



TİCARİ OLARAK SATILAN *Spirulina platensis*'İN ÜÇ FARKLI ÇÖZÜCÜ İLE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARININ SEÇİLMİŞ PATOJEN BAKTERİ VE MANTARLARA KARŞI ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Aysel VEYİSOĞLU^{1*}, Abdulğani YEŞİLYER¹, Demet TATAR²

¹Sinop University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, 57000, Sinop, Türkiye

²Hitit University, Osmancık Ömer Derindere Vocational School, Department of Medical Services and Techniques, 19500, Çorum, Türkiye

Özet: *Spirulina* cinsi üyelerinin, diğer birçok siyanobakteri türü gibi çok sayıda antimikrobiyal madde üretme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda, ticari olarak satılan toz formundaki *Spirulina platensis*'in üç farklı çözücü (aseton, heksan, metanol) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının yedi bakteri suşu (*Bacillus cereus* ATCC 10987, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve iki fungus türüne (*Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404) karşı beş farklı konsantrasyonda (30 mg/ml, 15 mg/ml, 6 mg/ml, 3 mg/ml ve 1 mg/ml) disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlarımıza göre, kullanılan çözücüler arasında en iyi sonucu metanolden elde edilen ekstraktın verdiği görülmüştür. Metanolden elde edilen ekstrakt *Bacillus cereus* ATCC 10987, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, heksandan elde edilen ekstrakt *Bacillus cereus* ATCC 10987 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6623 suşlarına karşı aktivite göstermiş, asetondan elde edilen ekstrakt ise sadece *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Metanol, aseton ve heksandan elde edilen ekstraktlar kullanılan funguslara karşı aktivite göstermemiştir.

Anahtar kelimeler: *Spirulina platensis*, Antimikrobiyal aktivite, Ekstrakt, Disk difüzyon


Determination of Antimicrobial Activity of Commercially Sold *Spirulina platensis* Extracts Obtained with Three Different Solvents against Selected Pathogen Bacteria and Fungi


Abstract: Members of the genus *Spirulina*, like many other species of cyanobacteria, are known to have the potential to produce numerous antimicrobial substances. In our study, extracts of the commercial powder form of *Spirulina platensis* were tested using three different solvents (acetone, hexane, methanol) against seven bacterial strains (*Bacillus cereus* ATCC 10987, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and two fungal species (*Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404) at five different concentrations (30 mg/ml, 15 mg/ml, 6 mg/ml, 3 mg/ml and 1 mg/ml) using the disc diffusion method. According to our results, it was observed that the extract obtained from methanol gave the best result among the solvents used. The extract obtained from methanol showed antimicrobial activity against *Bacillus cereus* ATCC 10987, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strains, The extract obtained from hexane showed activity against *Bacillus cereus* ATCC 10987 and *Bacillus subtilis* ATCC 6623 strains, while the extract obtained from acetone showed antimicrobial activity only against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strain. The extracts obtained from methanol, acetone and hexane did not show activity against the fungi used.


Keywords: *Spirulina platensis*, Antimicrobial activity, Extract, Disc diffusion

*Sorumlu yazar (Corresponding author): Sinop University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, 57000, Sinop, Türkiye

E mail: aveyisoglu@sinop.edu.tr (A. VEYİSOĞLU)

Aysel VEYİSOĞLU  <https://orcid.org/0000-0002-1406-5513>

Abdulğani YEŞİLYER  <https://orcid.org/0009-0009-9978-432X>

Demet TATAR  <https://orcid.org/0000-0002-9317-3263>

Gönderi: 14 Ağustos 2024

Kabul: 08 Eylül 2024

Yayınlanma: 15 Eylül 2024

Received: August 14, 2024

Accepted: September 08, 2024

Published: September 15, 2024

Cite as: Veyisoğlu A, Yeşilyer A, Tatar D. 2024. Determination of antimicrobial activity of commercially sold *Spirulina platensis* Extracts obtained with three different solvents against selected pathogen bacteria and fungi. BSJ Eng Sci, 7(5): 1031-1035.

