

Antarktik Mikroalg Ekstrelerinin Antioksidan Potansiyeli, Fenolik İçeriği ve Antimikrobiyal Etkileri

Antioxidant Potential, Phenolic Content, and Antimicrobial Effects of Antarctic Microalgal Extracts

Özet

Amaç: Son yıllarda, kontrolsüz ilaç tüketimi nedeniyle artan patojen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç göstermesi önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda, mikroalglerin bu sorunun çözümü için büyük bir potansiyele sahip bir seçenek olduğu görülmüştür. Özellikle ekstrem koşullarda büyüeyebilen mikroalglerin, içerdiği farklı biyoaktif bileşenler sayesinde antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra antikanser, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler gösterebildiği belirlenmiştir. Bu çalışmada, Antarktika'nın Horseshoe Adası, Skua Gölü'nden izole edilen *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 türü üzerine odaklanılmış ve bu türün antimikrobiyal potansiyeli ilk kez kapsamlı olarak değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, farklı çözücüler (etanol, metanol, DMSO ve su) kullanılarak hazırlanan ekstrelerin hem antibakteriyel hem de antifungal etkileri sistematik olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmanın sonuçları, Antarktik mikroalg ekstrelerinin *Bacillus cereus* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı en yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymuştur.

Sonuç: Çalışmanın sonucunda, elde edilen ekstrelerin kozmetik ve farmasötik gibi endüstrilerde antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antarktika, mikroalgler, *Chlorella variabilis*, antibakteriyel aktivite, antifungal aktivite.

Abstract

Aim: In recent years, due to uncontrolled drug consumption, increasing pathogenic microorganisms' resistance to antimicrobial agents has become an important problem. In this context, studies have shown that microalgae have great potential as an option for solving this problem. It has been determined that microalgae, which can grow especially under extreme conditions, can exhibit antimicrobial properties as well as anticancer, antioxidant and anti-inflammatory properties thanks to the different bioactive components they contain. Therefore, this study focused on the *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 strain isolated from Skua Lake on Horseshoe Island, Antarctica, and comprehensively evaluated its antimicrobial potential for the first time.

Materials and methods: Extracts prepared using different solvents (ethanol, methanol, DMSO, and water) were systematically analyzed for both antibacterial and antifungal effects.

Results: The results revealed that Antarctic microalgal extracts exhibited the highest antibacterial and antifungal activity against *Bacillus cereus* and *Botrytis cinerea*, respectively.

Conclusion: The findings suggest that these extracts could be utilized as antimicrobial agents in industries such as cosmetics and pharmaceuticals

Keywords: Antarctica, microalgae, *Chlorella variabilis*, antibacterial activity, antifungal activity.

2025, 1(1) 9-20

Anıl Tefvik KOÇER^{1,2,*}

ATK: 0000-0003-1519-1711

Benan İNAN²

Bi: 0000-0002-2315-3099

Meyrem ERTÜRK²

ME: 0000-0001-8235-3552

Gülcan Aysin KARACA²

GAK: 0000-0003-3905-851X

Beyza KARACAOĞLU²

BK: 0000-0001-7666-1911

Didem BALKANLI²

DB: 0000-0003-2483-7617

¹ Sağlık Biyoteknolojisi Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi, Esenler-İstanbul, Türkiye

² Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Esenler-İstanbul, Türkiye

Received/Geliş Tarihi:

05.03.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

16.04.2025

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma, T.C. Cumhurbaşkanlığı himayelerinde, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiş ve TÜBİTAK MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü tarafından koordine edilmiştir. Örneklerin toplanması ve değerli destekleri için TAE III (3. Türk Antarktik Seferi) kapsamında yer alan tüm araştırmacılara teşekkür ederiz.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Anıl Tefvik KOÇER

E-posta: tevfik.kocer@yildiz.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License





1. Giriş

Son yıllarda, patojenik bakteri ve mantarların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmelerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir [1]. Bu nedenle, bilim insanları patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için yeni yaklaşımlar önermektedir. Bu yaklaşımlardan en önemlilerinden biri mikroalg ekstrelerinin kullanımıdır. Mikroalgler, üstün adaptasyon yetenekleri sayesinde ekstrem koşullara uyum sağlayabilen üçüncü nesil biyokütle kaynağıdır ve birçok farklı alanda kullanılabilmektedir [2]. Mikroalgler, çevresel stres koşullarına karşı hücre yapılarını koruyabilmek için çok çeşitli değerli biyoaktif sekonder metabolitler sentezler [3, 4]. Özellikle kutup bölgelerinde hayatta kalabilen mikroalgler, biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengin hale gelmektedir [5, 6]. Bu biyoaktif bileşikler, antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyel, anti-inflamatuar ve enzim inhibisyonu (örneğin, asetilkolinesteraz, tirozinaz, alfa-amilaz, lipaz ve HMG-CoA redüktaz) gibi özellikleri sayesinde kozmetik ve farmasötik endüstrisinde değerlendirilmektedir [7].

Mikroalglerin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ilgi çekici bir konudur. Bu bağlamda, mikroalglere ait ilk antibakteriyel bileşen olan chlorellin, Pratt ve ark. [8] tarafından *Chlorella* türü mikroalglardan izole edilmiş ve bu bileşenin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Navarro ve ark. [9] asidofilik mikroalglerin hekzan, dietil eter, klorofom ve diklorometan gibi solventlerle ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin insan patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Vehapi ve ark. [10] farklı besin takviyelerinde yetiştirilen mikroalglerin antifungal aktivitelerini incelerken, Fabregas ve ark. [11] deniz mikroalg ekstrelerinin viral hemorajik septisemi virüsü ve Afrika domuz ateşi virüsüne karşı antiviral etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmalara ek olarak, Ghasemi ve ark. [12], Saantoyo ve ark. [13], Schuelter ve ark. [14], ve Bhagavathy ve ark. [15] mikroalg ekstrelerinin çeşitli mikrobiyal patojenlere karşı antimikrobiyal etkilerini incelemiştir.

Bu çalışmanın amacı, Antarktika bölgesinden izole edilen mikroalglerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasıdır. Antarktika, dünyanın en zorlu ortamlarından biri olmasına karşın, zengin bir mikroalg florasına sahiptir [16]. Literatürde kutup bölgelerinden izole edilen mikroalgler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmaların genellikle tür izolasyonu ile sınırlı olduğu ve mikroalgler üzerindeki sınırlı sayıda parametrenin etkisini incelediği görülmektedir. Bu çalışmada, Türkiye Ulusal Antarktik Bilim Seferi kapsamında Antarktika'dan elde edilen örneklerden izole edilen *Chlorella variabilis* mikroalg türü farklı

çözücülerle ekstre edilmiş ve ardından bu ekstrelerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır.

