

Tüketilebilir iki makroalg ekstraktının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Determination of antimicrobial activity of two macro algae extracts

Bahar Gümüş^{1*} • Mustafa Ünlüsayın²

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 32500, Eğirdir, Isparta

² Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 07058, Antalya

* Corresponding author: bahargumus@sdu.edu.tr

Received date: 28.07.2016

Accepted date: 28.10.2016

How to cite this paper:

Gümüş, B. & Ünlüsayın, M. (2016). Determination of antimicrobial activity of two macro algae extracts (in Turkish with English abstract). Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 33(4): 389-395. doi: 10.12714/egejfas.2016.33.4.13

Öz: Bu çalışmada, *Ulva rigida* ve *Gracilaria verrucosa* makroalglerinden elde edilen etanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. *U. rigida* ve *G. verrucosa* makroalgleri İnciraltı (İzmir, Türkiye)sahilinden toplanmıştır. Laboratuvar ortamında örnekler ilk önce musluk suyu ile daha sonra saf su ile yıkanarak temizlenmiş ve 40 °C'de 24 saat süre ile kurutulmuştur. Kurutulan ve toz haline getirilen örnekler (10 g) amber renkli erlene tartılmış ve üzerine 200 ml %95'lik etanol eklenmiştir. Bu karışımlar çalkalamalı su banyosunda, farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında (30 °C, 45 °C ve 60 °C) 30 dakika süre ile ekstrakte edilmiştir. Bu özütler filtre edildikten sonra döner buharlaştırıcı kullanılarak çözgen uzaklaştırılmıştır. Farklı sıcaklıklarda *U. rigida* ve *G. verrucosa* makroalglerinden sağlanan etanol özütlerinin kağıt disk difüzyon agar metodu kullanılarak 6 bakteri (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ve 2 mantar (*Aspergillus brasiliensis* ve *Candida albicans*) için antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Test edilen tüm özütlerin *A. brasiliensis* hariç tüm bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, makroalg, *Ulva rigida*, *Gracilaria verrucosa*

Abstract: In this study, antimicrobial activity of the possibility of using ethanol extracts obtained from seaweeds *Ulva rigida* and *Gracilaria verrucosa* were examined. *U. rigida* and *G. verrucosa* were collected from the Coast of İnciraltı (İzmir, Turkey). In the laboratory, the samples were cleaned by rinsing with tap and distilled water, and then dried at 40 °C for 24 hours. Dried and pulverized seaweed samples (10 g) were weighed into an amber Erlenmeyer flask, and 200 ml of 95% (v/v) ethanol was added. The mixture was shaken and extracted in a water bath shaker at temperatures of 30 °C, 45 °C and 60 °C for 30 min. The extracts were filtered, and ethanol was removed using a rotary evaporator to obtain extracts. Ethanolic extracts of *U. rigida* and *G. verrucosa* obtained at different temperatures were evaluated in vitro for antibacterial and antifungal activity on six bacteria (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) and two fungi (*Aspergillus brasiliensis* and *Candida albicans*) using the paper disk agar diffusion method. All extract groups tested were found to have antimicrobial activity against all bacteria and fungi, except for *Aspergillus brasiliensis*.

Keywords: Antimicrobial activity, seaweed, *Ulva rigida*, *Gracilaria verrucosa*

GİRİŞ

Kadayıf otu olarak da bilinen *Gracilaria verrucosa*, İzmir ve İzmit Körfezi başta olmak üzere kıyılarımızda doğal yayılış gösteren bir türdür (Cirik ve Cirik, 1999; Cirik, 2001). Yeşil algler grubunda yer alan *Ulva rigida* kıyılarımızda özellikle dalgaların az olduğu sığ ve kayalık bölgelerde, azot ve fosfor gibi besleyici elementlerin bol olduğu kısımlarda doğal olarak bulunduğu rapor edilmektedir (Cirik ve Cirik, 1999; Cirik, 2001). Dünyada toplanan yeşil alglerin %25'inin *Ulva* cinsine ait olduğu ifade edilmektedir (Kaykaç, 2007). Bu iki tür makroalg, taze ve kurutulmuş olarak özellikle Amerika (Hawaii), Japonya, Çin ve Kore gibi ülkelerde çok uzun yıllardan beri geleneksel gıdalar arasında yer almaktadır (Denis vd., 2010, Akköz vd., 2011). Fransa'da makroalgler sebze ve katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. Bununla birlikte, Fransa'da makroalglerin

insanlar tarafından tüketimi yasal düzenlemelerle belirlenmiş kriterler çerçevesinde gerçekleştirilmektedir (Mabeau ve Fleurence, 1993; Burtin, 2003). Fransa'da bu kriterlere uygun ve bizim de araştırma materyallerimiz olan *Gracilaria verrucosa* ve *Ulva rigida*'nın da bulunduğu toplam 12 makroalg (6 tür kahverengi alg, 5 tür kırmızı alg ve 2 tür yeşil alg) ve 2 mikroalg türünün sebze ve baharat olarak tüketimine izin verilmiştir (Burtin, 2003).

