. Vairappan, M. Daitah, M. Suzuki, T. Abe, M. Masuda, Antibacterial halogenated metabolites from the malaysian laurencia species, *Phytochemistry*. 58 (2001) 291 – 7.
- [48] N. Xu, X. Fan, X. Yan, X. Li, R. Niu, C.K. Tseng, Antibacterial bromophenols from the marine red alga *rhodomela confervoides*, *Phytochemistry*. 62 (2003) 122 – 4.
- [49] P. Ghosh, V. Adhikari, P.K. Ghosal, C.A. Pujol, M.J. Carlucci, E.B. Domante, B. Ray, In vitro antiherpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from caulerpa racemosa, *Phytochemistry*. 65 (2004) 3151 – 7.
- [50] D.J. Newman, G.M. Cong, K.M. Snader, Natural products as new drugs over the period 1981 – 2002, *Natural Products*. 66 (2003) 1022 – 37
- [51] H.S. Pereira, L.R. Leao Ferreira, N. Moussatche, V.L. Teixeira, D.N. Cavalcanti, L.J. Costa, R. Diaz, I.C. Frugulhetti, Antiviral activity of diterpenes isolated from the

brazilian marine alga dictyota menstrualis againsts human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), Antiviral Research. 76 (2004) 64-69.

[52] W. Zhu, V.E.C. Ooi, P.K.S. Chan, P.O.J. Ang, Isolation and characterization of a sulphated polysaccharide from the brown alga sargassum potens and determination of its anti herpes activity, Biochemistry and Cell Biology. 33 (2003) 81-25.

[53] J. Rauha, S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, P. Vuorela, H. Vuorela, Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flaonoids and other phenolic compounds, International Journal of Food Microbiology. 56 (200) 3-12.

[54] M.J. Perez, E. Falque, H. Dominguez, Antimicrobial action of compounds from marine seaweed, Marine Drugs. 14 (2016) 52

[55] S. Gupta, S. Cox, G. Rajauria, A.K. Jaiswal, A. Ghannam, Growth inhibition of common food spoilage and pathogenic microorganisms in the presence of brown seaweed extracts, Food and Bioprocess Technology. 5 (2012) 1907-1916.

[56] M. Millan, E. Russell, D. Roop, T.F. Molinski, A.C. Lobocyclamides, lipopeptides from a cryptic cyanobacterial mat containing *lyngbya confervoides*, The Journal of Organic Chemistry. 67 (2002) 8210-8215.

[57] S.M. Shanab, Bioactive Allelo-chemical compounds from *oscillatoria Species* (Egyptian isolates), International Journal of Agriculture And Biology. 9-4 (2007) 617-621.

[58] L.T. Tan, Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery, Phytochemistry. 68 (2007) 954-979.

[59] S.M. Abdo, M.H. Hetta, W.M.E. Senousy, R.A.S.E. Din, G.H. Ali, Antiviral activity of freshwater algae, Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2 (2012) 21-25.

[60] M. Muthulakshmi, A. Saranya, M. Sudha, G. Selvakumar, Extraction, partial purification, and antibacterial activity of phycocyanin from *spirulina* isolated from fresh water body against various human pathogens, Algal Biomass Util. 3-3 (2012) 7-11.

- [61] T. Murugan, Antibacterial activity of C phycocyanin against clinical isolates by disc diffusion method, Journal of Pharmacy Research. 5 (2012) 3020- 3021.
- [62] M.A. Yoldaş, H. Katırcıoğlu, Y. Beyatlı, Bazı mavi-yeşil alglerin (CyanophytaCyanobacteria) poli- β -hidroksibütirat (PHB) üretimi ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi. 20 (2003) 467-471.
- [63] M. Kandhasamy, K.D. Arunachalam, Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India, African Journal of Biotechnology. 7-12 (2008) 1958-1961.
- [64] S. Ghanthikumar, D. Vanila, A. Masillamani, Antibacterial activity of some seaweeds, Applied Biology and Biotechnology. 1 (2012) 1-5.
- [65] S. Cox, N.A. Ghannam, N. Gupta, An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible *Irish* seaweeds, International Food Research Journal. 17 (2010) 205-220.
- [66] Ö.B. Ertürk, B. Taş, Antibacterial and antifungal effects of some marine algae, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 17 (2011) 121-124.
- [67] Z. Demirel, Y. Koz, U.N.K. Yavaşoğlu, G. Özdemir, A. Sukatar, Antimicrobial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean Sea, Journal of the Serbian Chemical Society. 74 (2009) 619-628.
- [68] M. Pandithurai, M. Subbiah, V. Sivamurugan, Antibacterial activity of various solvent extracts of marine brown alga *spatoglossum asperum*, International Journal of Pharmacological Research. 5 (2015) 133-138.
- [69] H. Kuleaşan, D. Özkaya, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık, Ankara, 2000.
- [70] Y.C. Su, C. Liu, *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety, Ournal of Food Microbiology. 24 (2000) 549- 58.
- [71] M. Uğur, B. Nazlı, K. Bostan, Gıda Hijyeni, Teknik Yayınevi, İstanbul, 2003.
- [72] K.M. Peterson, Molecular Pathogenesis of *Vibrio* Infections. In: Microbial Foodborne Diseases, Techomic Publishing, USA, 2000.

- [73] S. Nelapati, K. Nelapati, B.K. Chinnam, *Vibrio parahaemolyticus*-an emerging foodborne pathogen, *Veterinary World*. 5 (2012) 48-62.
- [74] R.V. Tauxe, *Salmonella*: a postmodern pathogen, *Journal of Food Protection*. 54-7 (1991) 503-508.
- [75] C. Bell, A. Kyriakides, *Salmonella: A Practical Approach to the Organism and its Control in Foods*, Blackwell Science Ltd, Oxford, 2002.
- [76] M. Akbarut, Bursa bölgesindeki sığırlardan izole edilen *Salmonella* türleri üzerine bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar, Uludağ üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 1997.
- [77] M. Gareis, *Salmonellen ein überblick*, *Fleischwirtschaft*, 75 (1995) 954-957.
- [78] K. Töreci, *Salmonella İnfeksiyonları- İnfeksiyon Hastalıklar*, İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Ders Kitapları, İstanbul, 1979.
- [79] A.T. Pavia, R.V. Tauxe, A.S. Evans, P.S. Brachman, *Bacterial infections of humans, Epidemiology and control*, Plenum Medical Book Company, New York and London, 1991.
- [80] L. Minor, E.N.R. Krieg, J.G. Holt, *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins, London, 1984.
- [81] J.Y. Daoust, *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel dekker, New York, 1989.
- [82] J.C. Ayres, J.O. Mundt, W.E. Sandine, *Microbiology of Foods*, WH Freeman and Comp, San Francisco, 1980.
- [83] S.I. Miller, E.L. Hohmann, D.A. Pegues, G.L. Mandell, J.E. Bennet, D. Raphael, *Principles and Practise of Infectious Disease - Salmonella including Salmonella typhi*, Churchill Livingstone, New York, 1995.
- [84] F.A. Drobniowski, *Bacillus cereus and related species*, *Journal of Clinical Microbiology*. 6 (1993) 324-338.
- [85] E.J. Bottone, *Bacillus cereus a volatile human pathogen*, *Clinical Microbiology*. 23 (2010) 382-398.
- [86] S.J. Forsythe, *The microbiology of safe food*, Blackwell Science, USA, 2000.