2. Gereç ve Yöntemler

2.1 Mikroalglerin Yetiştirilmesi ve Ekstraksiyonu

Ekibimiz tarafından izole edilip adlandırılan *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg, BG-11 besiyeri kullanılarak Erlenmeyer flasklarında kültüre edilmiştir. Mikroalgler, 25°C ± 1°C sıcaklıkta, sürekli karıştırma ile 24 saat ışık maruziyeti altında iki hafta boyunca çalkalamalı inkübatörde yetiştirilmiştir. Daha sonra mikroalgler, 5000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilerek hasat edilmiş ve 60°C'de, gece boyunca etüvde kurutulmuştur. 1 gram kuru mikroalg ve 10 ml çözücü (etanol, metanol, DMSO ve su) kullanılarak 80°C'de su banyosunda ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler, antimikrobiyal analizler için hava geçirmeyen kehribar renkli şişelerde saklanmıştır.

2.2 Mikroalgal Ekstrelerin Karakterizasyonu

2.2.1 Yağ Asidi Profilinin Belirlenmesi

Chlorella variabilis YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg türünün yağ asidi profili, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) analizi ile belirlenmiştir. Analizler, Restek (Bellefonte, ABD) Rtx-5MS erimiş silika kapiler kolon (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40°C'de 3 dakika tutulmuş, ardından sıcaklık 8°C/dak hızında kademeli olarak 100°C'ye, 5°C/dak hızla 200°C'ye ve son olarak 10°C/dak hızla 250°C'ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 10 dakika bekletilmiştir. Enjeksiyon bloğu ve dedektör sıcaklığı 250°C olarak ayarlanmış, taşıyıcı gaz olarak helyum (1 mL/dak akış hızıyla) kullanılmıştır. Tüm numuneler dietil eter içinde 1:100 oranında seyreltilmiş olup, her birinden 3 µL hacminde numune 1/50 bölünme oranıyla GC-MS sistemine enjekte edilmiştir. Kütle taraması, 35-650 m/z aralığında gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşiklerin tanımlanması, toplam iyon kromatogramları (TIC) üzerinden ticari kütle spektrum kütüphaneleri (NIST27 ve WILEY7) ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Bileşiklerin kantitatif analizi, TIC piklerinin bağlı alan yüzdesi temel alınarak gerçekleştirilmiştir [17].

2.2.2 Antioksidan Aktivite Analizi

Mikroalg ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [18]. Deneyde, 1'er mL mikroalg ekstreleri ile 3 mL 0,1 mM DPPH çö-

zeltisi (metanol içinde hazırlanmış) karıştırılmıştır. Karışım, karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika ve 60 dakika bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Reaksiyon karışımındaki absorban azalması, yüksek serbest radikal giderme aktivitesini göstermektedir. DPPH radikal süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır: (1)

$$DPPH \text{ radikal giderme aktivitesi (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

Burada, A_0 kontrol örneğinin (sadece DPPH çözeltisi içeren) absorban değeri, A_1 ise belirli bir konsantrasyonda mikroalg ekstresi veya standart antioksidan (BHT-1000) içeren numunenin absorban değeridir.

2.2.3 Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstrelerin toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi [19] kullanılarak analiz edilmiştir. Bunun için her ekstreten (etanolik, metanolik, DMSO'lu ve sulu) 200 µL test tüplerine alınmıştır. Ardından, tüplere 1 mL 1:10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir ve 4 dk inkübe edilmiştir. Ardından karışıma 800 µL doygun sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) ilave edilmiştir. 2 saat oda sıcaklığında inkübasyonun ardından, numunelerin absorban değerleri 765 nm'de ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisi elde etmek için farklı gallik asit konsantrasyonları (0 - 500 mg/L) hazırlanmış olup, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstre olarak ifade edilmiştir [20].

2.3 Antibakteriyel Aktivite Analizi

Antarktik mikroalg ekstresinin agar disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesini belirlemek amacıyla, patojen bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 35150, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanılmıştır. Agar disk difüzyon yöntemi, patojen mikroorganizmaların *in vitro* duyarlılık testlerinde kullanılan bir yöntemdir. Bu analiz için 6 mm çapındaki antimikrobiyal diskler, farklı konsantrasyonlardaki 40 µL hacmindeki mikroalg ekstresiyle emdirilerek agar plaklarının üzerine yerleştirilmiştir. Ekstre, diskin içinden agar ortamına difüze olmuştur. Plaklar, standart bir bakteri süspansiyonu ile ekilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda, mikroalg ekstreleriyle muamele edilmiş antimikrobiyal disklerin etrafında oluşan büyüme inhibisyon zonları ölçülmüştür [10].

2.4 Antifungal Aktivite Analizi

Antarktika mikroalglerinin *Colletotrichum gloeosporioides*,

Botrytis cinerea, *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* türlerine karşı antifungal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Fungal mikroorganizmalar için steril PDA besiyeri içeren (20 mL/plak) petri kapları hazırlanmış ve önceki kültürlerden (7 günlük) alınan 6 mm çapındaki agar diskleri ile ekim yapılmıştır. Mikroalg ekstreleri, test disklerine 40 µL emdirilerek agar plaklarının üzerine yerleştirilmiştir. Plaklar, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Negatif kontroller, ekstraksiyon için kullanılan çözücüye uygun şekilde hazırlanmıştır. Fungal büyüme sırasıyla 3., 4., 5. ve 6. günlerde kaydedilmiştir [21].

2.5 İstatistiksel Analiz

Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. *In vitro* testler, her bir bakteri ve mantar türü için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler, JMP 6.0.0 (SAS Institute, Cary, NC, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup, gruplar arasındaki farkların anlamlılığı Student's t-testi ile belirlenmiştir ($p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 Mikroalgin Yağ Asidi Profili

Mikroalgin GC-MS analizi sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir. Bu tabloya göre mikroalg ekstresinde birçok yağ asidi metil esterleri tespit edilmiştir. Bunlar arasında, metil heptadekanoat (%11,33) ve metil oleat (%4,34) en yüksek yüzdelere sahip bileşiklerdir. Metil oleat (oleik asit metil ester), biyodizel üretiminde yaygın olarak kullanılan ve biyolojik aktivitesiyle bilinen bir bileşiktir. Linoleik asit metil ester (9,12-Oktadekadienoik asit, metil ester) gibi doymamış yağ asitleri, antioksidan özellikleri nedeniyle farmasötik ve kozmetik sektörlerinde ilgi çekmektedir. Bunun yanı sıra, analizde tespit edilen metil palmitat (heksadekanoik asit, metil ester) ve metil stearat (oktadekanoik asit, metil ester) gibi doymuş yağ asidi esterleri, biyoyakıt ve biyoaktif madde üretimi açısından önem taşımaktadır. Bu bileşikler, yağ bazlı biyomalzemeler ve yüzey aktif maddeler gibi endüstriyel uygulamalarda da kullanılabilir. Bu sonuçlar, *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 türünün içerdiği biyoaktif yağ asitlerinin farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde biyoteknolojik uygulamalar açısından değerlendirilebileceğini göstermektedir.