Makroalgler, biyolojik aktivitelerin geniş bir spektrumuyla karakterize edilen ikincil metabolitlerin büyük bir çeşidini üretme yeteneğine sahip olan biyoaktif bileşenlerin ana kaynağı olarak tanımlanmaktadır. Makroalgler zor çevresel koşullarda gelişmekle birlikte gelişim sürecinde herhangi ciddi bir

fitodinamik zarara nadiren maruz kalmaktadırlar. Bu etki, makroalg hücrelerinin bazı koruyucu bileşen ve mekanizmalara sahip olması ile açıklanabilir (Matsukawa vd., 1997; Gupta vd., 2012). Makroalgler; antimikrobiyal bileşenlerin, omega 3 yağ asitlerinin, antioksidan ve diğer biyoaktif bileşenlerin iyi bir kaynağı olduğu için fonksiyonel gıdalarda ve nutrasötik gibi ürünlerde kullanılmasındaki ilgi artmaktadır (Yuan, 2008; Gupta vd., 2012).

Makroalglerin antibakteriyel özelliklerine ilişkin çok sayıda çalışma Phaeophyceae, Rhodophyceae ve Chlorophyceae için rapor edilmiştir (Padmini Sreenivasa Rao, 1991; Venugopal, 2009). Polifenoller, flavonoidler ve polisakkaritler gibi bileşenlerin kahverengi, kırmızı ve yeşil alglerde antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Cox vd., 2009; Zaragoza vd., 2008; Gupta vd., 2012). Makroalglerin antimikrobiyal aktivitesi klorofil türevleri, akrilik asit, terpenler, fenolik maddeler, halojenli alifatik bileşenler ve sülfür içeren heterosiklik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşenlerin yanında antimikrobiyal aktivite bazı aminoasitler, florotanninler, steroidler, halojenli ketonlar ve alkanlar, siklik polisülfidler ve yağ asitlerinden de kaynaklandığı belirtilmektedir (Espeche vd., 1984; Nagayama vd., 2002; Watson ve Cruz-Rivera, 2003; Hosokawa vd., 2006; Horie vd., 2008; Cox vd., 2009; Srivastava vd., 2010; Salem vd., 2011; Radhika vd., 2012; Gupta vd., 2012; de Almeida Mendes, 2012).

Bu araştırmada, *U. rigida* ve *G. verrucosa* makroalglerinden sağlanan etanol özütlerinin kağıt disk difüzyon agar metodu kullanılarak 6 bakteri (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ve 2 mantar'a (*Aspergillus brasiliensis* ve *Candida albicans*) karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmamızda, denizel makroalglerden kırmızı alglere (Rhodophyta) ait *Gracilaria verrucosa* ve yeşil alglere (Chlorophyta) ait *Ulva rigida* türleri kullanılmıştır. Makroalgler Mayıs 2012 tarihinde İnciraltı'ndan (İzmir/Türkiye) toplanmıştır.

Makroalg ekstraktlarının hazırlanması

Toplanan makroalgler saklama kaplarına konulmuş ve buz içerisinde vakit kaybetmeden Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri İşleme Teknolojisi laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen algler yıkama işlemine başlamadan önce 4±2 °C'de muhafaza edilmiştir. Makroalglerin yıkama, kurutma ve depolama işlemleri Ye vd. (2009)'a göre modifiye edilerek yapılmıştır. Makroalglerin tuzunu, toprağını, üzerindeki epifitleri ve diğer canlıları uzaklaştırmak için çeşme suyunun altında yıkanmıştır. Daha sonra 3 kez saf sudan geçirilmiştir. Yıkama işlemi tamamlanan makroalgler file çuvallar içerisine (yaklaşık 5 kg yağ ağırlık) konulmuş ve suyunun süzülmesi için 4±2°C'lik soğutma odasında bulunan askılara asılmıştır. Suyu süzülen makroalglerin kurutma işlemi hızlandırabilmek için elle küçük parçalara bölünmüştür. Bu işlemde sonra algler fitokimyasal

bileşiklerin zarar görmemesi için 40°C'ye ayarlanmış kurutucu dolabın içerisine yerleştirilmiş ve burada 17 saat tutularak ön kurutma işlemi yapılmıştır. Daha sonra yine 40°C'ye ayarlanmış fanlı etüv içerisine yerleştirilmiş ve burada da 7 saat tutularak kurutma işlemi toplamda 24 saat süre sonunda tamamlanmıştır. Belirtilen işlemler her iki tür içinde aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Kurutma işleminden sonra algler avuç içerisinde ovuşturularak küçük parçalar haline getirilmiştir. Daha sonra bu algler 1 mm göz açıklığındaki eleğe sahip laboratuvar tipi çekiçli değirmen ile öğütülmüştür. Öğütülen *Gracilaria verrucosa* ve *Ulva rigida* türleri vakum poşet içerisine 50'şer gram tartılarak vakum paketleme işlemi yapılmıştır. Vakum paketlenen algler -18°C'deki dondurucuda kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon işlemi Yerlikaya ve Gökoğlu (2010) ve Rodriguez-Bernaldo De Quiros vd'nin (2010) yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi öncesi kurutulmuş ve toz haline getirilmiş algler 1:20 (g/ml) oranında %95'lik etanolle karıştırılmış üç farklı sıcaklıkta (30°C, 45°C ve 60 °C) çalkalamalı su banyosunda 30 dakika muamele edilmiştir. Daha sonra ekstraktlar filtre edilmiş ve döner buharlaştırıcı (rotary evaporatör) ile 1-2 ml kalıncaya kadar çözgen uzaklaştırılmıştır. Özütler eppendorf tüpler içerisine alınmış üzerine azot gazı basarak kapatılmış ve analizlerde kullanılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Çalışmada antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için BD (Becton, Dickinson Company, ABD) şirketinden liyofilize boncuk halinde bakteri ve maya suşları temin edilmiştir. Gram pozitif (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 35152) ve gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) olmak üzere toplamda 6 bakteri türü kullanılmıştır. Antifungal aktivite için ise *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) ve *Candida albicans* (ATCC 10231) türleri kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Bu metoda göre, 9 mm çapında steril disklere (Whatman 2017-009) aseptik koşullarda makroalg özütlerinden 50 µL emdirilmiştir. Bakteri kültürlerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemede, Mueller Hinton Agar (MHA, Merck 1.10293), maya kültürlerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemede Glukoz-Yeast Extract Penicilin Streptomycin Agar besi yerinden yararlanılmıştır. Denemede kullanılacak olan bakteri kültürlerini aktive etmek için Triptic Soy Broth (TSB, Merck, 1.05459), maya kültürleri için Glukoz-Yeast Extract Penicilin Streptomycin Broth kullanılmıştır. Bakteri kültürlerini aktive etmek için 10 mL TSB bulunan deney tüpü içerisine 1 adet boncuk atılmış ve 37 °C'deki inkübatörde 24 saat tutulmuştur. Maya kültürlerini aktive etmek için 10 mL Glukoz-Yeast Extract Penicilin Streptomycin Broth bulunan 100 mL'lik erlen içerisine 1 adet boncuk atılmış ve 25°C'deki inkübatörde 24 saat tutulmuştur. Bu süre sonunda bakteriyel