1. Giriş

Artan bakteriyel enfeksiyonlar yüksek oranda ölüme neden olmaktadır (Kandhasamy ve Arunachalam, 2008). Hastalık salgınlarının önlenmesi, hastalığın ilaçlarla tedavi edilmesi veya tedavi edici aktiviteye sahip bileşiklerin seçilmesine yönelik tarama programlarının

uygulanması bu soruna çözüm sunmaktadır. Bir diğer çözüm olarak antimikrobiyal aktiviteye sahip doğal bileşiklerin araştırılması, antibiyotige dirençli mikroorganizmaların enfeksiyon oranındaki artışı nedeniyle dünya çapında son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Doğal bileşiklerin yan etkilerinin sentetik



ilaçlardan daha az olması kimyasal ürünler yerine doğal ürünlere yönelimi artırmaktadır (Muteeb ve ark., 2023). *Spirulina platensis* yenilebilir mavi-yeşil bir algdır. İnsan gıdası ve evcil hayvan yemindeki faydalı rolü nedeniyle *Spirulina*, son yıllarda birçok disiplinde artarak ilgi görmektedir (Abdel-Moneim ve ark., 2022). Tüm esansiyel amino asitleri, esansiyel yağ asitlerini, mineralleri, pigmentleri, karotenoidleri ve vitaminleri içeren yüksek protein seviyelerini içermektedir (Mendiola ve ark., 2007; Abdel-Moneim ve ark., 2022).

Son zamanlarda *Spirulina platensis*, yalnızca beslenme amacıyla değil, aynı zamanda rapor edilen tıbbi özellikleri nedeniyle de geniş çapta araştırılmakta olup, birçok çalışma *Spirulina* veya ekstraktlarının insanlarda ve hayvanlarda kanseri önleyebildiğini veya inhibe edebildiğini göstermiştir (Hirahashi ve ark., 2002; Subhashini ve ark., 2004) ve son yıllarda yapılan çalışmalarda kolesterolün azaltılması ve ağır metallerin nefrotoksitesini, antikanser özelliklerini, radyasyona karşı korumayı ve bağışıklık sistemini güçlendirmeyi içeren terapötik etkilerinin araştırılmasına daha fazla önem verilmiştir (Belay ve ark., 1994; El-baz ve ark., 2013).

Çoğu *Spirulina* türünün, antialgal, antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip hücre içi ve hücre dışı metabolitler ürettiği bilinmektedir (Noaman ve ark., 2004; El-Sheekh ve ark., 2008). *Spirulina* cinsi, sağlıklı gıda, yem ve medikal endüstrilerinde uluslararası bir talebe sahiptir (Becker, 1994). *Spirulina* sp.'nin farmakolojik aktiviteleri antiviral (Hernández-Corona ve ark., 2002), antibakteriyel (Özdemir ve ark., 2004), antiplatelet (Hsiao ve ark., 2005), antikardiyotoksik (Khan ve ark., 2005), hipokolesterolemik (Nagaoka ve ark., 2005), antinefrotoksik (Khan ve ark., 2006) ve antihepatoksik etki sergilediği çeşitli araştırmacılar tarafından daha önce incelenmiştir (Mohan ve ark., 2006).

Çalışmamızda, ticari olarak satılan *Spirulina platensis*'in toz formundan üç farklı çözücü (metanol, aseton ve hekzan) ile ekstrakt elde edilip, ekstraktların yedi bakteri suşu ve iki fungus türüne karşı antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

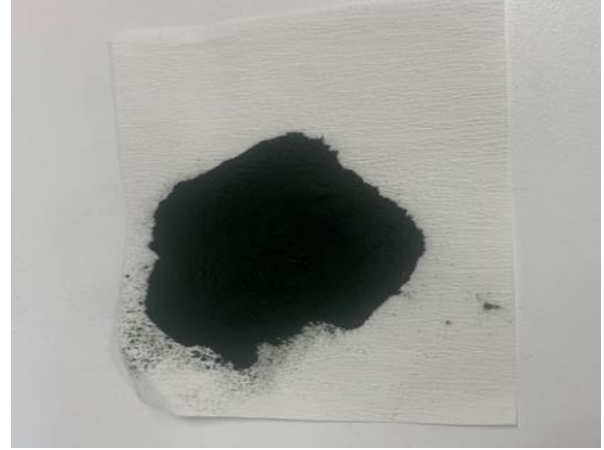
2.1.1. *Spirulina platensis* materyali

Çalışmada kullanılan *Spirulina platensis*'in toz halindeki formu ticari olarak yerel firmadan satın alınmıştır (Şekil 1) Toz numune çalışma yapılıncaya kadar oda sıcaklığında serin ve kuru ortamda muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Bakteriyel suşlar