3.2. Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları

Chlorella variabilis YTU.ANTARCTIC.001 mikroalginin farklı çözücülerle ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivite analizi sonuçları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Tablo 1 9:1 metanol/yağ molar oranı ve ağırlıkça %1,5 KOH koşulları altında üretilen *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 yağ asidi metil esteri örneğinin GC-MS sonuçları

Zaman (dak)	Bileşik Adı	Alan %	Yükseklik %	CAS Adı
3,9	Metilsikloheksan	1,9	5,1	Sikloheksan, metil-
33,3	Metil palmitat	0,4	0,8	Hekzadekanoik asit, metil ester
35,8	Metil heptadekanoat	11,3	15,7	Heptadekanoik asit, metil ester
37,9	Linoleik asit metil ester	0,5	0,8	9,12-Oktadekanoik asit (Z,Z)-, metil ester
38,1	Metil oleat	4,3	7,3	9,12-Oktadekanoik asit (Z,Z)-, metil ester
38,8	Metil stearat	0,2	0,3	Oktadekanoik asit, metil ester

rılmıştır. Elde edilen verilere göre, BHT-1000 standardı her iki zaman noktasında da en yüksek radikal süpürme aktivitesini göstermiştir (%60-80). Mikroalg ekstreleri arasında ise en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan ekstrenin etanol ekstresi (EE - %37) olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla etanol (ME - %35) ve DMSO (DE - %30) ekstreleri takip etmiştir. Su ekstresi (WE - %21), test edilen diğer çözücülere kıyasla en düşük antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. Doğal kaynaklar arasında, ekstrem habitatlardan izole edilen mikroalgler, çevresel strese karşı hayatta kalma mekanizması olarak sekonder metabolitler üretmektedir. Çeşitli çalışmalar, bu biyoaktif bileşiklerin aynı zamanda antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir [16, 22]. Özellikle *Chlorella* türlerinin antioksidan özellikleri üzerine yapılan önceki araştırmalar, bu mikroalglerin yüksek oranda fenolik ve flavonoid bileşikler içerdiğini ve bu bileşiklerin serbest radikalleri etkili bir şekilde süpürebildiğini göstermektedir. Örneğin, Goiris ve ark. [23] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı mikroalg türlerinin antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmış ve özellikle *Chlorella vulgaris* türünün yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma, polifenoller ve karotenoidlerin mikroalg ekstrelerinin antioksidan aktivitesinde önemli rol oynadığını vurgulamaktadır. Benzer şekilde, Vijayavel ve ark. [24] tarafından yapılan bir çalışmada, *Chlorella vulgaris*'in alkolik ekstreleri strese bırakılmış sıçanlara oral yolla verilmiş ve antioksidan etkileri incelenmiştir. Yapılan deneyler sonu-

cunda *Chlorella vulgaris* ekstresi verilen sıçanların lipid peroksidasyon aktivitesinde belirgin bir azalma ($p < 0,001$) ve hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidan aktivitelerinde, kontrol değerlerine yakın bir artış görülmüştür. Anı Azaman ve ark., *C. zofingien-sis* and *C. sorokiniana* mikroalg türlerinin etanolik ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme yüzdelere %11,5 - 14 arasında hesaplamışlarken; Gürlek ve ark. [25] *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* alglerinin metanolik ekstraktları için bu değeri yaklaşık %90 olarak raporlamışlardır.

Antioksidan aktivitenin zamanla artış göstermesi, mikroalg ekstrelerindeki aktif bileşenlerin serbest radikalleri gidermek için zamana bağlı bir kinetik süreç izleyebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çözücü polaritesinin ekstrelerindeki biyoaktif bileşiklerin çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmektedir. Fenolik ve flavonoid bileşiklerin genellikle polarlıktan etkilendiği göz önüne alındığında, metanol ve etanol gibi çözücülerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermesi, bu çözücülerde daha fazla biyoaktif bileşiğin ekstre edilebildiğini göstermektedir. Bu bulgular, mikroalglerden elde edilen ekstrelerin antioksidan potansiyelinin farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle metanol ve etanol bazlı ekstrelerin, serbest radikallere karşı yüksek etkinlik göstermesi, bu ekstrelerin doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

3.3. Toplam Fenolik İçerik Analizi Sonuçları

Toplam fenolik içerik analizi sonucunda etanol, metanol, DMSO ve su ekstraktları için sırasıyla 107, 102, 90 ve 82 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler, literatürde bildirilen *Chlorella* türleri ile kıyaslandığında rekabetçi seviyede olup, özellikle polar çözücülerle ekstraksiyonun fenolik bileşik verimini artırdığı gözlemlenmiştir. Yüksek fenolik içeriğin, mikroalgin ekstrem çevresel koşullara uyum sağlama yeteneğiyle de ilişkili olabileceği ve bu türlerin biyoaktif bileşik üretimi açısından zengin bir kaynak sunduğu düşünülmektedir.

Literatürde bildirilen farklı *Chlorella* türleri ile kıyaslandığında, elde edilen değerlerin yüksek olduğu ve özellikle etanol ve metanol bazlı ekstraktların daha zengin fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ani Azaman ve ark. [26], farklı *Chlorella* türlerinin toplam fenolik içeriği değerlerinin yetiştirme koşullarına göre 10 - 80 mg GAE/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Goiris ve ark. [23] farklı *Chlorella vulgaris* suşlarının toplam fenolik içeriklerini 0,75 - 2,21 mg GAE/g kuru mikroalg arasında değiştiğini raporlamışlardır. Ali ve ark. [27] etanolik *Chlorella* spp. ekstraktlarının toplam fenol içeriğini 39,1 mg GAE/g kuru mikroalg olarak bildirmişken; Gürlek ve ark. [25] *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima*'nın metanolik ekstraktları için bu değerleri sırasıyla yaklaşık 75 ve 175 GAE/g kuru mikroalg olarak bildirmişlerdir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında, *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 Antarktik mikroalg türünün gıda ve farmasötik alanlarında değerlendirilme potansiyeline sahip olduğu öne sürülebilir.

