

***Spirulina platensis* (Cyanophyceae) Mikroalg'inin Büyümesine ve Bazı Biyokimyasal Özelliklerine Sıcaklığın Etkisi**

Edis Kuru, Semra Cirik

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova, İzmir

Abstract: *The effects of temperature on growth and some biochemical characteristics of microalgae Spirulina platensis (Cyanophyceae).* Blue-green algae *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) have found world-wide interest as photosynthetic planktonic organism suitable for mass production. It can be an alternative source of protein for human food and feed purposes, with the possibility of obtaining other products like pigments (carotenoids, phycocyanin and chlorophyll), vitamins and lipids. The biomass can be introduced directly in the diet and it can also be used in case of malnutrition. In this study, *S. platensis* was grown in continuous culture under constant light (2000 lux), and temperatures to examine how its metabolism was influenced by high growth temperatures between 28°C to 45°C at laboratory system. Elevated temperatures determined changes in filament morphology, growth rates, macromolecular composition, lipid and fatty acid composition. At 43°C a significant decrease in the protein content (20%), a considerable increase of lipids (45%) and carbohydrates (32%) were observed. Finally, the biochemical characteristics and growth of *S. platensis* was relatively stable up to 35°C and this indicate that *S. platensis* requires for its mass production

Key Words: *Spirulina*, optimal temperature, growth, biochemical characteristics.

Özet: Mavi-yeşil alg *Spirulina platensis* (=Arthrospira), yoğun üretime uygun, fitoplanktonik bir organizmadır. Protein, karotenoid, fikosiyenin ve klorofil gibi pigmentleri, vitamin ve yağları içerdiğinden, insan gıdası ve beslemede alternatif bir gıda olarak kullanılır. Çalışmada, laboratuvar koşullarında *S. platensis*'in 2000 lux ışık şiddetinde ve 28°C'den 45°C'ye kadar olan sıcaklıklarda büyümesi ve metabolizmanın etkilenmesi araştırıldı. Sıcaklık artırılarak filamentlerin morfolojisindeki, büyümesindeki, makromoleküler yapısındaki, yağ ve yağ asitleri içeriklerindeki değişimler araştırıldı. Su sıcaklığı 43°C olduğunda, protein içeriğinde %20 gibi önemli bir azalma, yağlarda %45 ve karbonhidratta %32 artma gözlemlendi. *S. platensis*'in yoğun üretiminde biyokimyasal özelliklerinin ve büyümenin 35°C sıcaklıkta en uygun olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina*, uygun sıcaklık, büyüme, biyokimyasal özellikler.

Giriş

Spirulina platensis (Gom.) Geitler (=Arthrospira), en fazla kültürü yapılan, kozmetikte, tıpta, insan ve hayvan gıdası olarak çeşitli sanayi alanlarında yaygın olarak kullanılan *Cyanophyceae* (Mavi-yeşil Algler) sınıfından ipliksi, spiral şekilli bir prokaryotik organizmadır. Mikroalgler, farklı kimyasal ve biyolojik bileşikleri üretme özelliği nedeniyle önemli

organizmalardır. Vitaminler, pigmentler, proteinler, mineraller, lipid ve polisakkaritler elde edilen başlıca ürünlerdir. Diğer canlı kaynaklarla kıyaslandığında Algler, özellikle doymamış yağ asitleri (PUFA), gamma linoleik asit (GLA), allokikosiyenin, c-fikosiyenin, miksoksantofil ve zeaksantin gibi pigmentler açısından oldukça zengindir (Borowitzka, 1992; Cohen, 1997).

Materyal ve Yöntem

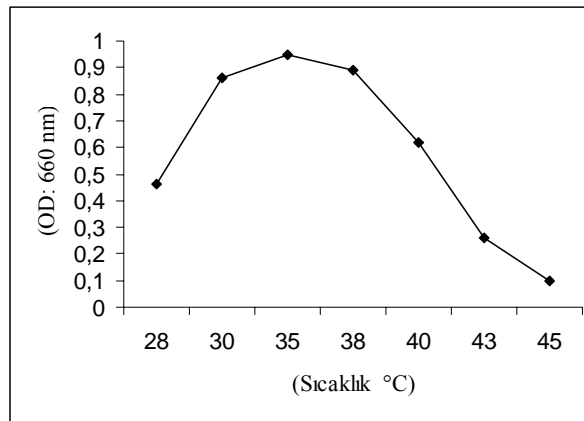
Deney materyali olarak Parachas Gölü'nden izole edilip, Fransa'daki, "Yetersiz Beslenmede Alg Kültürünün Geliştirilmesi Merkezi (ACMA)" laboratuvarından temin edilen *S. platensis* mikroalgi kullanıldı. Kültürün çoğaltılmasında 5 litrelik plastik kaplar, besiyeri olarak Zarrouk kültür ortamı (NaHCO_3 16.8 g/l., K_2HPO_4 0.5 g/l., NaNO_3 2.5 g/l., K_2SO_4 1.0 g/l., NaCl 1.0 g/l., $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.20 g/l., CaCl_2 0.04 g/l., $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/l., EDTA 0.08 g/l.) kullanıldı. Bu ortama A_5 solusyonundan (H_3BO_3 2.86 g/l., $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g/l., ZnSO_4 0.22 g/l., CuSO_4 0.08 g/l., MoO_4 0.01 g/l) 1 ml., B_6 solusyonundan (NH_4VO_3 229×10^{-4} g/l., $\text{K}_2\text{Cr}(\text{SO}_4)_4 \cdot 24 \text{H}_2\text{O}$ 960×10^{-4} g/l., $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 478×10^{-4} g/l., $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 44×10^{-4} g/l.) 1 ml. ilave edildi (Fox,1996). pH 9.7-10.0 olarak sabitlendi. Aydınlatmada 30 W.'lık floresans lambalarla, 2000 lux. ışık şiddeti sağlandı. Denemelerde hücre yoğunluğu 500 mg.l^{-1} kullanıldı.