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılan patojen mikroorganizmalar Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (ATCC) temin edilmiştir. Gram-pozitif bakterilerden dört suş *Bacillus cereus* ATCC 10987, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Gram negatif

bakterilerden üç suş *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, funguslardan ise iki suş *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Aspergillus niger* ATCC 16404 olmak üzere dokuz patojen antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılmıştır.



Şekil 1. *Spirulina platensis*'in toz formu.

2.2. Yöntem

2.2.1. Ekstraktların hazırlanması

Ticari olarak satın alınmış *S. platensis*'in toz formundan 40 g alındı ve 200 ml solvent (metanol, aseton ve hekzan) ile karışması için çalkalamalı inkübatörde 180 rpm'de bir gece bekletildi. Hassanin ve ark. (2020)'nin önerdiği yöntem modifiye edilerek ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraktlar, döner vakumlu evaporatör kullanılarak azaltılmış basınçla kuruyana kadar buharlaştırıldı ve elde edilen macun kıvamındaki ekstraktlar %25'lik dimetil sülfoksit (DMSO) ile seyreltilerek antimikrobiyal aktivite çalışmasına uygun hale getirildi (Hassanin ve ark., 2020, Saad ve ark., 2020).

2.2.2. In vitro antimikrobiyal aktivitenin saptanması Disk difüzyon metodu

S. platensis'in antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (Collins ve ark., 1989; Bradshaw, 1992). Bakteri kültürlerini aktifleştirmek için Muller Hinton Agar (MHA) ve funguslar için Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Difco) kullanıldı ve çalışmadan önce mikroorganizmalar, bakteriler için Muller Hinton Broth'a (MHB) ve funguslar (Difco) için Sabouraud Dextrose Broth'a (SDB) aktarılmış ve gece boyunca 37 °C'de (fungus için 28 °C) gelişmeye bırakılmıştır. Test suşlarının hazırlanan süspansiyonlarının bulanıklığı 0.5 McFarland'a eşdeğer ($1,5 \times 10^8$ kob/ml) ayarlanmıştır ve agar plakasının yüzeyine 100 µl steril eküvyonlarla patojen mikroorganizmalar yayılmıştır ve beş dakika Laminar Flow'da kuruması için bekletilmiştir. Çözücüler (metanol, aseton ve hekzan) kullanılarak elde edilen *Spirulina platensis* ekstraktları (30 mg/ml, 15 mg/ml, 6 mg/ml, 3 mg/ml ve 1 mg/ml), 1 ml %25 dimetil sülfoksit (DMSO) ile karıştırılmıştır. Filtre kağıdı diskleri (6

mm)'ne ekstraktlar (30 mg/ml, 15 mg/ml, 6 mg/ml, 3 mg/ml ve 1 mg/ml) antimikrobiyal aktivitelerini kontrol etmek için 25 µl emdirilmiştir ve Laminar Flow'da kuruması için beş dakika bekletilmiştir. Kuruduktan sonra bakteri bulunan petriyer gece boyunca 37 °C'de, fungus ekimi yapılan petriyer 28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kör kontrol olarak %25 DMSO, pozitif kontrol için Amfisilin (AM10), Polimiksin B (PB300) ve funguslar için Nistatin (NS100) kullanılmıştır. İnhibisyon bölgesi gözlemlenmiş ve milimetre (mm) cinsinden ölçülmüştür. Çalışma üç kez tekrarlanmış ve elde edilen sonuçların ortalamaları alınmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Spirulina, terapötik özellikleri ve biyoaktif bileşiklerin varlığı nedeniyle son yıllarda ilgi odağı olmuştur (Belay ve ark., 1994). Bitkilerde antimikrobiyal bileşiklerin varlığı bilimsel çalışmalarla gösterilmiştir ve bu bileşiklerin biyolojik sistemlerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. *Spirulina* ile beslenen hiperkolesteremik hastalarda kolesterol seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir ve *Spirulina platensis*'ten çıkarılan fikobiliproteinlerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu çalışmalarla belirlenmiştir (Usharani ve ark., 2015).