- [87] Anonim, Standards for Microbiology Investigations Identification of Bacillus species, Public Health England, UK, 2018.
- [88] M.T. Madigan, D.H. Buckley, Brock Biology of microorganisms, Pearson Education, USA, 2006.
- [89] C. Özkuyumcu, Klinik Bakteriyoloji El Kitabı, Güneş Tıp Kitapevi, Ankara, 2009.
- [90] Ö. Kısa, Sağlık bilimlerinde mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2014.
- [91] H. Bilgehan, Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 2009.
- [92] A.F. Read, R.J. Woods, Antibiotic resistance management, Evolution Medicine and Public Health, 1 (2014) 147.
- [93] J.R. Junttila, S.I. Niemela, J. Hirn, Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and nonhaemolytic *listeria*, Journal of applied bacteriology. 65-4 (1988) 321-327.
- [94] S.J. Walker, P. Archer, J.G. Banks, Growth of *listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures, Journal of Applied Bacteriology. 68 (1990) 157-162.
- [95] J.M. Farber, F. Coates, E. Daley, Minimum water activity requirements for the growth of *listeria monocytogenes*, Letters in Applied Microbiology. 15-3 (1992) 103-105.
- [96] B. Norrung, Microbiological criteria for *listeria monocytogenes* in foods under special consideration of risk assessment approaches, International journal of Food Microbiology. 62 (2000) 217-221.
- [97] J. Rocourt, A. Schrettenbrunner, H. Hof, E.P. Espaze, New species of the genus *listeria*: *listeria seeligeri*, Pathologie-Biologie. 35 (1987) 1075-1080.
- [98] H. Cebiroğlu, Dondurulmuş hamburger köfte ve diğer köfte çeşitlerinde enterohemorajik *escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı üzerine araştırmalar, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1998.

- [99] N.M. Ahmed, D.E. Conner, D.L. Huffman, Heat resistance of escherichia coli O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition, *Journal of Food Science*, 60 (1995) 606-610.
- [100] D.E. Conner, J.S. Kotrola, Growth and survival of escherichia coli O157:H7 under acidic conditions, *Applied and Environmental Microbiology*. 61 (1995) 382-385.
- [101] J.J. Semanchek, D.A. Golden, Influence of growth temperature on inactivation and injury of escherichia coli O157:H7 by heat, acid and freezing, *Journal Food Protect*. 61 (1998) 395-401.
- [102] R.E. Brackett, Y.Y. Hao, M.P. Doyle, Ineffectiveness of hot acid sprays to decontaminate escherichia coli on beef, *Journal Food Protect*. 57 (1994) 198-203.
- [103] A.K. Hathcox, L.R. Beuchat, Inhibitory effects of sucrose fatty acid esters, alone and in combination with ethylenediaminetetraacetic acid and other organic acids on viability of escherichia coli O157:H7, *Food Microbiology*. 13 (1996) 213-225.
- [104] Ş. Ustaçelebi, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Öncü Basımevi, Ankara, 1999.
- [105] J. Meng, M.P. Doyle, Emerging and evolving microbial foodborne pathogens, *Bulletin Institute of Pasteur*. 96 (1998) 151-154.
- [106] C. Krishnan, V.A. Fitzgerald, S.J. Dakin, R.J. Behme, Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7, *Journal of Clinical Microbiology*. 25 (1987) 1043-1047.
- [107] J. Tilden, W. Young, M.C. Namara, C. Custer, B. Boesel, M.A Lambert Fair, A new route of transmission of escherichia coli: infection from dry fermented salami, *Journal of Public Health*. 86 (1996) 1142-1145.
- [108] P.S. Mead, L. Slutsker, V. Dietz, M.C. Caig, J.S. Bresee, C. Shapiro, Food related illness and death in the united states, *Emerging Infectious Diseases journal*. 5 (1999) 607- 625.
- [109] K. Halkman, R. Noveir, H.B. Doğan, *Escherichia coli* O157:H7 serotipi, Sim Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 2001.

- [110] J.M. Rangel, P.H. Sparling, C. Crowe, P.M. Griffin, D.L. Swerdlow, Epidemiology of escherichia coli O157:H7 outbreaks, united states, 1982-2002, *Emerging Infectious Diseases*, 11 (2005) 603-609.
- [111] C.L. Roberts, P.A. Mshar, M.L. Cartter, J.L. Hadler, D.M. Sosin, P.S. Hayes, The role of heightened surveillance in an outbreak of escherichia coli O157:H7, *Epidemiology and Infection*, 115 (1995) 447-454.
- [112] D.J. Bopp, B.D. Sauders, A.L. Waring, J. Ackelsberg, N. Dumas, B. Howland, Detection, isolation and molecular subtyping of escherichia coli O157:H7 and *campylocater jejuni*, associated with a large waterborne outbreak, *Journal of Clinical Microbiology*. 41 (2003) 174-180.
- [113] J.R. Dunn, The epidemiology of Shiga -Toxigenic Escherichia coli O157:H7 in Louisiana dairy cattle, beef catle and white -tailed deer, Louisiana State University and Agricultural & Mechanical College Doctorate thesis, 2003.
- [114] A.W. Friedrich, R. Köck, M. Bielaszewska, W. Zhang, H. Kacch, W. Mathys, Distrubution of the urease gene cluster among and ureas activities of 48 enterohemorrhagic Escherichia coli O157 isolates from humans, *Journal of Clinical Microbiology*. 43 (2005) 546-550.
- [115] M.P.Doyle, R.L. Buchanan, In: *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, ASM Press, Washington, 2013.
- [116] N. Ektik, Balıkesir ilinde süt ve süt ürünlerindeki metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'un prevalansı ve antibiyotik dirençliliği, Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2015, 71.
- [117] B.R. Othman, C.H. Kuan, A.S. Mohammed, Y.K. Cheah, C.W. Tan, C.Y. New, T.Y. Thung, W.S. Chang, Y. Nakaguchi, M. Nishibuchi, S. Radu, Occurence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* in raw shellfish at retail markets in malaysia and antibacterial efficacies of black seed (*Nigella sativa*) oil against MRSA, *Food Control*. 90 (2018) 331.
- [118] Q. Liv, H. Sun, K. Yao, J. Cai, Y. Ren, Y. Chi, The prevalence, antibiotic resistance and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* in bulk ready-toeat foods, *Biomolecules*. 9 (2019) 11.

- [119] A. Bhatia, S. Zahoor, *Staphylococcus aureus* enterotoxins, Journal of Clinical and Diagnostic Research. 1 (2007) 188-197.
- [120] G. Diaz, L. Zarain, C. Torres, P.C. Gonzalez, R. Gracia, Genotyping of antimicrobial resistance and virulence in *staphylococcus* isolated from food of animal origin in Mexico, Indian Journal of Microbiology. 58 (2018) 525-528.
- [121] N. Cihanoğlu, *Staphylococcus aureus* suşlarının virulans faktörlerinin araştırılması, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2018, 71.
- [122] J. Cheng, H.W. Barkema, D.B. Nóbrega, J. Gao, G. Liu, J.D. Buck, J.P. Kastelic, H. Sun, B. Han, Antimicrobial resistance profiles of 5 common bovine mastitis pathogens in large Chinese dairy herds, Journal of Dairy Science. 102 (2019) 1-11.
- [123] P.D. Giudice, Skin infections caused by *staphylococcus aureus*, Acta Dermatovenereologica. 20 (2020) 9.
- [124] T.A. Taylor, G.C. Unakal, *Staphylococcus aureus*, StatPearls Publishing, Treasure Island, 2017.
- [125] M. Arda, Temel mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, 2000.
- [126] B. Koç, F. Ertekin, Yanıt yüzey Yöntemi ve gıda İşleme uygulamaları, Gıda. 35 (2010) 63-70.
- [127] M.H. Ertop, Ekşi Hamur Formül Optimizasyonunun Ekmeğin Aromatik Profili, Biyoaktif Nitelikleri ve Raf Ömrü Üzerine Etkileri, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2014, 45.
- [128] H. Gürbüz, Ş. Baday, F. Sönmez, CNC takım tezgahlarında ayna ve punta basıncının talaşlı imalat parametrelerine etkisinin yüzey yanıt yöntemiyle değerlendirilmesi, Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1 (2021) 160 – 169.
- [129] M. Farasat, R.A.K. Nejad, S.M.N. Nabavi, F. Namjooyan, Antioxidant properties of some filamentous green algae (*Chaetomorpha* Genus), Brazilian Archives of Biology and Technology Journal. 56 (2013) 921-927.
- [130] C.M. Collins, P.M. Lyne, Microbiological Methods, Butterworths, London, 1989.