tüplerin tamamı 50 mL'lik steril falcon tüplerine alınmış ve soğutmalı santrifüj içerisinde 4°C'de 5000 rpm devirde 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki brothlar boşaltılmış ve dibe çöken bakteriler Maximum Recovery Diluent (MRD, Merck 1.12535) ile cam tüpe alınmış ve bakteri süspansiyonu MacFarland 0.5'e göre ayarlanmıştır. MacFarland 0.5'e göre ayarlanmış bakteri süspansiyonu içine steril bir eküvyon daldırılarak karıştırılmış ve bu eküvyon MHA bulunan petri yüzeyine sık aralıklarla taramak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek ekim yapılmıştır. Mayalar santrifüjde çökmediği için santrifüj yapılmamıştır. Steril bir eküvyon daldırılarak karıştırılmış ve bu eküvyon Glukoz-Yeast Extract Penicilin Streptomycin Agar bulunan petri yüzeyine sık aralıklarla taramak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek ekim yapılmıştır. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. 90 mm ölçüsünde olan petri üzerine 4 adet steril disk ilave edilmiş ve bu diskler üzerine aseptik olarak 50µL alg özütü emdirilmiştir. Her bakteri ve maya türü için negatif kontrol olarak 50µL %95'lik etanol disk üzerine emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak ise; her bakteri türü için ayrı olarak Penicilin G (P10) 10 µg/disk (Oxoid CT0043Bx3373), Erythromycin (E15) 15 µg/disk (Oxoid CT0020Bx3314) ve Oxytetracycline (OT 30) 30 µg/disk (Oxoid CT041Bx3368) olmak üzere üç farklı antibiyotik ilave edilmiştir. Maya türlerinde ise pozitif kontrol olarak disk üzerine 50 µl formaldehit emdirilmiştir. Bakterilerin inokule edildiği plaklar 37°C'de, mayaların inokule edildiği plaklar 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları (9 mm disk dahil) ölçülmüştür (NCCLS, 1993).

Analizler iki paralelli yapılmış ve denemeler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, SAS 9.0Windows

programı kullanılarak varyans analizine (F Testi) tabi tutulup, önemli varyans kaynaklarına ait ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $P<0.01$ ve $P<0.05$ önem seviyesine göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Düzgüneş vd., 1987).

BULGULAR

Çalışmada antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*) ve gram negatif (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) olmak üzere toplamda 6 bakteri türü kullanılmıştır. Antifungal aktivite için ise *Aspergillus brasiliensis* ve *Candida albicans* türleri kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan *G. verrucosa* ve *U. rigida* özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak her mikroorganizma türü için disk çapları (kağıt disk çapı hariç) belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmamızda, makroalg özütlerinin *Aspergillus brasiliensis* türüne karşı antifungal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Kullanılan özüt çeşidinin *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* türlerine karşı $p<0.01$ seviyesinde, *Listeria monocytogenes* türüne karşı $p<0.05$ seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir. *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* türleri üzerine farklı sıcaklık uygulamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Belirlenen bu farklılıklara ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Disk difüzyon agar yöntemi ile belirlenen makroalg özütlerinin antimikrobiyal aktivite sonuçları (Inhibisyon zonları, mm)
Table 1. Results of antimicrobial activity of seaweed extracts determined by disc diffusion agar methods (Inhibition zone in mm)