Metanol, aseton ve hekzan çözücüleri daha önce yapılan çok sayıda çalışmada kullanılmış olup etkili oldukları tespit edilmiştir (Gümüş ve ark.,2018).

S. platensis'in toz formunun üç farklı çözücü kullanılarak hazırlanan ekstraktların disk difüzyon metodu ile belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde en iyi antimikrobiyal aktiviteyi metanolden elde edilen ekstrakt göstermiştir. Metanolden elde edilen ekstrakt kullanılan yedi bakteriden beşine (*B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*) karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Asetondan elde edilen ekstrakt sadece *P. aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyel etki gösterirken hekzandan elde edilen

ekstrakt *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterisine karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Üç farklı çözücü ile elde edilen ekstraktlardan hiçbirinin *A. niger* ve *C. albicans* funguslarına karşı antifungal aktivite göstermediği görülmüştür.

İnhibisyon zon çapları değerlendirildiğinde *S. platensis* ekstraktlarının bakterilere karşı inhibisyon zonu 30 mg/ml'de 12 mm ile 10 mm arasında değişmiştir. Metanol ekstraktının 15 mg/ml'de inhibisyon zonu oluşturduğu (*S. aureus* ve *E. faecalis* hariç) ancak daha düşük konsantrasyonlarda etki oluşturmadığı görülmüştür. Asetondan elde edilen ekstrakt yalnızca *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde (1 mg/ml hariç) antibakteriyel etki göstermiş ve 30 mg/ml'de 10 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Hekzandan elde edilen ekstrakt ise *B. cereus* (30 ve 15 mg/ml için) ve *B. subtilis* (30, 15 ve 6 mg/ml için) bakterilerine karşı antibakteriyel etki göstermiş, inhibisyon zon çapı *B. cereus*'a 15 mg/ml'de 9 mm iken *B. subtilis*'e 6 mg/ml'de 9 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 2).

Kullanılan standart antibiyotiklerle karşılaştırıldığında metanolden elde edilen ekstrakt 30 mg/ml konsantrasyonda amfisilin standardından düşük, polimiksin B standardından ise daha iyi antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Hekzan ve asetondan elde edilen ekstraktlar ise polimiksin B ile eşit antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Usharani ve ark. (2015) yaptığı çalışmada *S.platensis*'in beş farklı çözücü ile (metanol, aseton, etanol, hekzan ve petrol eteri) hazırladıkları ekstraktlarının on bir bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Shigella flexneri*) ve altı fungusa (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata*) karşı antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu ile belirlemiştir.

Tablo 1. Metanol, aseton ve hekzan çözücüleriyle hazırlanan *Spirulina platensis* ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	<i>Spirulina platensis</i> ekstraktlarının (mg/ml) konsantrasyonları ve ortalama inhibisyon zonları (mm)															Pozitif kontrol							
	Metanol					Aseton					Hekzan					Amfisilin (AM10)	Polimiksin B (PB300)	Nistatin (NS100)	% 25 DMSO				
<i>Bacillus cereus</i>	12	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	9	-	-	-	30	10	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	12	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	9	9	-	-	30	10	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	10	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	10	-	-
<i>Escherichia coli</i>	12	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	15	-	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	20	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	10	-	-	-	10	10	10	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	15	-	-	
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	-

NK= negative kontrol



Şekil 2. Metanol ve hekzan çözücülerıyla *Spirulina*'dan elde edilen ekstraktların *Bacillus* cinsi üyelerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları.

Beş farklı çözücü ile hazırlanan ekstraktlar değerlendirmede kullanılan on bir bakteri ve altı fungusu karşı iyi antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Rania ve ark. (2008), *S. platensis* üst sıvısını, metanol ve hekzan ekstraktlarını dört fungus türüne karşı (*Candida kefyr*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus fumigatus*) değerlendirmişler ve hekzan ekstraktının fungusların gelişimini engellemediği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da metanol, aseton ve hekzan ekstraktları *A. niger* ve *C. albicans* funguslarının gelişimini engellemiştir. El-Baz ve ark. (2013)'nin yaptığı bir çalışmada *S. platensis*'in etanol ekstraktlarının antibakteriyel ve antiviral etkisi test edilmiş ve *S. platensis*'in etanol ekstraktlarının farklı bakteri suşlarına (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* ve *Enterococcus faecalis*) karşı antibakteriyel etkisini göstermek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *Escherichia coli* ve *Salmonella typhi* (*Enterobacteriaceae* familyasından Gram negatif bakteriler) ve *Staphylococcus aureus* (*Micrococcaceae* familyasından Gram pozitif bakteri) ile inhibisyon bölgeleri oluşturmasına rağmen *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*'a karşı belirgin inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu gözlemlenmiştir.