- [131] J. Bradshaw, L.J. Hooker Commercial, Laboratory Microbiology, Saunders College Publishing and Harcourt Brace Jovanich College, UK, 1992.
- [132] V. Navarro, M.L. Villarreal, G. Rojas, X. Lozoya, Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases, *Ethnopharmacol.* 53 (1996) 143-147.
- [133] B. Cemeroğlu, Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 2007.
- [134] R.M.A. Abedin, H.M. Taha, 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 (2008) 22-31.
- [135] J.W. Prakash, J. Marimuthu, S. Jeeva, Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from thamirabarani River, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 1 (2011) 170-173.
- [136] A.R. Rao, A.H. Reddy, S.M. Aradhya, Antibacterial properties of *spirulina platensis*, *haematococcus pluvialis*, *botryococcus braunii* micro algal extracts, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy.* 4 (2010) 809–819.
- [137] G. Özdemir, M. Dalay, K. Küçükakyüz, B. Pazarbaşı, M. Yılmaz, Türkiye koşullarında *spirulina platensis*'in çeşitli ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite kapasitesinin belirlenmesi, *Su Ürünleri Dergisi.* 18 (2001) 18-1.
- [138] P. Mansuya, P. Aruna, S. Sridhar, S. Kumar, S. Babu, Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from gulf of mannar region, *Journal of experimental Sciences.* 1 (2010) 23-26.
- [139] S. Krish, A. Das, In vitro bioactivity of marine seaweed, *cladophora rupestris*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 5 (2014) 898-908.
- [140] M. Pandithurai, M. Subbiah, S. Vajiravelu, N.T. Selvan, Antifungal activity of various solvent extracts of marine brown alga *Spatoglossum asperum*, *International Journal of Pharmaceutical Chemistry.* 5 (2015) 277-280.

- [141] B. Sadıq, G.Y. Butt, M. Ajaib, A. Usman, N. Hussain, Evaluation of antibacterial competence of *cladophora glomerata* and *lyngbya diguetii*, *Biologia*. 62 (2016) 169-172.
- [142] A. Manilal, M. Mama, T. Gezmu, B. Merdekios, G. Ameya, S.E. John, A. Idhayadhulla, An in vitro antibacterial and cytotoxic potentials of bioactive metabolites extracted from *padina tetrastomatica*, *iMedPub Journals*. 7 (2016) 1-40.
- [143] H. Yousif, Study of antibacterial activity of the extracts of some of algae, *Al-Taqani Scientific Journal*. 22 (2009) 27-34.
- [144] N. Srivastava, K. Saurav, V. Mohanasrinivasan, K. Kannabiran, M. Singh, Antibacterial potential of macroalgae collected from the madappam coast, *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 1 (2010) 72-76.
- [145] W. Salem, H. Galal, N.E. Deen, Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt), *African Journal Microbiology Research*. 5 (2011) 2160-2167.
- [146] D.A. Mendes, Functional activity of seaweed extracts from North Portuguese coast, Universidade Catolica Portuguesa, Escola Superior de Biotecnologia, Mikrobiyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2012, 49.
- [147] H. Nikaido, Preventing drug access to targets: cell surface permeability barriers and active efflux in bacteria, *Semin Cell Dev Biol*. 122 (2001) 15-23.
- [148] X.Z. Li, H. Nikaido, Efflux-mediated drug resistance in bacteria, *Drugs*. 64 (2004) 159-204.
- [149] H. Nikaido, The role of outer membrane and efflux pumps in the resistance of gram-negative bacteria, Can we improve drug access, *Drug Resistance Updates*. 1 (1998) 93-8.
- [150] K. Poole, Efflux mediated resistance in gram-negative bacteria, *Clin Microbiol Infect*. 10 (2004) 12-24.
- [151] K. Poole, Efflux mediated resistance to flouroquinolones in gram positive bacteria and mycobacteria, *Antimicrob Agents Chemother*. 44 (2000) 2595-9.

[152] Ö. İlyas, *Spirulina Platensis* ve *Chlorella Vulgaris*' den elde edilen ekstraktların soğuk depolanan Sardalya (*Sardinella aurita*) filetoları üzerindeki antioksidan ve antimikrobiyal etkileri, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, 2018.

[153] P. Malik, Utilization of *Spirulina* powder for enrichment of ice cream and yoghurt, Animal and Fisheries Sciences University, Karnataka Veterinary, Doctoral dissertation, Bidar, 2011.

[154] B. Chakraborty, P.R. Jayaswal, P.P. Pankaj, Evaluation of antibacterial activity of *spirulina platensis* extracts against opportunistic pathogen model, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 6 (2014) 988-990.

[155] T. Merve, Cerrahi İpliklerin Antimikrobiyal aktivite gösteren mikroalg ekstraktı ile kaplanması, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2009, 85.