3.4. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Farklı *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg ekstrelerinin çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları Tablo 2'de verilmiştir. Genel olarak, etanol ve metanol ekstraktları, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde en yüksek inhibisyon etkisini gösterirken; su ekstraktlarının bakteriler üzerinde etkisinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada en düşük inhibisyon zonu, 8,2 mm ile su ekstraktının *S. typhimurium* üzerindeki etkisinde ölçülürken; en yüksek inhibisyon zonu ise, 12,7 mm ile *B. cereus* üzerinde DMSO ekstraktlarıyla elde edilmiştir. En hassas bakterinin *B. cereus* olduğu görülürken, *S. aureus* ve *E. coli* suşlarının daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde bildirilen bazı çalışmalara göre, *Bacillus cereus*'un optimal büyüme sıcaklığı 30-37°C arasında değişmektedir [28]. Bu nedenle, *Bacillus cereus*'un bu çalışmada kullanılan en hassas bakteri türü olması muhtemeldir. *B. cereus* ve *P. aeruginosa*, 12,0 mm'den büyük inhibisyon zonları ile en duyarlı patojenlerken; *E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* türleri, 11 mm'den küçük inhibisyon zonları ile en az duyarlı patojenler olarak belirlenmiştir.

Algler; poliskaritler, tanenler, flavonoidler, fenolik asitler ve karotenoidler gibi antimikrobiyal aktivite gösteren biyoaktif bileşiklerin önemli kaynaklarıdır. Ancak, bu bileşiklerin farklı çözücülerle çözünürlüklerine bağlı olarak farklı antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir [29]. Tüney ve ark. [30] *P. pavonica* türüne ait etanol ekstraktlarının *Candida* sp., *E. faecalis*, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı zayıf aktivite gösterdiğini, buna karşılık metanol ekstraktlarının antibakteriyel

Tablo 2 Antarktik mikroalgin farklı ekstraktlarının oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)

Türler	Etanol	Metanol	DMSO	Su
<i>E. coli</i>	11,0±0,0 ^{a,A}	10,8±0,8 ^{a,A}	10,5±0,0 ^{a,A}	9,0±0,0 ^{a,B}
<i>B. cereus</i>	11,8±0,8 ^{a,A}	10,7±1,2 ^{a,A}	12,7±1,2 ^{a,A}	9,7±0,8 ^{a,B}
<i>S. aureus</i>	11,7±1,0 ^{a,A}	11,0±1,2 ^{a,A}	11,2±0,8 ^{a,A}	9,7±1,5 ^{a,B}
<i>S. typhimurium</i>	09,2±1,3 ^{b,A}	11,0±0,0 ^{b,A}	09,3±1,5 ^{b,A}	8,2±0,9 ^{b,B}
<i>P. aeruginosa</i>	10,5±0,0 ^{a,A}	12,3±1,5 ^{a,A}	10,7±0,6 ^{a,A}	9,5±0,0 ^{a,B}

Veriler ortalamalar ± standart sapmalar (n=3) olarak sunulmuştur

A-B: Aynı bakteri türü için farklı çözücü ekstraktları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklar büyük harflerle belirtilmiştir (p<0,05).

a-d: Aynı ekstrakt tipi için farklı bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,05).



veya antifungal aktivite göstermediğini rapor etmiştir. Santoyo ve ark. [13] ise, *Haematococcus pluvialis*'in etanol ekstraktlarının *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmiş ve bunu, bütanoik ve metil laktik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerinin varlığına bağlamıştır. Mevcut çalışmada ise DMSO ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği daha güçlü bir şekilde görülmüş, özellikle *S. aureus* ve *B. cereus* üzerinde yüksek inhibisyon zonları oluşturmuştur. Ancak, bu bulgular literatürdeki diğer çalışmalara kıyasla, özellikle *E. coli* gibi diğer bakteri türleri üzerindeki etkinlik açısından daha dikkat çekicidir.

Biyoaktif bileşikler arasında, mikroalg yağ asitleri, farmasötik ve kozmetik uygulamalar için en önemli bileşiklerdir. Yağ asitleri, hücre zarına etki ederek zarın yapısını bozar, hücre sızıntısına yol açar, besin alımını azaltır ve hücre solunumu inhibe eder [1]. Mikroalg ekstraktlarının aktivitesi genellikle yağ asidi içeriği ile ilişkilidir [31, 32]. Bu nedenle, polar organik çözücüler (örneğin metanol), yağ asitlerinin ekstraksiyonu için etkilidir [33, 34].

Literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde, Antarktik mikroalglerin diğer mikroalg türlerine kıyasla daha fazla antibakteriyel özellik gösterdiği görülmüştür [38-40] [35-37]. Uma ve ark. [38] tarafından yürütülen bir çalışmada, *Chlorococcum humicola*'nın DMSO ekstresinin (%1) *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi incelenmiş ve 9 mm inhibisyon zonu bildirilmiştir. Bai ve ark. [38] ise, *Tetraselmis suecica* ekstraktlarının aseton çözeltisi ile hazırlanarak *E. coli*, *B. megaterium*, *B. subtilis* ve *Salmonella* sp. bakterilerine karşı sırasıyla 9,0, 10,6, 8,2 ve 8,6 mm'lik inhibisyon zonları oluşturduğunu tespit etmiştir. Ancak, mevcut çalışmada elde edilen inhibisyon zonları, bu çalışmalarda bildirilenlerden genellikle daha yüksek seviyelerdedir. Örneğin, *P. aeruginosa* üzerinde 12,3 mm'lik inhibisyon zonu, diğer çalışmalarda bildirilenden daha geniştir. Bu, Antarktik mikroalglerin antibakteriyel aktivitelerinin çözücü türüne bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve bu çalışmada kullanılan çözücünün etkili bir ekstraksiyon ortamı sunduğunu göstermektedir.

Antarktik türler ile yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, Asthana ve ark. [39] Antarktika siyanobakterisi *Nostoc CCC537*'nin metanolik ekstraktlarının *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un büyümesini inhibe ettiğini bildirmiştir. Farklı *E. coli* türleri için inhibisyon zonlarının 10-18 mm arasında değiştiği, ayrıca *Staphylococcus aureus* ATCC 25923'e karşı 40 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, bu aktivitenin, bir diterpenoidin antraknon (indane) türevine benzer hücre içi bir biyomolekülden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Bu çalışma, mev-

cut çalışmamızdaki inhibisyon zonlarından çok daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu fark, kullanılan mikroalg türünün özelliklerinden ve ekstraksiyon koşullarından kaynaklanabilir.