Bakteriler	Gruplar						Antibiyotikler			
	G30**	G45**	G60*	U30*	U45**	U60	P	OT	E	Formaldehit
<i>E. coli</i>	3±1,41 ^{Ba}	8,5±0,71 ^{Aa}	4,5±0,71 ^{Ba}	6,5±3,54 ^{Ba}	8,5±2,12 ^{Ba}	8±2,83 ^{Ba}	0	20	0	—
<i>E. faecalis</i> **	2,5±0,71 ^{Bc}	10,5±2,12 ^{Aa}	4±1,41 ^{Bc}	5±1,41 ^{Bbc}	5,5±0,71 ^{BCbc}	7,5±0,71 ^{Bab}	22	13	18	—
<i>B. subtilis</i> **	6,5±0,71 ^{Abc}	3,5±0,71 ^{BCc}	10±2,83 ^{Aab}	13±2,83 ^{Aa}	14,5±0,71 ^{Aa}	13±1,41 ^{Aa}	39	28	35	—
<i>S. aureus</i> *	8±1,41 ^{Ab}	5,5±0,71 ^{Bb}	5,5±2,12 ^{Bb}	5,5±0,71 ^{Bb}	7±1,41 ^{BCb}	10,5±0,71 ^{ABa}	47	30	34	—
<i>P. aeruginosa</i> **	1,5±0,71 ^{Bb}	2,5±0,71 ^{Cb}	2,5±0,71 ^{Bb}	4±1,41 ^{Bb}	7±1,41 ^{BCa}	7,5±0,71 ^{Ba}	0	12	0	—
<i>L. monocytogenes</i> *	2,5±0,71 ^{Bb}	3,5±0,71 ^{BCb}	4±1,41 ^{Bb}	4±1,41 ^{Bb}	4,5±0,71 ^{Cb}	10±2,83 ^{ABa}	0	0	0	—
Mantarlar										
<i>C. albicans</i> **	1±0,00 ^c	2,5±0,71 ^{bc}	1,5±0,71 ^{bc}	5±2,83 ^{ab}	7,5±0,71 ^a	8±1,41 ^a	—	—	—	10
<i>A. brasiliensis</i>	■	■	■	■	■	■	—	—	—	10

Değerler; ortalama ± standart sapma, (**) $p<0.01$ düzeyinde önemli, (*) $p<0.05$ düzeyinde önemli. A-C Büyük harfler aynı sütundaki gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir. a-c Küçük harfler aynı satırdaki gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir. (—): Test edilmedi, (■): Zon oluşmadı, P: Penicilin G (P10) 10 µg/disk (Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotik), OT: Oxytetracycline (OT 30) 30 µg/disk (Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotik), E: Erythromycin (E15) 15 µg/disk (Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotik), G30; *G. verrucosa* makroalginden 30 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt, G45; *G. verrucosa* makroalginden 45 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt, G60; *G. verrucosa* makroalginden 60 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt, U30; *U. rigida* makroalginden 30 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt, U45; *U. rigida* makroalginden 45 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt, U60; *U. rigida* makroalginden 60 °C sıcaklık uygulanarak elde edilen özüt

E. coli bakteri türünde oluşan inhibisyon zonlarına göre gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Gruplar arasında *E. feacalis*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* türü için $p < 0.01$, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* türü için $p < 0.05$ önem düzeyinde farklılık olduğu istatistiki olarak belirlenmiştir. *E. feacalis* için; G45, *B. subtilis* için; *U. rigida* makroalg türüne ait tüm gruplar, *S. aureus* için; U60, *P. aeruginosa* için; U45 ve U60, *L. monocytogenes* için; U60, *C. albicans* için; U45 ve U60 en yüksek aktivite gösteren özütler olarak tespit edilmiştir. *A. brasiliensis* türüne ait hiç bir grupta zon oluşumu gözlenmemiştir. Pozitif kontrol olarak, bakteriler için antibiyotikler (P, OT ve E) ve mantarlar için formaldehit kullanımı sonucu oluşan zonların çapları verilmiştir (Tablo 1).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde deniz makroalglerinin pek çok türünün antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (El-Baky vd., 2009; Gerasimenko vd., 2010; Gupta vd., 2010). Bazı çalışmalarda, makroalglerin antibakteriyel aktiviteleri üzerine farklı organik çözücülerin de etkileri araştırılmıştır (Sastri ve Rao, 1994; Tüney vd., 2006; Seenivasan vd., 2010; Salem vd., 2011). Her makroalg türünün içeriğinin birbirinden farklı olması nedeniyle, en az cins düzeyinde aynı olan makroalglerin antimikrobiyal aktiviteleri ile bizim sonuçlarımızın tartışması yapılmıştır.

Araştırmamızda, *G. verrucosa* ve *U. rigida* makroalglerinden farklı sıcaklıklarda elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri mikroorganizma türüne ve özüt çeşidine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *E. feacalis* için; 45°C sıcaklıkta sağlanan *G. verrucosa* özütü, *B. subtilis* için; *U. rigida* makroalg türüne ait tüm gruplar, *S. aureus* için; 60°C sıcaklıkta elde edilen *U. rigida* özütü, *P. aeruginosa* için; 45°C ve 60°C sıcaklıkta elde edilen *U. rigida* özütleri, *L. monocytogenes* için; 60°C sıcaklıkta elde edilen *U. rigida* özütü, *C. albicans* için; 45°C ve 60°C sıcaklıkta elde edilen *U. rigida* özütlerinin yüksek aktivite gösteren özütler olarak belirlenmiştir. *A. brasiliensis* türüne ait hiç bir grupta zon oluşumu belirlenmemiştir.

Kandhasamy ve Arunachalam (2008), Hindistan'ın güneydoğu sahillerinden topladıkları yeşil algler (*Caulerpa racemosa* ve *Ulva lactuca*), kırmızı algler (*Gracilaria folifera* ve *Hypneme muciformis*) ve kahverengi algler (*Sargassum myricocystum*, *Sargassum tenneerimum* ve *Padina tetrastomatica*)'e ait metanol ekstraktlarının gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı in-vitro antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmada, yeşil alglere ait üyelerin, test edilen alglerin diğer üyelerinden daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergiledikleri belirlenmiştir. *Ulva lactuca* ve *Gracilaria folifera* metanol ekstraktlarının (10 µL/disk) antibakteriyel aktiviteleri *Pseudomonas aeruginosa* (13±0.78 mm, 13±0.65 mm), *Enterococcus faecalis* (12±0.83 mm, 14±0.51 mm), *Staphylococcus aureus* (17±0.38 mm, 14±0.32 mm), *Bacillus*

subtilis (14±0.51 mm, 12±0.31 mm) bakterilerine karşı test edilmiş ve antibakteriyel aktivite değerleri belirlenmiştir.