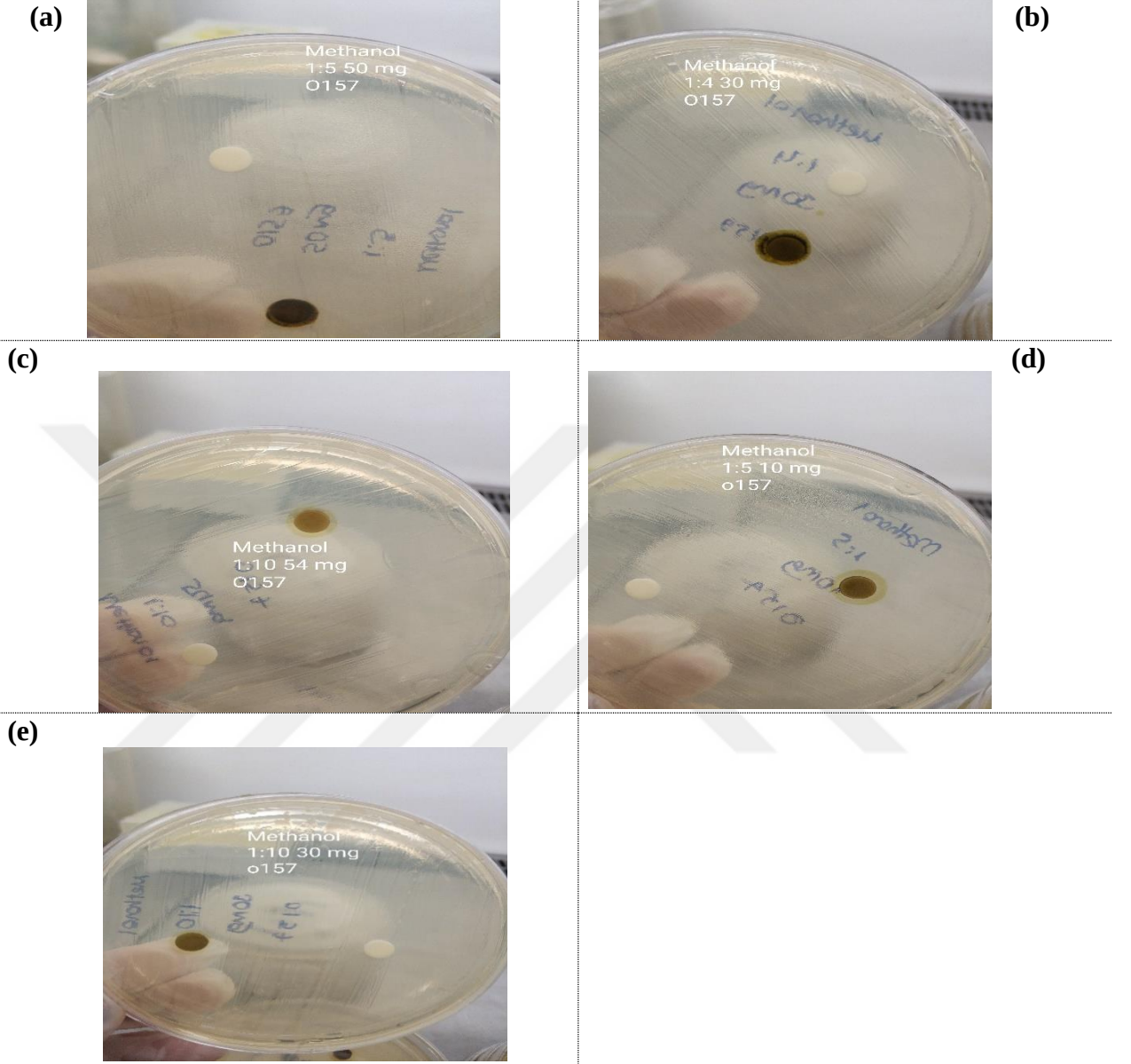
EKLER

EK A.1	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Escherichia coli</i> O157 bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.2	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Escherichia coli</i> O157 bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.3	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Escherichia coli</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.4	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Escherichia coli</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.5	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Bacillus cereus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.6	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Bacillus cereus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.7	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Staphylococcus aerus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.8	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Staphylococcus aerus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.9	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Bacillus spizizeni</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.10	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Bacillus spizizeni</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.11	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Vibrio parahaemolyticus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.12	<i>Spirulina platensis</i> 'in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Vibrio parahaemolyticus</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.13	<i>Spirulina platensis</i> 'in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Salmonella typhimurium</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

EK A.14	<i>Spirulina platensis</i> ’in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Salmonella typhimurium</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.15	<i>Spirulina platensis</i> ’in Metanolik ekstraktlarına ait <i>Listeria monocytogenes</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri
EK A.16	<i>Spirulina platensis</i> ’in Hekzan ekstraktlarına ait <i>Listeria monocytogenes</i> bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



EK A.1 *Spirulina platensis*'in Metanolik ekstraktlarına ait *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



İnhibisyon Zonları: (a) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (b) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (c) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg metanol ekstraktı. (d) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı. (e) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg metanol ekstraktı.

EK A.2 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

(a)



(b)



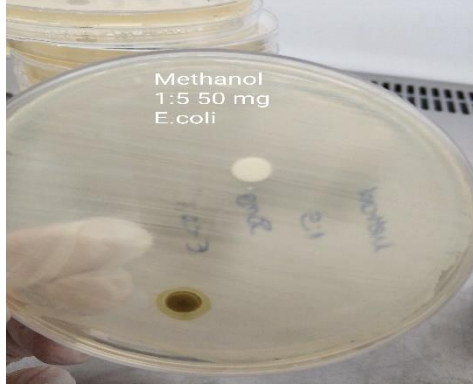
(c)



İnhibisyon Zonları: (a) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı. (b) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı. (c) *Escherichia coli* O157 bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı.

EK A.3 *Spirulina platensis* 'in Metanolik ekstraktlarına ait *Escherichia coli* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

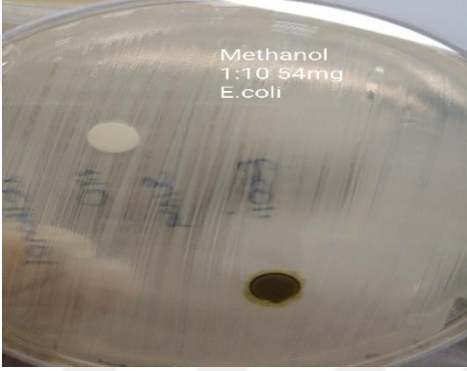
(a)



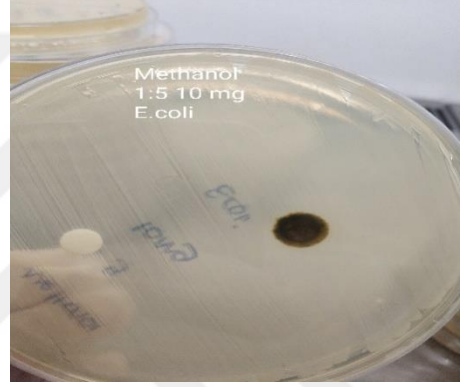
(b)



(c)



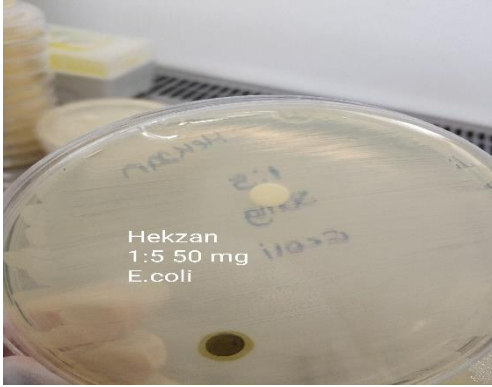
(d)



İnhibisyon Zonları: (a) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (b) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (c) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg metanol ekstraktı. (d) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı.

EK A.4 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına a ait *Escherichia coli* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

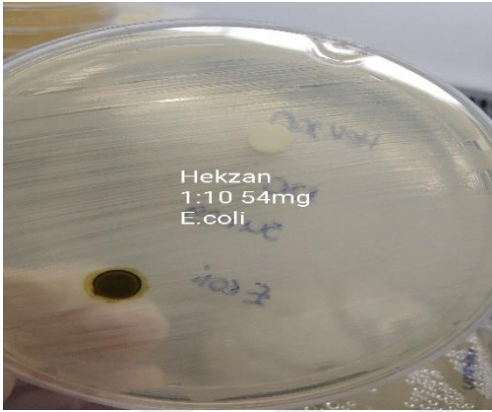
(a)



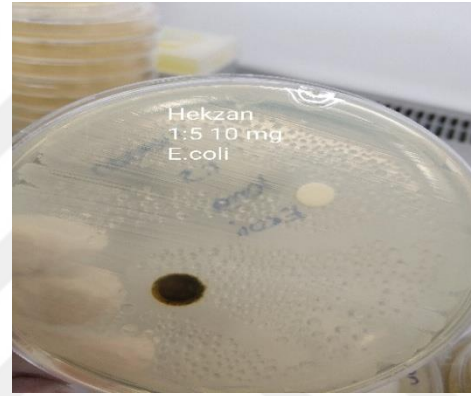
(b)



(c)