Biondi ve ark. [40] Antarktika'daki bentik matlardan izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Aspergillus fumigatus* ATCC 90112, *E. coli* L 47 ve *Candida albicans* L. 145 gibi çeşitli bakteri türleri üzerindeki etkisini incelemiştir. Araştırma sonucunda çalışmada kullanılan 17 siyanobakteri türünün *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus fumigatus* veya *Cryptococcus neoformans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, 25 türün sitotoksik olduğu tespit edilmiştir. Bu biyoaktivitelerin suya özgü olduğu ve filogenetik gruplama ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Elvedal [41] ise yüksek lisans tezinde farklı koşullar altında kültüre edilen Arktik deniz diatom türlerinin biyoaktivite potansiyelini incelemiştir. Arktik sularından toplanan tüm örneklerin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus agalactiae*'ye karşı biyoaktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, kültürleme koşullarının türlerin biyoaktivitesini etkilediği ve antibakteriyel etkilerinde farklılıklar gözlemlendiği belirtilmiştir. Araştırmacı, diatom türünün metabolit biyoaktivite profilinin kültürleme koşullarına bağlı olarak değişebileceğini ifade etmiştir.

3.5. Antifungal Aktivite Sonuçları

C. variabilis YTU.ANTARCTIC.001 türüne ait farklı ekstraktların antifungal aktivitesi, *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *B. cinerea* ve *A. niger* türlerine karşı değerlendirilmiştir ve bu fungal türlerin misel büyümesine karşı inhibisyon oranları farklı günlerde ölçmüştür (Tablo 3).

Farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan Antarktik mikroalg ekstraktlarının, *C. gloeosporioides*'un 6. inkübasyon günündeki fungal koloni çapı üzerindeki etkisi incelendiğinde, en düşük miselyal büyümenin 64 mm ile etanol ekstresinde olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, en yüksek miselyal büyüme 68 mm ile DMSO ve su ekstraktlarında elde edilmiştir. Kontrol ekstraktlarının miselyal büyümesi ise 66 ile 72 mm arasında gözlemlenmiştir (Şekil 2). *F. oxysporum* için ise, farklı ekstraktların etkilerinin birbirine yakın olduğu söylenebilmektedir. Etanol, su ve metanol ekstraktlarının miselyal büyüme değerleri 50-51 mm arasında değişirken, DMSO ekstresi 49 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 3). Benzer şekilde, *B. cinerea*'ya karşı 5. ve 6. inkübasyon günlerinde hiçbir ekstrenin inhibisyon göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4). *A. niger* için, en yüksek miselyal büyüme 73,33 mm ile DMSO ekstresinde-

Tablo 3 Antarktik mikroalgi ekstreleri uygulanmış fungusların 6 gün sonundaki miselyal büyüme zonları (mm)

Örnek	Çözücü	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>A. niger</i>
Ekstre	DMSO	68,00±0,50 ^{a,C}	49,50±0,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	73,33±0,57 ^{a,B}
	Etanol	64,00±0,50 ^{a,C}	51,00±0,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	71,00±1,00 ^{a,B}
	Metanol	65,00±0,00 ^{a,C}	50,00±1,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	69,00±0,00 ^{a,B}
	Su	68,00±0,50 ^{a,C}	51,00±0,50 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	72,00±1,00 ^{a,B}
(-) Kontrol	DMSO	69,50±0,50 ^{b,C}	54,00±0,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	78,00±0,50 ^{b,B}
	Etanol	66,00±0,50 ^{b,C}	55,00±1,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	75,00±1,00 ^{b,B}
	Metanol	67,00±0,00 ^{b,C}	54,00±1,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	76,00±0,00 ^{b,B}
	Su	72,00±0,00 ^{a,C}	55,33±1,52 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	80,00±0,00 ^{a,B}

Veriler ortalamalar ± standart sapmalar (n=3) olarak sunulmuştur

A–D: Aynı mikroalg ekstre tipi için farklı mantar türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmaktadır (p<0,05). Farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak anlamlıdır.

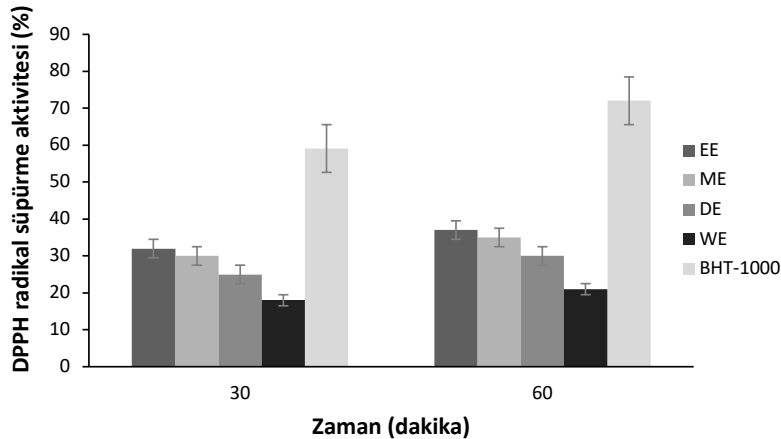
a–d: Aynı mantar türü için farklı uygulamalar (ekstre vs. kontrol grubu) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmaktadır (p<0,05). Farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasında anlamlılık vardır.

sinde görülürken, en düşük miselyal büyüme 69,6 mm ile metanol ekstresinde gözlemlenmiştir (Şekil 5).

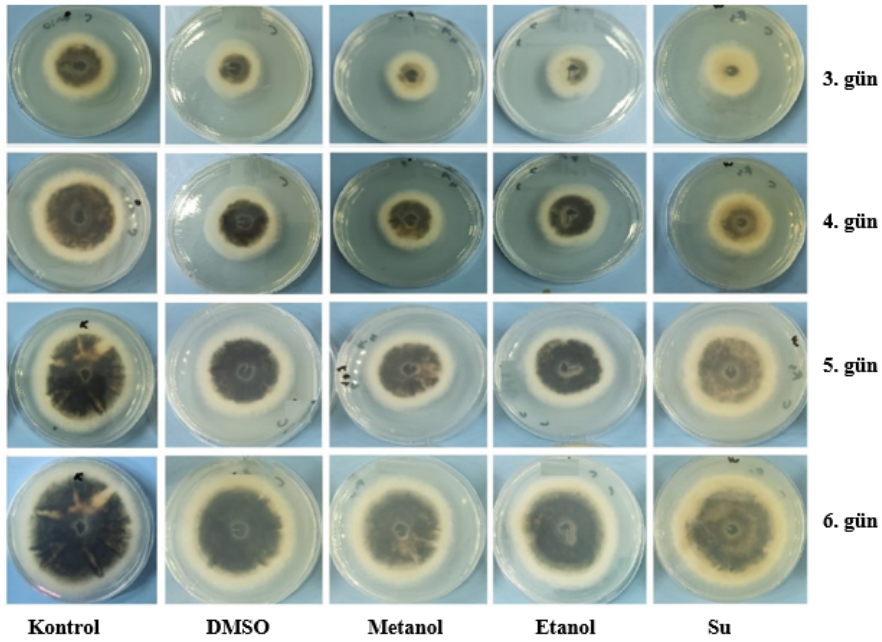
Polifenolik bileşikler, yüksek hidrofilik karakterleri nedeniyle birden fazla -OH grubu içermektedir ve bu sayede çözücülerde çok daha iyi çözünmektedir. Bu durum, polifenollerin su ekstresine kıyasla daha yüksek antifungal aktivite göstermesine neden olabilmektedir [42]. Buna ek olarak, mikroalgler yüksek oranda polar bileşikler içerdiklerinden, non-polar çözücüler en düşük ekstre verimini verecektir

[34, 36]. Diklorometan ve metanol ekstrlerinin, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve mantarlara karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [36]. Mikroalg ekstrlerinde bulunan fenolik ve terpenoid bileşiklerin, fungal miselyum büyümesini durdurduğu veya inhibe ettiği düşünülmektedir [42–44].