El-Baky vd. (2009), *Ulva lactuca* ekstraktlarının doğal koruyucu madde olarak kullanımını araştırmışlardır. Antibakteriyel aktiviteyi kağıt disk difüzyon yöntemi ile 4 adet gram pozitif ve 2 adet gram negatif bakteri kullanarak test etmişlerdir. Kağıt diske üç farklı konsantrasyonda (1, 2 ve 4 mg/her disk için) *Ulva lactuca* ekstraktı emdirilmiştir. Her kağıt diske 1, 2 ve 4 mg eklenen ekstraktların oluşturmuş olduğu inhibisyon zonu sırasıyla; *Bacillus cereus* için; 8, 12 ve 15 mm, *Bacillus subtilis* için; 9, 13 ve 16 mm, *Staphylococcus aureus* için; 8, 12 ve 15 mm, *Micrococcus luteus* için; 9, 12 ve 15 mm, *Serratia marcescens* için; 10, 14 ve 17 mm, *Klebsiella pneumoniae* için 11, 14 ve 17 mm olarak belirlemişlerdir. *Ulva lactuca* ekstraktları kloramfenikol antibiyotiği ile kıyaslandığında ise ticari olarak kullanılan bu antibiyotik kadar etkili olmadığı ancak ekstraktların antibakteriyel aktivitesinin kullanılan doza bağlı olarak arttığını belirtmişlerdir.

Kolanjinathan vd (2009), *Gracilaria edulis*'in etanol ekstraktlarını *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus feacalis* ve *Bacillus cereus* olmak üzere toplam 6 patojen bakteriye karşı çalışmışlardır. *Gracilaria edulis*'in etanol ekstraktlarının *Bacillus cereus* ve *Enterobacter aerogenes* hariç tüm test mikroorganizmalarının büyümesini engellediğini belirlemişlerdir. *Gracilaria edulis*'in etanol ekstraktları, *Staphylococcus aureus*'a karşı 13.7 mm ile maksimum, *Enterobacter aerogenes*'e karşı 3.1 mm ile minimum zonu oluşturmuştur.

Mansuya vd (2010), yeşil alglerden; *Cladophora glomerata*, *Ulva lactuca*, *Ulva reticulata*, kırmızı alglerden; *Gracilaria corticata*, *Kappaphycus alvarezii* ve kahverengi alglerden; *Sargassum wightii* ekstraktlarının kuyu difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivitesini çalışmışlardır. Maksimum aktivite (45 mm) *Ulva reticulata* su ekstraktının 200 mg'ı *Salmonella typhi*'ye karşı, minimum aktivite (9 mm) ise *Ulva lactuca* su ekstraktının 50 mg'ı *Streptococcus pyogenes*'e karşı kayıt edilmiştir. Metanol ekstraktlarının su ekstraktlarından daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Maksimum aktivite (40 mm) *Escherichia coli* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı *Ulva reticulata*'nın metanol ekstraktının 200 mg'ında belirlenmiştir. Alglerin tamamının ham metanol ekstraktları tüm test patojenlerine karşı engelleyici etki göstermiş ve *Ulva reticulata* ekstraktının en etkili tür olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, *Ulva reticulata*'nın su ekstraktının *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı engelleyici etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Christobel vd (2011), Hindistan'ın güneybatı sahillerinden toplanan 7 makroalg türünün su ekstraktlarının 10 patojenik bakteri suşuna ait antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Test edilen bakteri isolatlarının %70'ine karşı en yüksek aktiviteyi *Ulva fasciata*, *Gracilaria corticata*, *Sargassum wightii* ve *Padina tetrastomatica*'nın gösterdiğini bildirmişlerdir.

Maksimum engelleme zonu kırmızı alg türü *Gracilaria corticata*'nın *Proteus mirabilis* (17 mm)'e karşı olduğu tespit edilmiştir. *Ulva fasciata* ve *Gracilaria corticata*'nın su ekstraktının sırasıyla; *S. aureus* (9-10/9-11 mm), *B. subtilis* (7-9/7-10 mm), *P. aeruginosa* (8-11/10-12 mm) ve *E. coli* (7-9/7-10 mm)'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir.