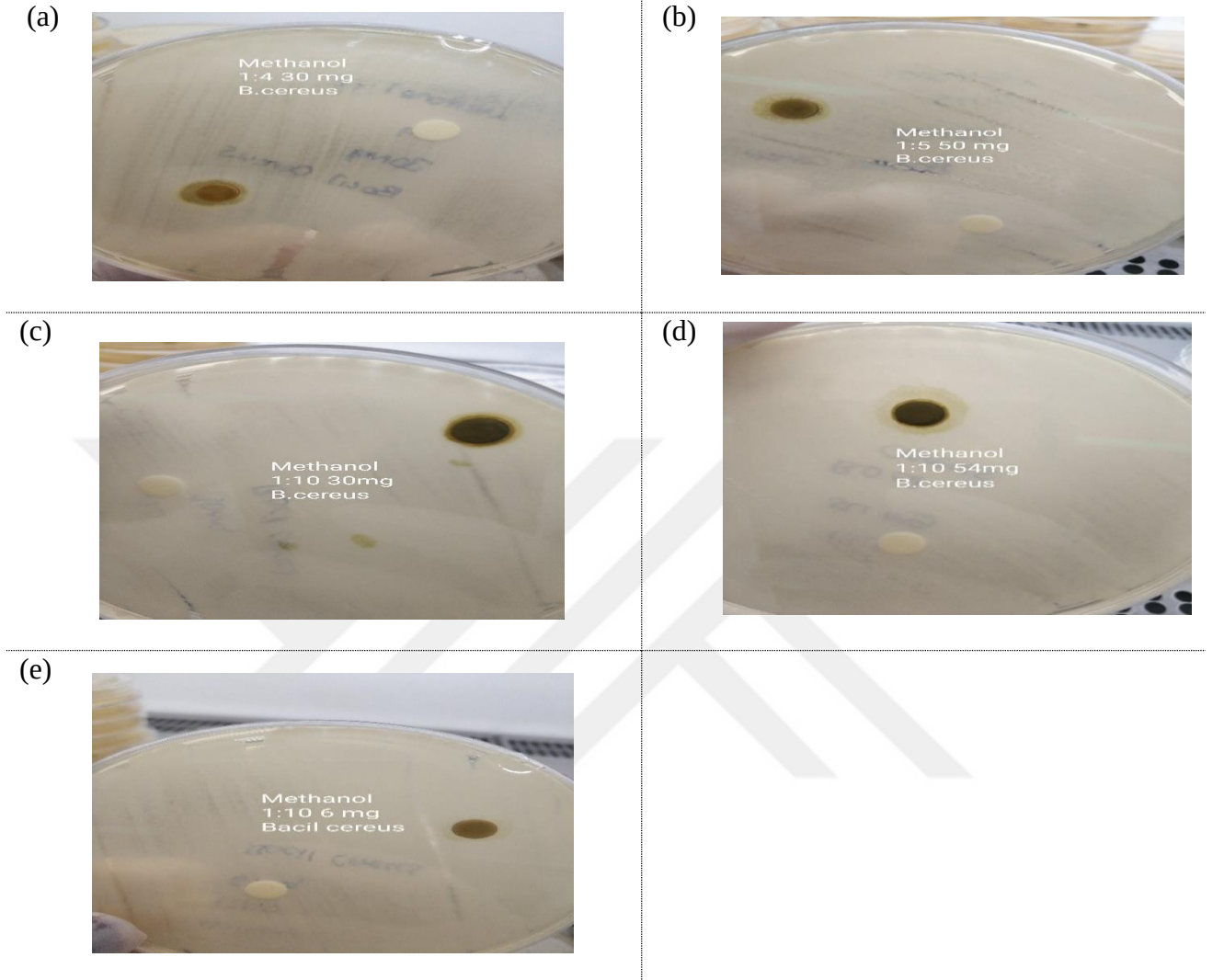


(d)



İnhibisyon Zonları: (a) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (b) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı. (c) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg hekzan ekstraktı. (d) *Escherichia coli* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı.

EK A.5 *Spirulina platensis* 'in Metonolik ekstraktlarına ait *Bacillus cereus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



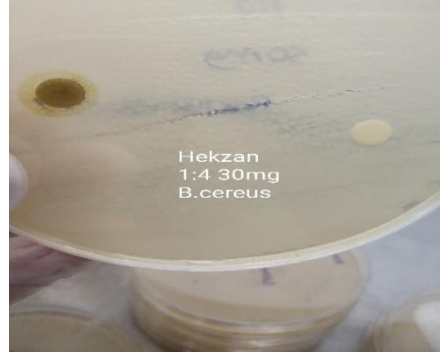
İnhibisyon Zonları: (a) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (d) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg metanol ekstraktı. (e) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 6 mg metanol ekstraktı.

EK A.6 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Bacillus cereus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

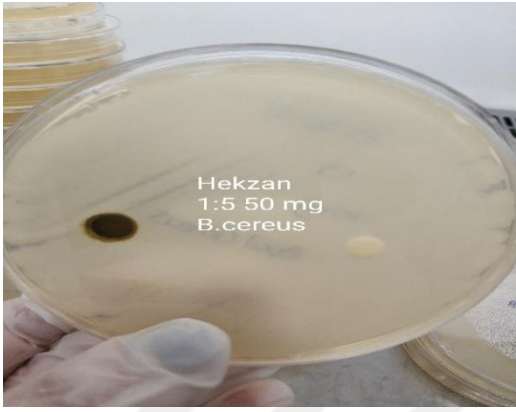
(a)



(b)

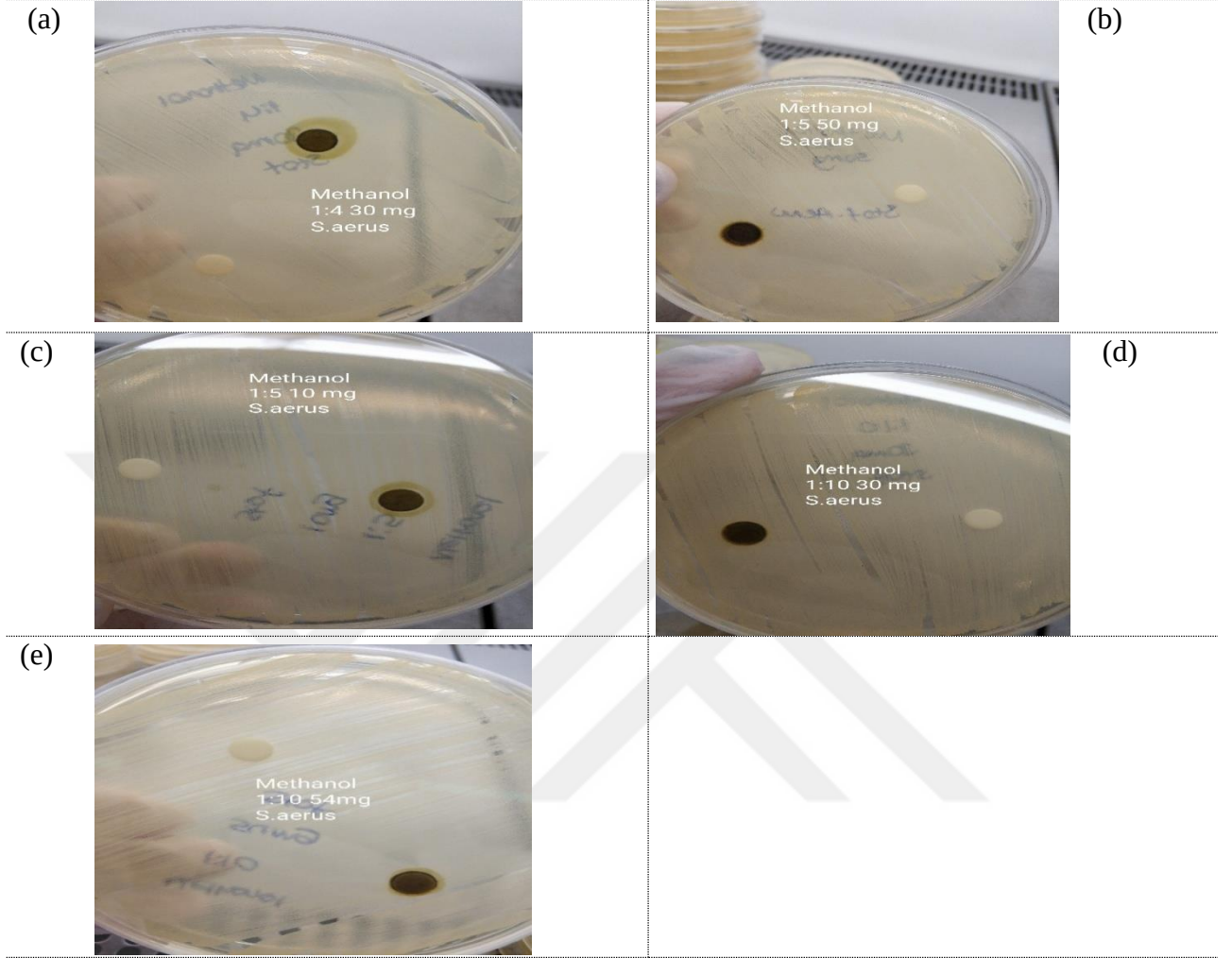


(c)