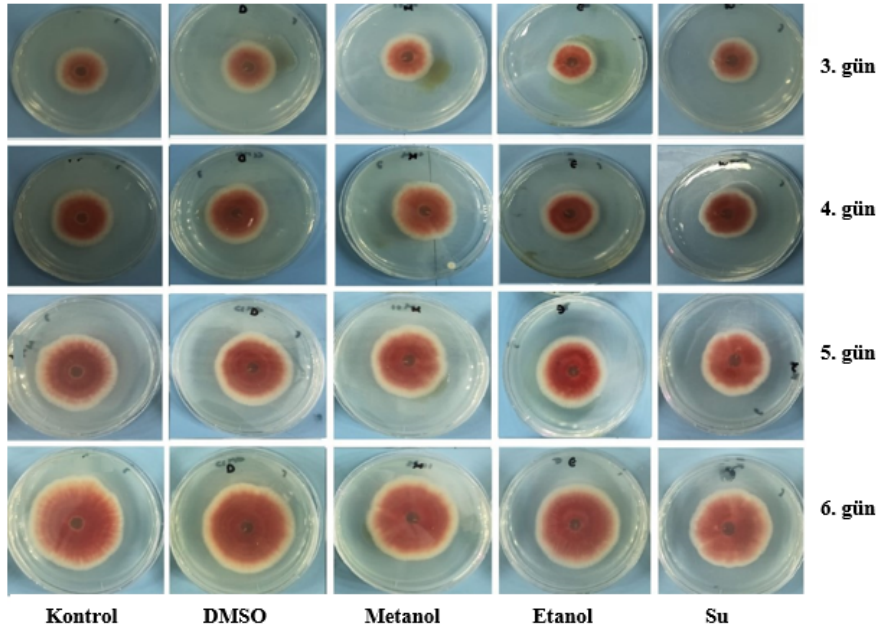
Literatürde, farklı mikroalg ekstrlerinin antifungal etkileri değerlendirilmektedir. Ghasemi ve ark. [12] eşitli mikroalglerin metanolik ve hekzan ekstrlerini *C. kefyi*, *C. albicans*,



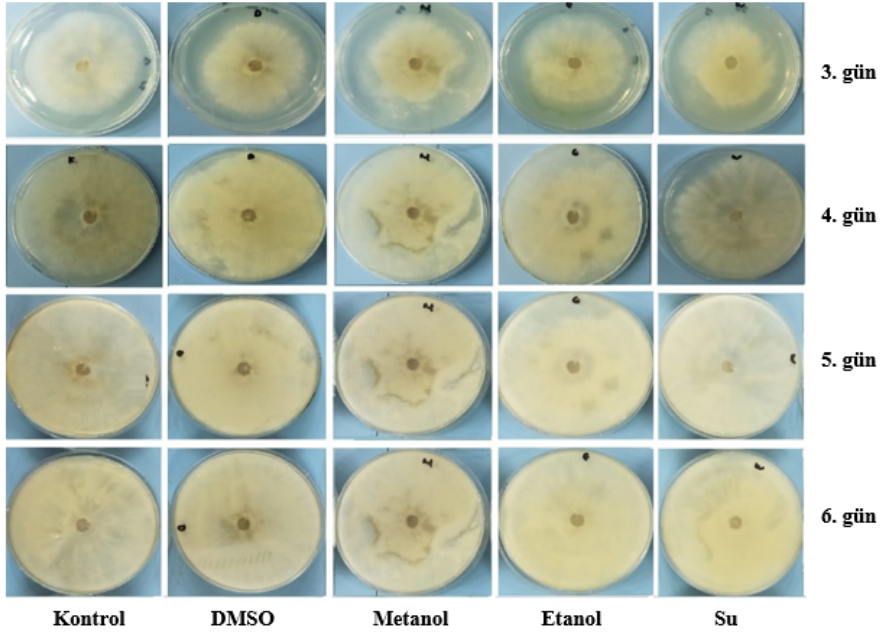
Şekil 1 *C. variabilis* mikroalginin etanolik (EE), metanolik (ME), DMSO'lu (DE) ve sulu (WE) ekstrlerinin antioksidan aktivitesi



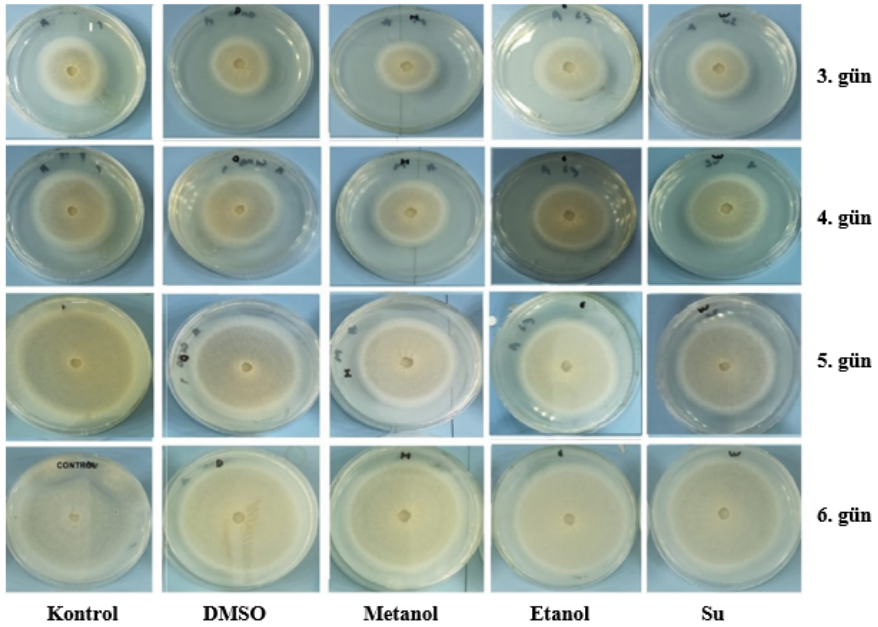
Şekil 2 Antarktik mikroalgi ekstrelerinin *C. gloeosporioides*'a karşı inhibisyonu