Ertürk ve Taş (2011), Türkiye'de Vona kıyısından toplanan yeşil algler (*Cladophora glomerata*, *Enteromorpha linza*, *Ulva rigida*), kahverengi algler (*Cystoseira barbata*, *Padina pavonica*) ve kırmızı alglerden (*Corallina officinalis*, *Ceramium ciliatum*) toplam yedi deniz alg türünden elde ettikleri etanol ekstraktlarını altı bakteri ve iki fungusu karşı in-vitro koşullarda antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini kağıt disk-difüzyon metodu ile değerlendirmişlerdir. *Ulva rigida*'nın etanol ekstraktının *E. coli* (11 mm), *B. cereus* (10 mm), *S. aureus* (15 mm), *S. typhimurium* (15 mm), *L. monocytogenes* (10 mm), *P. aeruginosa* (14 mm), *Candida albicans* (12 mm) ve *Aspergillus niger* (12 mm)'e karşı yani test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Zbakh vd (2012), Akdeniz'in Morocco sahillerinden toplanan 20 makroalg türünün (9 yeşil alg, 3 kahverengi alg ve 8 kırmızı alg) metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı test etmişlerdir. Kırmızı alglere ait çalışılan türlerin test edilen 3 bakteri suşunun büyümesini engellediği ve 20-24 mm arasında zon oluşturduğu belirlenmiştir. Test edilen algler arasında 17 tanesinin antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Ulva lactuca*, *Gracilaria bursa-pastoris* ve *Chaetomorpha linum* ekstraktlarının en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. 15 ekstrakt (%75) *Staphylococcus aureus*'a, 7 ekstrakt (%35) *E. coli*'ye ve 2 ekstraktın (%10) *Enterococcus faecalis*'e karşı hayli aktif engelleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir. *Ulva rigida*'nın metanol ekstraktının ise test edilen tüm suşlara karşı engelleyici etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Ghanthikumar vd (2012), 6 adet bakteriyel insan patojeni üzerine, 6 denizel makroalgın metanol ve toluol ekstraktlarının antibakteriyel etkilerini disk difüzyon yöntemine göre çalışmışlardır. *Gracilaria pygmaea*'nın metanol ekstraktları, *Salmonella typhimurium* (1.5 mm), *Escherichia coli* (2.3 mm), *Klebsiella pneumoniae* (0.9 mm), *Staphylococcus aureus* (0.8 mm)'a karşı antibakteriyel etki gösterirken, *Bacillus subtilis* ve *Proteus vulgaris*'e karşı aktivite göstermediği tespit edilmiştir. *Gracilaria pygmaea*'nın toluol ekstraktları, *B. subtilis* (1 mm), *K. pneumoniae* (1 mm), *E.coli* (1 mm) ve *P. vulgaris* (0.7 mm)'e karşı antibakteriyel etki gösterirken *S. aureus* ve *S. typhimurium*'a karşı antibakteriyel etki göstermediği belirlenmiştir. *Ulva fasciata*'nın metanol ekstraktları *B. subtilis* (0.7 mm), *E. coli* (1 mm), *K. pneumoniae* (0.7 mm) ve *P. vulgaris* (1.2 mm)'e karşı antibakteriyel etki gösterirken, *S. aureus* ve *S. typhimurium*'a karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir. *Ulva fasciata*'nın toluol ekstraktı; *B. subtilis* (0.8 mm), *E. coli* (1.3 mm), *K. pneumoniae* (1.2 mm), *S. aureus* ve *S. typhimurium* (0.8 mm)'e karşı antibakteriyel etki gösterirken, *P. vulgaris*'e karşı antibakteriyel etki göstermediği

belirlenmiştir. Çalışmada sağlanan sonuçlara göre; bu makroalg ekstraktlarının test edilen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir.

Priyadharshini vd (2011), *Ulva fasciata*'nın butanol, metanol ve su ekstraktlarının balık patojenlerine (*Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus sp.*, *Vibrio alginolyticus*, *Enterobacter sp.*, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* ve *Candida sp.*) karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. *Vibrio alginolyticus*'a karşı maksimum (16 mm), *Enterobacter sp.*'ye karşı minimum (12 mm) engelleme zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Ulva fasciata*'nın fungal patojenlere karşı daha zayıf aktivite gösterdiği bildirilmektedir. *Aspergillus niger* ve *Candida sp.* mantarlarına karşı antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Varier vd (2013), kırmızı alglerin (*Gelidiella acerosa*, *Gracilaria verrucosa* ve *Hypnea musciformis*) ham ekstraktlarını gram pozitif (*Salmonella paratyphi*, *Enterococcus aerogenes* ve *Staphylococcus epidermidis*) ve gram negatif (*Salmonella typhi* ve *Shigella flexneri*) bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Makroalglerin ekstraksiyonu için metanol, etanol, kloroform ve su çözümleri olarak kullanılmıştır. *Gracilaria verrucosa*'nın kloroform ekstraktlarının *Salmonella paratyphi*'ye karşı en yüksek inhibisyon zonunu (21 mm) oluşturduğu rapor edilirken su ekstraktlarının hiçbirinin antibakteriyel aktivite göstermediği belirlenmiştir. Makroalglerin tümü, seçilen bu patojen bakterilere karşı potansiyel bir antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceği bildirilmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile diğer araştırmacıların sonuçları arasında, kullanılan makroalg tür farklılığı, özütün elde edilme yöntemi, özütün kimyasal içeriği, çözücü çeşidi, kullanılan mikroorganizma türü veya aynı türün farklı suşlarının kullanılması, farklı metot kullanılması gibi nedenlerden dolayı makroalg özütleri farklı antimikrobiyal kapasiteye sahip olabilmektedir (Elnabris vd., 2013; Ramalingam ve Amutha, 2013). Bu çalışmada, farklı sıcaklıklarda elde edilen *U. rigida* ve *G. verrucosa* makroalglerinin etanol özütlerine ait tüm grupların test edilen bakterilerin tamamına karşı antibakteriyel etki gösterdiği, *C. albicans* mantarına karşı özütlerin zon oluşturduğu, *A. brasiliensis* mantarına karşı zon oluşturmadığı saptanmıştır. *E. coli*, *E. faecalis* ve *S. aureus*'a karşı oluşturulan direncin *U. rigida* ve *G. verrucosa* özüt grupları arasında istatistiksel olarak farklılık göstermediği, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* ve *C. albicans* için oluşturulan direncin *U. rigida* ve *G. verrucosa* özüt grupları arasında istatistiksel açıdan farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı, farklı sıcaklık uygulaması ile sağlanan özütlerde tespit edilen zonlar arasında istatistiksel açıdan farkların önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Pozitif kontrol olarak kullanılan penisilin (47 mm) ve oksitetrasiklin (30 mm) ticari antibiyotiklerine karşı en yüksek