İnhibisyon Zonları: (a) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg hekzan ekstraktı. (b) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı. (c) *Bacillus cereus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı.

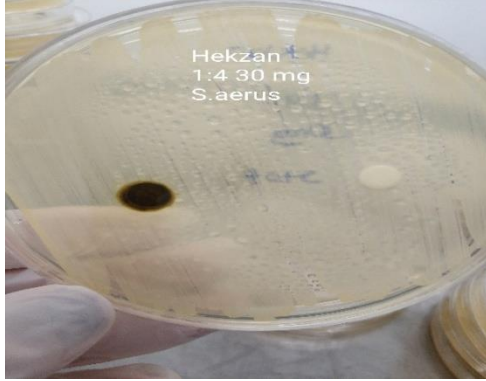
EK A.7 *Spirulina platensis*'in Metanolik ekstraktlarına ait *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



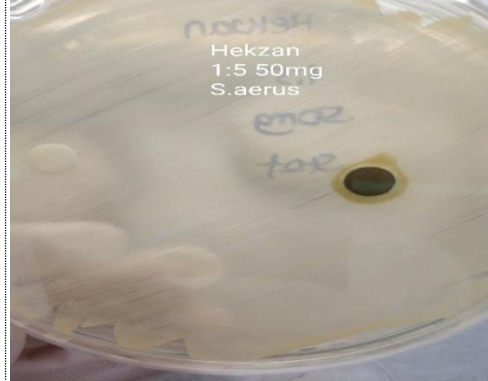
İnhibisyon Zonları: (a) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı. (d) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (e) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg metanol ekstraktı.

EK A.8 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

(a)



(b)

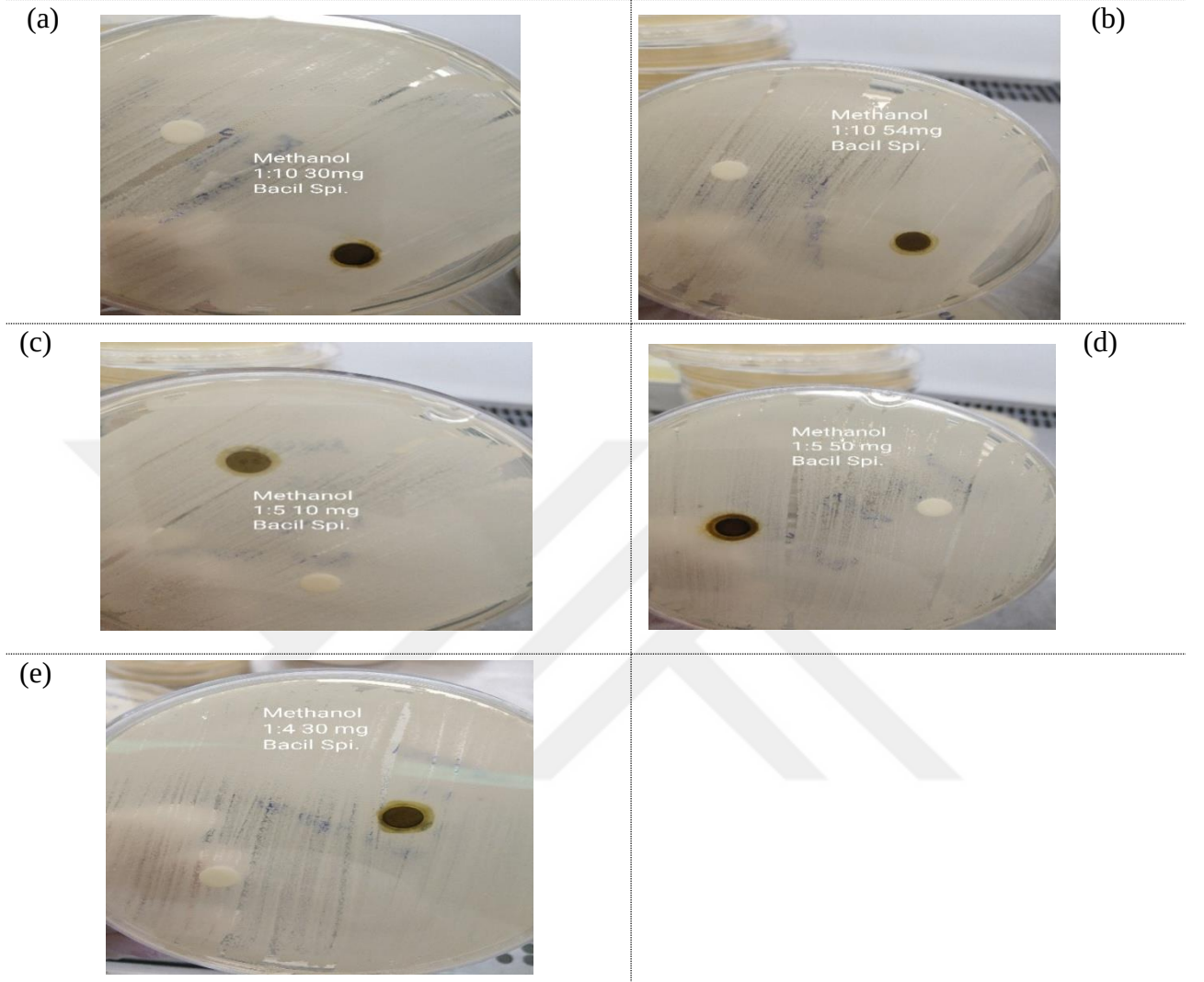


(c)



İnhibisyon Zonları: (a) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı. (b) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (c) *Staphylococcus aerus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı.

EK A.9 *Spirulina platensis* 'in Metanolik ekstraktlarına ait *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



İnhibisyon Zonları: (a) *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı. (d) *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (e) *Bacillus spizizeni* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı.