4. Sonuç

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile diğer araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar (Elnabris ve ark., 2013; Ramalingam ve Amutha, 2013; Gümüş ve Ünlüsayın, 2016) arasındaki farklılığın nedenleri arasında ekstraktın elde edilme yöntemi, ekstraktın kimyasal içeriğindeki bileşenler, çözücü çeşitliliği, kullanılan patojen mikroorganizma türünün veya aynı türün farklı suşlarının kullanılması gibi olası sebeplerden dolayı *Spirulina* özütleri farklı antibakteriyel ve antifungal aktivite sergileyebilmektedir. Çalışmamızda kullanılan ekstraktların, pozitif kontrol olarak kullandığımız amfisilin antibiyotiklerinden düşük, polimiksin B antibiyotiklerinden daha iyi, eşit veya düşük aktivite göstermesi diğer çalışmalarda ifade edildiği gibi özütlerin aktivitesinin ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan doz artışına bağlı olarak değişebileceğinden, *Spirulina* ekstraktlarının antibiyotiklere ve geleneksel kimyasal ilaçlara alternatif olarak kullanılabilmesini umut ediyoruz.

Katkı Oranı Beyanı

Yazar(lar)ın katkı yüzdesi aşağıda verilmiştir. Tüm yazarlar makaleyi incelemiş ve onaylamıştır.

	A.V.	A.Y.	D.T.
K	50	10	40
T	60	20	20
Y	60	20	20
VAY	50		50
KT	30	40	30
YZ	70		30
KI	50		50
GR	70		30
PY	80	20	
FA	80	10	10

K= kavram, T= tasarım, Y= yönetim, VAY= veri analizi ve/veya yorumlama, KT= kaynak tarama, YZ= Yazım, KI= kritik inceleme, GR= gönderim ve revizyon, PY= proje yönetimi, FA= fon alımı.

Çatışma Beyanı

Yazarlar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedirler.

Etik Onay Beyanı

Bu araştırmada hayvanlar ve insanlar üzerinde herhangi bir çalışma yapılmadığı için etik kurul onayı alınmamıştır.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A proje kapsamında desteklenmiş olup, TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abdel-Moneim AE, El-Saadony MT, Shehata AM, Saad AM, Aldhumri SA, Ouda SM, Mesalam NM. 2022. Antioxidant and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi J Biol Sci*, 29(2): 1197-1209.
- Becker EW. 1994. *Microalgae, biotechnology and microbiology*. Cambridge, Cambridge University Press; New York, US, pp: 291.
- Belay A, Ota Y, Miyakawa K, Shimamatsu H. 1994. Production of high quality *Spirulina* at Earthrise Farms. In: Phang et al., eds. *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*. University of Malaya, Kuala Lumpur, Malezya, pp: 92-102.