direncin *S. aureus*, eritromisin ticari antibiyotiğine karşı ise en yüksek direncin *B. Subtilis*(35 mm) bakteri suşuna karşı olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızda kullanılan makroalg özütlerinin, özellikle *E. feacelis*, *B. subtilis* ve *S. aureus* bakterileri üzerine bu ticari antibiyotikler kadar etkili olmadığı ancak diğer çalışmalarda ifade edildiği gibi özütlerin aktivitesinin ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan doz artışına

KAYNAKÇA

- Akköz, C., Arslan, D., Ünver, A., Özcan, M.M. & Yılmaz, B. (2011). Chemical composition, total phenolic and mineral contents of *Enteromorpha intestinalis* (L.) kütz. and *Cladophora glomerata* (L.) kütz seaweeds. *Journal of Food Biochemistry*, 35: 513-523. doi: 10.1111/j.1745-4514.2010.00399.x
- Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2 (4): 498-503. doi: 10.4236/oalib.1100752
- Cirik, Ş. & Cirik, S. (1999). Su Bitkileri (Deniz Bitkilerinin Biyolojisi Ekolojisi Yetiştirme Teknikleri). Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:58 Ders Kitabı Dizini: 26, İzmir.
- Cirik, Ş. (2001). Gökova Körfezi Deniz Bitkileri. D.E.U. Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Enstitüsü, Piri Reis Yayınları No:3, İzmir.
- Cox, S., Abu-Ghannam, N. & Gupta, S. (2009). An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*, 17 (1): 205-220.
- Christobel, G.J., Lipton, A.P., Aishwarya, M.S., Sarika, A.R. & Udayakumar, A. (2011). Antibacterial activity of aqueous extract from selected macroalgae of southwest coast of India. *Seaweed Research and Utilization*, 33 (1-2): 67-75.
- De Almeida Mendes, M.S. (2012). Functional activity of seaweed extracts from north Portuguese coast. Universidade Católica Portuguesa, Escola Superior de Biotecnologia, Mikrobiyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2012, Porto/ Portekiz, 49 s.
- Denis, C., Morançais, M., Li, M., Deniaud, E., Gaudin, P., Wielgosz-Collin, G., Bamathan, G., Jaouen, P. & Fleurence, J. (2010). Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France). *Food Chemistry*, 119 (3): 913-917. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.07.047
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. & Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistikli). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:1021, Ankara, 381 s.
- El-Baky, H.H.A., El-Baz, F.K. & El-Baroty, G.S. (2009). Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (9): 1688-1695. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.01926.x
- Elnabris, K.J., Elmanama, A.A. & Chihadeh, W.N. (2013). Antibacterial activity of four marine seaweeds collected from the coast of Gaza Strip, Palestine. *Mesopotamian Journal of Marine Science*, 28 (1):81-92.
- Espeche, M.E., Fraile, E.R. & Mayer, A.M.S. (1984). Screening of Argentine marine algae for antimicrobial activity. *Hydrobiologia*, 116/117: 525-528.
- Ertürk, Ö. & Taş, B. (2011). Antibacterial and antifungal effects of some marine algae. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17 (Supl A): S121-S124. doi: 10.9775/kvfd.2010.2539
- Gerasimenko, N.I., Chaykina, E.L., Busarova, N.G. & Anisimov, M.M. (2010). Antimicrobial and hemolytic activity of low-molecular metabolites of brown seaweed *Laminaria cichorioides* (Miyabe). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46 (4): 426-430. doi: 10.1134/S0003683810040113
- Ghanthikumar, S., Vanila, D., Masillamani, A. & Kanthasamy, R. (2012). Antibacterial activity of some seaweeds. *Applied Biology and Biotechnology*, 1 (1): 1-5.
- Gupta, S., Rajauria, G. & Abu-Ghannam, N. (2010). Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds.

bağlı olarak artabileceğinin göz önünde bulundurulması gerektiğini düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2012.03.0121.003 numaralı doktora tez projesi ile desteklenmiştir.

International Journal Food Science and Technology, 45: 482-489. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02149.x