EK A.10 *Spirulina platensis* Hekzan ekstraktlarına ait *Bacillus spipizeni* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

(a)



(b)

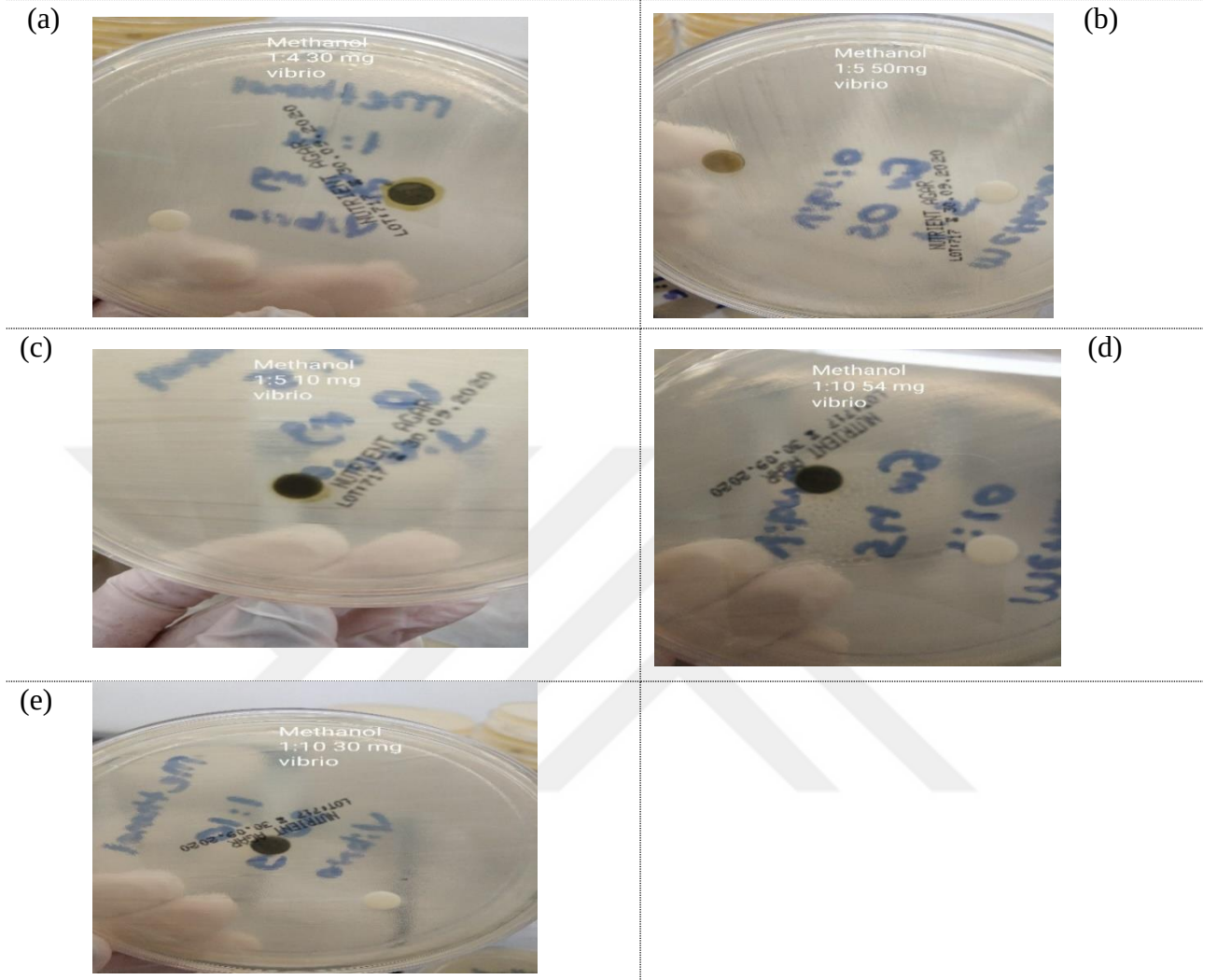


(c)



İnhibisyon Zonları: (a) *Bacillus spipizeni* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı. (b) *Bacillus spipizeni* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (c) *Bacillus spipizeni* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı.

EK A.11 *Spirulina platensis* 'in Metanolik ekstraktlarına ait *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



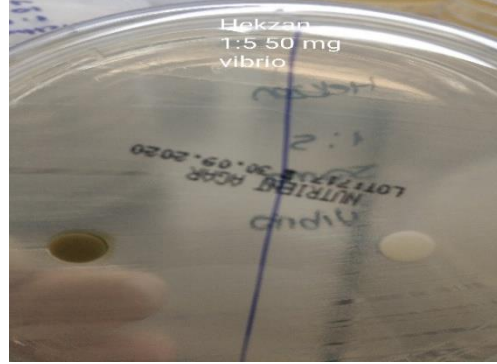
İnhibisyon Zonları: (a) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı. (d) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg metanol ekstraktı. (e) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg metanol ekstraktı.

EK A.12 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

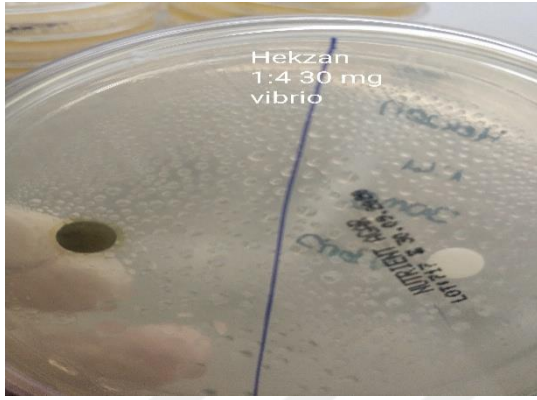
(a)



(b)