- Bradshaw LJ. 1992. Laboratory of microbiology. Saunders College Publishing, Saunders, US, pp: 435.
- Collins CM, Lyne PM, Grange JM. 1989. Microbiological methods. Butterworths, London, UK, pp: 410.
- El-Baz FK, El-Senousy WM, El-Sayed AB, Kamel MM. 2013. In vitro antiviral and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extract. *J Appl Pharm Sci*, 3(12): 52-56.
- Elnabris KJ, Elmanama AA, Chihadeh WN. 2013. Antibacterial activity of four marine seaweeds collected from the coast of Gaza Strip, Palestine. *Mesopotamian J Marine Sci*, 28(1): 81-92.
- El-Sheekh MM, Dawah AM, Abd El-Rahman AM, El-Adel HM, Abd El-Hay RA. 2008. Antimicrobial activity of the cyanobacteria *Anabaena wisconsinense* and *Oscillatoria curviceps* against pathogens of fish in aquaculture. *Annals Microbiolh*, 58: 527- 534.
- Gümüş B, Ünlüsayın M. 2016. Tüketilebilir iki makroalg ekstraktının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Ege Üniv Su Ürün Derg*, 33(4): 389-395.
- Gümüş B, Ünlüsayın M, Gümüş E. 2018. A review on antimicrobial properties of marine macroalgae extracts. *Ege J Fish Aquat Sci*. 35(3): 343-351.
- Hassanin AA, Saad AM, Bardisi EA, Salama A, Sitohy MZ. 2020. Transfer of anthocyanin accumulating *delila* and *rosea1* genes from the transgenic tomato micro-tom cultivar to antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African J Biotech*, 7(12): 1958-1961.
- Hernández-Corona A, Nieves I, Meckes M, Chamorro G, Barron BL. 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against *Herpes simplex* virus type 2. *Antiviral Research*, 56(3):279-285.
- Hirahashi T, Matsumoto M, Hazeki K, Saeki Y, Ui M, Seya T. 2002. 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(4):423-434.
- Hsiao G, Chou PH, Shen MY, Chou DS, Lin CH, Sheu JR. 2005. C-phycocyanin, a very potent and novel platelet aggregation inhibitor from *Spirulina platensis*. *J Agric Food Chem*, 53:7734-7740.
- Kandasamy M, Arunachalam KD. 2008. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African J Biotech*, 7(12):1958-1961.
- Khan M, Shobha JC, Mohan IK, Naidu MUR, Sundaram C, Singh S, Kuppasamy P, Kutala VK. 2005. Protective effect of *Spirulina* against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytother Res*, 19(12): 1030-1037.
- Khan M, Shobha JC, Mohan IK, Naidu MUR, Prayag A, Kutala VK. 2006. *Spirulina* attenuates cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol*, 26: 444-451.
- Mendiola JA, Jaime L, Santoyo S, Reglero G, Cifuentes A, Ibañez E, Señoráns FJ. 2007. Screening of Functional Compounds in Supercritical Fluid Extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chem*, 102(4): 1357-1367.
- Mohan IK, Khan M, Shobha JC, Naidu MUR, Prayag A, Kuppasamy P, Kutala VK. 2006. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by *Spirulina* in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*, 58: 802-808.
- Muteeb G, Rehman MT, Shahwan M, Aatif M. 2023. Origin of antibiotics and antibiotic resistance, and their impacts on drug development: A narrative review. *Pharmaceuticals*, 16(11): 1615.
- Nagaoka S, Shimizu K, Kaneko H, Shibayama F, Morikawa K, Kanamaru Y, Otsuka A, Hirahashi T, Kato T. 2005. A novel protein C-phycocyanin plays a crucial role in the Hypocholesterolemic action of *Spirulina platensis* concentrate in rats. *J Nutr*, 135: 2425-2430.
- Noaman NH, Khaleafa AM, Zaky SH. 2004. Factors affecting antimicrobial activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Microbiol Res*, 159: 395-402.
- Ozdemir G, Karabay NU, Dalay MC, Pazarbasi B. 2004. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Res*, 18: 754-757.
- Ramalingam A, Amutha C. 2013. Antibacterial activity of four seaweed collected from Thondi Coast, Tamilnadu, India. *Int J Res Biol Sci*, 3(1): 60-64.
- Rania M, Abedin A, Taha HM. 2008. Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. evaluation of medium components by placket-burman design for antimicrobial activity of *spirulina platensis*. *Global J Biotechnol Biochem*, 3(1): 22-31.
- Saad AM, Mohamed AS, Ramadan MF. 2020. Storage and heat processing affect flavors of cucumber juice enriched with plant extracts. *Int J Veg Sci*, 2020: 1-11.
- Subhashini J, Mahipal SV, Reddy M, Mallikarjuna Redd M, Rachamalla A, Reddanna P. 2004. Molecular mechanisms in C-phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Biochemical Pharmacol*, 68(3): 453-462.
- Usharani G, Srinivasan G, Sivasakthi S, Saranraj P. 2015. Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* solvent extracts against pathogenic bacteria and fungi. *Biol Res*, 9: 292-298.