- Gupta, S., Cox, S., Rajauria, G., Jaiswal, A.K. & Abu-Ghannam, N. (2012). Growth inhibition of common food spoilage and pathogenic microorganisms in the presence of brown seaweed extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (5): 1907-1916. doi:10.1007/s11947-010-0502-6
- Horie, S., Tsutsumi, S., Takada, Y. & Kimura, J.(2008). Antibacterial quinone metabolites from the brown alga, *Sargassum sagamianum*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 81 (9): 1125-1130. doi: 10.1246/bcsj.81.1125
- Hosokawa, M., Bhaskar, N., Sashima, T. & Miyashita, K. (2006). Fucoxanthin as a bioactive and nutritionally beneficial marine carotenoid: a review. *Carotenoid Science*, 10: 15-28.
- Kandhasamy, M. & Arunachalam, K.D. (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, 7 (12): 1958-1961.
- Kaykaç, G.O. (2007). Bazı alg türlerinin (*Cystoseira barbata*, *Ulva rigida* ve *Gracilaria verrucosa*) tatlarında etkili olan aminoasitlerin mevsimsel değişimi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2007, Çanakkale, 62 s.
- Kolanjinathan, K., Ganesh, P. & Govindarajan, M. (2009). Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13 (3): 173-177.
- Mabeau, S. & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 4 (4): 103-107.
- Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar J.S. & Babu, S. (2010). Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar region. *Journal of Experimental Sciences*, 1 (8): 23-26.
- Matsukawa, R., Dubinsky, Z., Kishimoto, E., Masaki, K., Masuda, Y. & Takeuchi, T. (1997). A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 9: (1), 29-35. doi: 10.1023/A:1007935218120
- Nagayama, K., Iwamura, Y., Shibata, T., Hirayama, I. & Nakamura, T. 2002. Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *Journal of Antimicrobiology Chemother*, 50 (6): 889-893. doi: 10.1093/jac/dfk222
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1993). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard NCCLS Publication M2-A5, Villanova, PA, USA.
- Padmini Sreenivasarao, P. (1991). Biological investigation of Indian marine algae and screening of some green, red and brown sea weeds for their antimicrobial activity. *Seaweed Research Utilization*, 14 (1):37-43.
- Priyadarshini, S., Bragadeeswaran, S., Prabhu, K. & Sophia Ran, S. (2011). Antimicrobial and hemolytic activity of seaweed extracts *Ulva fasciata* (Delile 1813) from Mandapam, Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1 (Supl 1): S38-S39. doi:10.1016/S2221-1691(11)60118-4
- Radhika, D., Veerabahu, C. & Priya, R. (2012). Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar coast, South India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5 (4): 89-90.

- Ramalingam, A. & Amutha, C. (2013). Antibacterial activity of four seaweeds collected from Thondi Coast, Tamilnadu, India. *International Journal of Research in Biological Sciences*, 3 (1): 60-64.
- Rodriguez-Bernaldo De Quiros, A., Frecha-Ferreiro, S., Vidal-Perez, A.M. & Lopez-Hernandez, J. (2010). Antioxidant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research Technology*, 231: 495-498. doi: [10.1007/s00217-010-1295-6](https://doi.org/10.1007/s00217-010-1295-6)
- Salem, W.M., Galal, H. & Nasr El-Deen, F. (2011). Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt). *African Journal Microbiology Research*, 5 (15): 2160-2167.
- Sastry, V.M.V.S. & Rao, G.R.K. (1994). Antibacterial substances from marine algae: successive extraction using benzene, chloroform and methanol. *Botanica Marina*, 37 (4): 357-360. doi: [10.1515/botm.1994.37.4.357](https://doi.org/10.1515/botm.1994.37.4.357)
- Seenivasan, R., Indu, H., Archana, I.G. & Geetha, S. (2010). The antibacterial activity of some marine algae from South East coast of India. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Sciences*, 9 (5): 480-489.
- Srivastava, N., Saurav, K., Mohanasrinivasan, V., Kannabiran, K. & Singh, M. (2010). Antibacterial potential of macroalgae collected from the Madappam coast, India. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 1 (2): 72-76.
- Tüney, İ., Çadirci, 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: 171-175.
- Varier, K.M., Milton, M.C.J., Arulvasu, C. & Gajendran, B. (2013). Evaluation of antibacterial properties of selected red seaweeds from Rameshwaram, Tamil Nadu, India. *Journal of Academia and Industrial Research*, 1 (11): 667-670.
- Venugopal, V. (2009). Marine products for healthcare. Functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. CRS press, Taylor and Francis group, pp. 527, Boca Raton, FL.
- Watson, S.B. & Cruz-Rivera, E. (2003). Algal chemical ecology: an introduction to the special issue. *Phycologia*, 42 (4): 319-323. doi: [10.2216/i0031-8884-42-4-319.1](https://doi.org/10.2216/i0031-8884-42-4-319.1)
- Ye, H., Zhou, C., Sun, Y., Zhang, X., Liu, J., Hu, Q. and Zeng, X. 2009. Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research Technology*, 230: 101-109.
- Yerlikaya, P. & Gökoğlu, N. (2010). Effect of previous plant extract treatment on sensory and physical properties of frozen bonito (*Sarda sarda*) filets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10: 341-349. doi: [10.4194/trjfas.2010.0306](https://doi.org/10.4194/trjfas.2010.0306)
- Yuan, Y.V. (2008). Marine Algal Constituents. In: C. Barrow and F. Shahidi (Eds.), *Marine Nutraceuticals and Functional Foods*, CRC Taylor and Francis Press Inc., pp. 259-296, Boca Raton, FL.
- Zaragoza, M.C., Lopez, D., Saiz, M.P., Poquet, M., Perez, J., Puig-Parellada, P., Marmol, F., Simonetti, P., Gardana, C., Lerat, Y., Burtin, P., Inisan, C., Rousseau, I., Besnard, M. & Mitjavila, M.T. (2008). Toxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of two *Fucus vesiculosus* extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (17): 7773-7780. doi: [10.1021/jf8007053](https://doi.org/10.1021/jf8007053)
- Zbakh, H., Chiheb, H., Bouziane, H., Sánchez, V.M. & Riadi, H. (2012). Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the Mediterranean coast of Morocco. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2 (1): 219-228.