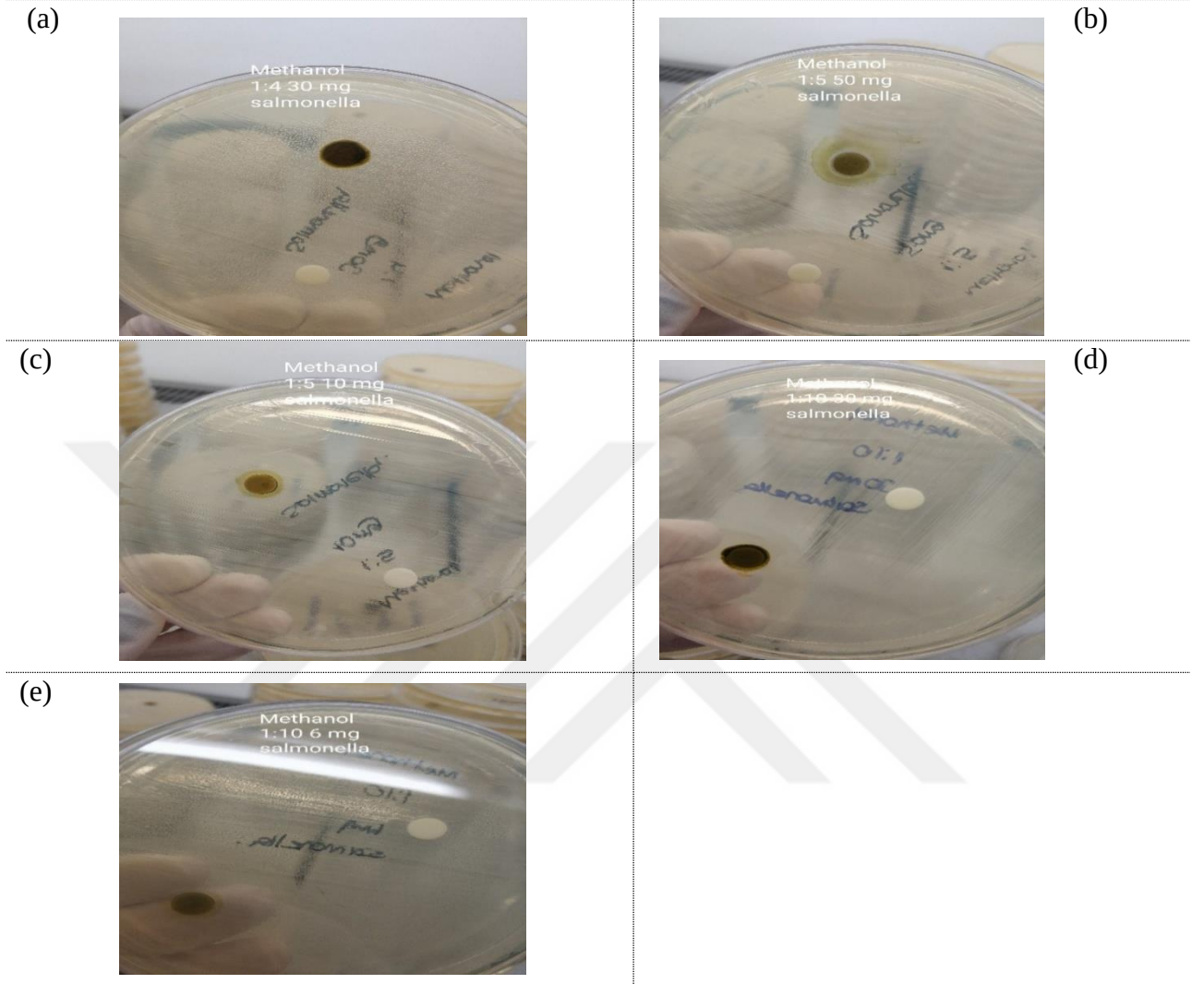


(c)



İnhibisyon Zonları: (a) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı. (b) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (c) *Vibrio parahaemolyticus* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı.

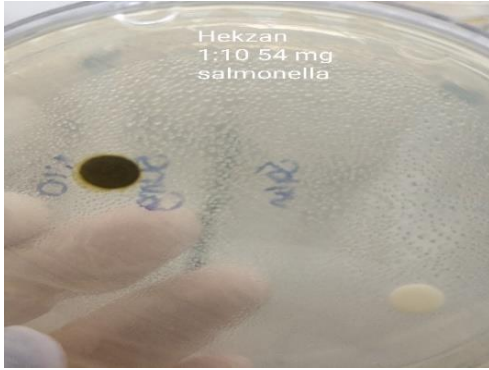
EK A.13 *Spirulina platensis* 'in Metanolik ekstraktlarına ait *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri



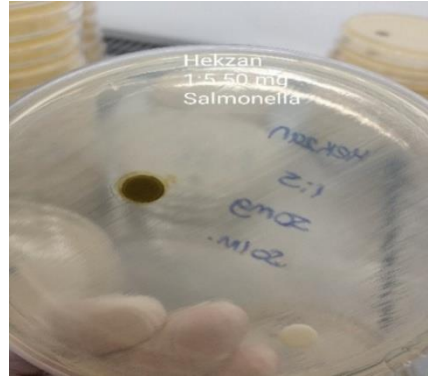
İnhibisyon Zonları: (a) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı. (d) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (e) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 6 mg metanol ekstraktı.

EK A.14 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

(a)



(b)



(c)



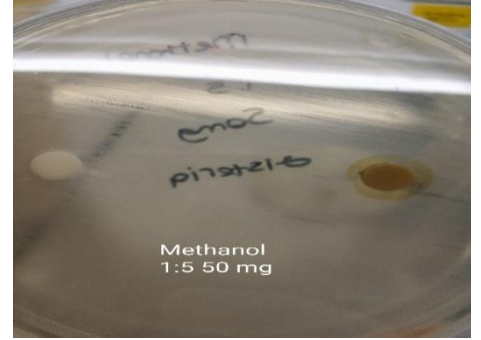
İnhibisyon Zonları: (a) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 54 mg hekzan ekstraktı. (b) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (c) *Salmonella typhimurium* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı.

EK A.15 *Spirulina platensis* 'in Metanolik ekstraktlarına ait *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

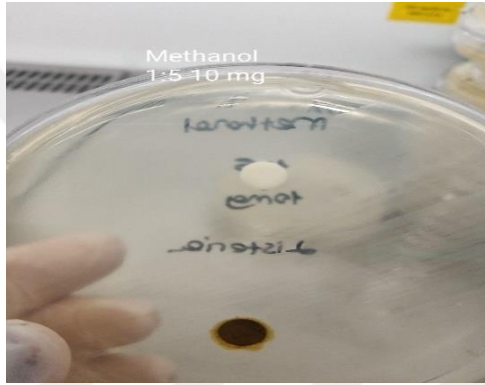
(a)



(b)



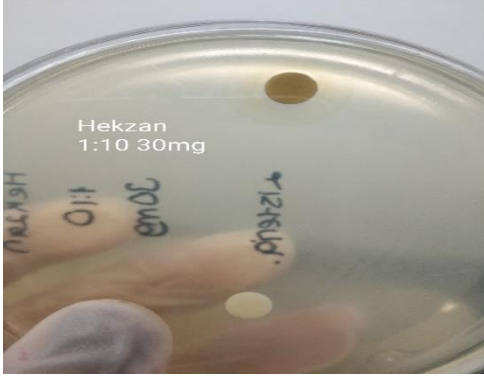
(c)



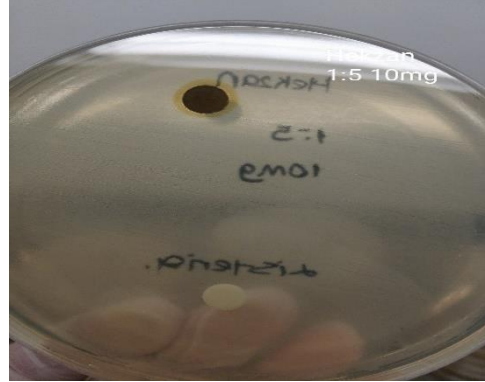
İnhibisyon Zonları: (a) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg metanol ekstraktı. (b) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg metanol ekstraktı. (c) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg metanol ekstraktı.

EK A.16 *Spirulina platensis*'in Hekzan ekstraktlarına ait *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerindeki inhibisyon zonu görselleri

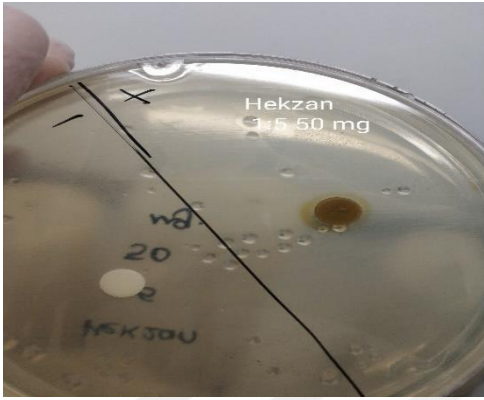
(a)



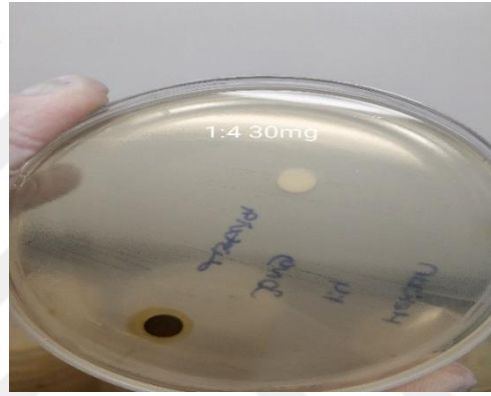
(b)



(c)



(d)



İnhibisyon Zonları: (a) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/10 oranında 30 mg hekzan ekstraktı. (b) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 10 mg hekzan ekstraktı. (c) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/5 oranında 50 mg hekzan ekstraktı. (d) *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerinde 1/4 oranında 30 mg hekzan ekstraktı.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Begüm KURBE

Lisans: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR

[1] B. Kurbe, O.I. Şahin, *Spirulina platensis*'in Gıda Patojenleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması, International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, 16 - 18 Aralık 2020, Ankara, Türkiye.