Şekil 3 Antarktik mikroalgi ekstrelerinin *F. oxysporum*'a karşı inhibisyonu



Şekil 4 Antarktik mikroalgi ekstrlerinin *B. cinerea*'ya karşı inhibisyonu



Şekil 5 Antarktik mikroalgi ekstrlerinin *A. niger*'e karşı inhibisyonu



A. niger ve *A. fumigatus*'a karşı test etmiş ve denenen birçok çözücü arasında yalnızca metanolik ekstrelerin anlamlı bir antifungal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Santoyo ve ark. [13], *H. pluvialis*'in etanol ekstrelerini *C. albicans* ve *A. niger*'e karşı test etmiş ve tüm ekstrelerin *A. niger*'e karşı etkisiz olduğunu bildirmiştir. Ayrıca literatürde, Antarktika mikroalg türlerinin antifungal aktivite-lerini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, bazı Antarktika makroalg türleri antifungal özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Martins ve ark. [45] dört farklı makroalg türünün (*Cystosphaera jacquinioti*, *Iridaea cordata*, *Himantothallus grandifolius* ve *Pyropia endiviifolia*) hekzan, kloroform, etil asetat ve etanol ekstreleri farklı *Candida* türlerine karşı test etmiştir. Bu çalışmada, *H. grandifolius*'un etil asetat ekstrelerinin çalışma kapsamında kullanılan diğer ekstreler arasında en dikkat çekici antifungal aktiviteyi gösterdiği rapor edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında, Antarktika mikroalg türlerinin antifungal uygulamalar açısından değerlendirilme potansiyeline sahip olduğu söylenebilmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, literatürde bildirilen bazı bulgularla örtüşmektedir. Örneğin, Ghasemi ve ark. [12] tarafından bildirilen metanolik mikroalg ekstrelerinin antifungal etkisi, çalışmamızda da metanol ekstresinin bazı fungal türlerde inhibisyon göstermesiyle paralellik arz etmektedir. Buna karşılık, Santoyo ve ark. [13]'nın *A. niger* üzerinde etkisiz bulunduğu etanol ekstresi, bizim çalışmamızda sınırlı da olsa inhibisyon göstermiştir. Bu farklılık, kullanılan mikroalg türleri, ekstraksiyon yöntemi veya test edilen fungal suşlardaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, Antarktika kökenli mikroalg türlerinin antifungal aktivitesine yönelik literatürde yeterli veri bulunmazken, çalışmamızda *C. variabilis* YTU. ANTARCTIC.001 türüne ait ekstrelerin bazı funguslara karşı belirgin inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu yönüyle çalışma, Antarktik mikroalglerin antifungal biyoyetkinlik potansiyelini ortaya koyarak, bu alanda yapılacak ileri araştırmalar için önemli bir öncül oluşturmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, Antarktika kutup bölgesinde ekstrem koşullar altında yetişen mikroalg türlerinin bazı bakteri türleri ve mantarlara karşı umut verici antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediğini göstermektedir. Bu çalışmada, kutuptan izole edilen mikroalg hücre ekstrelerinin, ılıman bölgelerde yetişen makro ve mikroalg türlerine kıyasla Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite ve fungal patojenlere karşı daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca mikroalgler, çevresel strese karşı hayatta kalma mekanizmaları olarak güçlü antioksidan özellikler gösterebilen sekonder metabolit-

ler üretirler bu sayede mikroalg ekstrelerinin endüstriyel alanda değerlendirilebileceğini öne sürülebilir. Elde edilen sonuçlar, Antarktika'dan izole edilen mikroalglerin güçlü antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Antarktika mikroalglerinin antimikrobiyal bileşiklerine ilişkin moleküler yapılarının belirlenmesine yönelik ileri araştırmalar, gelecekteki biyoteknolojik ve farmasötik uygulamalar açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- [1] Amaro, H. M., Guedes, A. C., & Malcata, F. X. (2011). Antimicrobial activities of microalgae: An invited review. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 2, 1272-1284.
- [2] Koçer, A. T., Mutlu, B., & Özçimen, D. (2020). Investigation of biochar production potential and pyrolysis kinetics characteristics of microalgal biomass. *Biomass Convers Biorefinery* 10, 85-94.
- [3] Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi journal of biological sciences*, 26(4), 709-722.
- [4] Babich, O., Sukhikh, S., Larina, V., Kalashnikova, O., Kashirskikh, E., Prosekov, A., & Dolganyuk, V. (2022). Algae: Study of edible and biologically active fractions, their properties and applications. *Plants*, 11(6), 780.
- [5] Bidigare, R. R., Ondrusek, M. E., Kennicutt, M. C., Iturriaga, R., Harvey, H. R., Hoham, R. W., & Macko, S. A. (1993). Evidence a photoprotective for secondary carotenoids of snow algae 1. *Journal of Phycology*, 29(4), 427-434.
- [6] Suh, S. S., Kim, S. M., Kim, J. E., Hong, J. M., Lee, S. G., Youn, U. J., & Kim, S. (2017). Anticancer activities of ethanol extract from the Antarctic freshwater microalga, Botrydiopsisidae sp. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-9.
- [7] da Silva Vaz, B., Moreira, J. B., de Moraes, M. G., & Costa, J. A. V. (2016). Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. *Current opinion in food science*, 7, 73-77.
- [8] Pratt, R., Daniels, T. C., Eiler, J. J., Gunnison, J. B., Kumler, W. D., Oneto, J. F., & Strain, H. H. (1944). Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. *Science*, 99(2574), 351-352.
- [9] Navarro, F., Forján, E., Vázquez, M., Toimil, A., Montero, Z., Ruiz Domínguez, M. D. C., & Vega, J. M. (2017). Antimicrobial activity of the acidophilic eukaryotic microalga *Coccomyxa onubensis*. *Phycological Research*, 65(1), 38-43.
- [10] Vehapi, M., Yilmaz, A., & Özçimen, D. (2018). Antifungal activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* microalgae cultivated in Bold Basal medium, wastewater and tree extract water against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Rom. Biotechnol. Lett.*, 1, 1-8.

- [11] Fabregas, J., Garcia, D., Fernandez-Alonso, M., Rocha, A. I., Gómez-Puertas, P., Escribano, J. M., & Coll, J. M. (1999). *In vitro* inhibition of the replication of haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae. *Antiviral research*, 44(1), 67-73.
- [12] Ghasemi, Y., Moradian, A., Mohagheghzadeh, A., Shokravi, S., & Morovat, M. H. (2007). Antifungal and antibacterial activity of the microalgae collected from paddy fields of Iran: characterization of antimicrobial activity of *Chroococcus dispersus*. *Journal of Biological Sciences*, 7(6), 904-910.
- [13] Santoyo, S., Rodríguez-Meizoso, I., Cifuentes, A., Jaime, L., Reina, G. B., Señorans, F. J., & Ibáñez, E. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT-Food Science and Technology*, 42(7), 1213-1218.
- [14] Schuelter, A. R., Kroumov, A. D., Hinterholz, C. L., Fiorini, A., Trigueros, D. E. G., Vendruscolo, E. G., & Módenes, A. N. (2019). Isolation and identification of new microalgae strains with antibacterial activity on food-borne pathogens. Engineering approach to optimize synthesis of desired metabolites. *Biochemical Engineering Journal*, 144, 28-39.
- [15] Bhagavathy, S., Sumathi, P., & Bell, I. J. S. (2011). Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1), 1-7.
- [16] Teoh, M. L., Chu, W. L., Marchant, H., & Phang, S. M. (2004). Influence of culture temperature on the growth, biochemical composition and fatty acid profiles of six Antarctic microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 16, 421-430.
- [17] Cebi, N., Arici, M., & Sagdic, O. (2021). The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC-MS techniques combined with chemometrics. *Food chemistry*, 354, 129495.
- [18] Brands-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [19] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [20] Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- [21] Vehapi, M., Koçer, A. T., Yılmaz, A., & Özçimen, D. (2020). Investigation of the antifungal effects of algal extracts on apple-infecting fungi. *Archives of microbiology*, 202, 455-471.
- [22] Suh, S. S., Hong, J. M., Kim, E. J., Jung, S. W., Kim, S. M., Kim, J. E., & Kim, S. (2018). Anti-inflammation and anti-cancer activity of ethanol extract of antarctic freshwater microalga, *Micractinium* sp. *International journal of medical sciences*, 15(9), 929-936.
- [23] Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., De Brabanter, J., & De Cooman, L. (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of applied phyco-logy*, 24, 1477-1486.
- [24] Vijayavel, K., Anbuselvam, C., & Balasubramanian, M. P. (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 303, 39-44.
- [25] Gürlek, C., Yarkent, Ç., Köse, A., Tuğcu, B., Gebeloğlu, I. K., Öncel, S. Ş., & Elibol, M. (2020). Screening of antioxidant and cytotoxic activities of several microalgal extracts with pharmaceutical potential. *Health and Technology*, 10, 111-117.
- [26] Azaman, S. N. A., Nagao, N., Yusoff, F. M., Tan, S. W., & Yeap, S. K. (2017). A comparison of the morphological and biochemical characteristics of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella zofingiensis* cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions. *PeerJ*, 5, e3473.
- [27] Ali, H. E. A., Shanab, S. M. M., Abo-State, M. A. M., Shalaby, E. A. A., Eldmerdash, U., & Abdullah, M. A. (2014). Screening of microalgae for antioxidant activities, carotenoids and phenolic contents. *Applied mechanics and materials*, 625, 156-159.
- [28] Gilbert, R. J., Stringer, M. F., & Peace, T. C. (1974). The survival and growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of food poisoning. *Epidemiology & Infection*, 73(3), 433-444.
- [29] Kausalya, M., & Rao, G. N. (2015). Antimicrobial activity of marine algae. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 6(1), 78-87.
- [30] Tüney, İ., Cadirci, B. H., Ünal, D., & Sukatar, A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 30(3), 171-175.
- [31] Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., & Ibáñez, E. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 245-253.
- [32] Suresh, A., Praveenkumar, R., Thangaraj, R., Oscar, F. L., Baldev, E., Dhanasekaran, D., & Thajuddin, N. (2014). Microalgal fatty acid methyl ester a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 979-984.
- [33] Stirk, W. A., & van Staden, J. (2022). Bioprospecting for bioactive compounds in microalgae: Antimicrobial compounds. *Biotechnology advances*, 59, 107977.
- [34] Karthika, N., & Muruganandam, A. (2019). Bioactive compounds and antimicrobial activity of cyanobacteria from south east coast of India. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 8(1), 3027-3030.
- [35] Saad, M. G., Abdu, M., Shafik, H. M., Marwa, C., & Saad, G. (2019). Phytochemical screening and antimicrobial activities of some green algae from Egypt. *J. Med. Plants Stud*, 7, 12-16.
- [36] Alghanmi, H. A., & Omran, A. S. (2020). Antibacterial activity of ethanol extracts of two algae species against some pathogenic bacteria



isolated from hospital patients. *EurAsian Journal of BioSciences*, 14(1), 383.

- [37] Uma, R., Sivasubramanian, V., & Niranjali Devaraj, S. (2011). Preliminary phycochemical analysis and *in vitro* antibacterial screening of green micro algae, *Desmococcus olivaceous*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*. *J Algal Biomass Utiln*, 2(3), 74-81.
- [38] Bai, V. D. M., & Krishnakumar, S. (2013). Evaluation of antimicrobial metabolites from marine microalgae *Tetraselmis suecica* using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(3), 17-23.
- [39] Asthana, R. K., Deepali, Tripathi, M. K., Srivastava, A., Singh, A. P., Singh, S. P., & Srivastava, B. S. (2009). Isolation and identification of a new antibacterial entity from the *Antarctic cyanobacterium* Nostoc CCC 537. *Journal of applied phycology*, 21, 81-88.
- [40] Biondi, N., Tredici, M. R., Taton, A., Wilmotte, A., Hodgson, D. A., Losi, D., & Marinelli, F. (2008). Cyanobacteria from benthic mats of Antarctic lakes as a source of new bioactivities. *Journal of applied microbiology*, 105(1), 105-115.
- [41] Elvedal, I. (2018). *Bioactivity Potential of an Arctic Marine Diatom Species Cultivated at Different Conditions* (Master's thesis, UiT The Arctic University of Norway).
- [42] Özçimen, D. (2018). Investigation of antifungal effect of *Chlorella protothecoides* microalgae oil against *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* fungi. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 15(2), 45-52.
- [43] de Morais, M. G., Vaz, B. D. S., de Morais, E. G., & Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed research international*, 2015(1), 835761.
- [44] Oh, B. T., Jeong, S. Y., Velmurugan, P., Park, J. H., & Jeong, D. Y. (2017). Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity. *Journal of bioscience and bioengineering*, 124(5), 542-550.
- [45] Martins, R. M., Nedel, F., Guimarães, V. B., Da Silva, A. F., Colepicolo, P., De Pereira, C. M., & Lund, R. G. (2018). Macroalgae extracts from Antarctica have antimicrobial and anticancer potential. *Frontiers in microbiology*, 9, 412.