Analiz için her bir kültürden örnek alınıp, iki defa saf su ile yıkandı ve 8 μm . filtreden geçirildi. Elde edilen biyomas, 70°C sıcaklıkta 5 saat kurutuldu ve hassas terazide tartıldı. Kültür yoğunluğunun

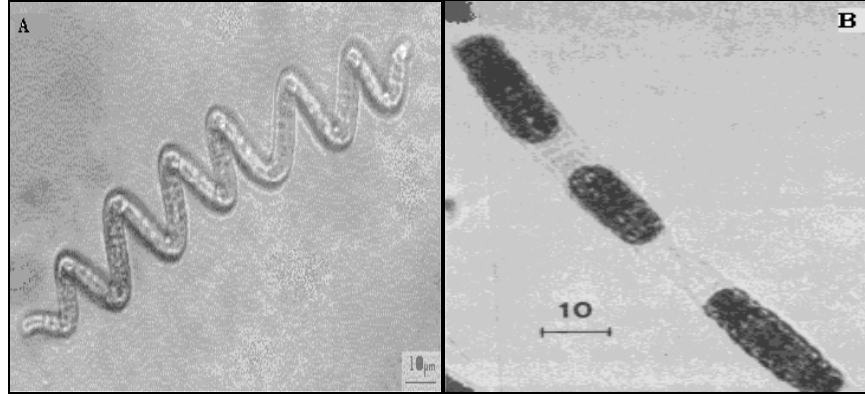
tespitinde, Jenway 6305 UV/Vis spektrofotometresi ve 660 nm. ışık yoğunluğu kullanıldı. Protein analizinde Kjeldhal metodu (AOAC, 1990), karbonhidrat analizinde Dubois *et. al.*, (1956) metodu, ham yağ analizinde Bling ve Dyer (1959) yöntemi uygulandı. Yağ asitleri analizinde, esterleştirmede IUPAC (1987), metod 2.301 soğuk metilasyon yöntemi kullanılarak, metil esterlerine dönüştürülen yağ örneklerinin analizinde, HP 6890 model gaz kromatografisi (GC) cihazı kullanıldı.

Bulgular

Spirulina platensis, farklı sıcaklıklarda farklı spesifik büyüme oranı göstermektedir. Suş için en uygun sıcaklık değeri 35°C olarak tespit edildi. 35°C 'yi geçen sıcaklıklarda, spesifik büyüme oranında azalma gözlemlendi ve $44-45^\circ\text{C}$ sıcaklıkta büyümenin tamamen durduğu görüldü (Şekil 1). En uygun sıcaklık olan 35°C sıcaklıkta, *Spirulina* filamentlerinin, 30°C 'ye oranla daha ince ve zayıf, $37-38^\circ\text{C}$ sıcaklık değerlerinde genişliğinin etkilenmediği saptandı. Sıcaklık 40°C 'den fazla olduğunda, spiral şeklindeki ipliklerin düzleşip, çubuksu bir şekil aldıkları, $44-45^\circ\text{C}$, trikomlarda parçalanma ve hücre yıkımının gerçekleştiği görüldü (Şekil 2).



Şekil 1. Farklı sıcaklıklarda *S. platensis*'in büyüme oranı.



Şekil 2. Sıcaklığın *S. platensis*'in morfolojisine etkisi (A: 35°C; B: 44°C).

Tablo 1. Sıcaklığın *S. platensis*'in makromoleküler içeriğine etkisi.

| Sıcaklık (°C) | Protein (% kuru ağırlık) | Karbonhidrat (% kuru ağırlık) | Yağ (% kuru ağırlık) |
|---------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------|
| 28 | 59.0 | 30.2 | 7.4 |
| 30 | 58.3 | 29.7 | 7.8 |
| 35 | 57.5 | 28.9 | 8.0 |
| 38 | 55.8 | 30.5 | 8.2 |
| 40 | 54.6 | 32.1 | 9.5 |
| 43 | 45.7 | 37.6 | 11.3 |

Tablo 2. Sıcaklığın *S. platensis*'in yağ asitleri içeriğine etkisi.

| Sıcaklık (°C) | 28 | 30 | 35 | 38 | 40 | 43 |
|-----------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Yağ Asitleri | % Kuru ağırlık | | | | | |
| 14:0 | 1.09 | 1.0 | 0.78 | 0.55 | 0.59 | 0.63 |
| 16:0 | 52.68 | 48.90 | 49.8 | 50.0 | 52.38 | 52.10 |
| 16:1n9 | 2.95 | 2.26 | 1.38 | 1.17 | 1.23 | 1.26 |
| 18:0 | 1.93 | 1.5 | 1.59 | 1.75 | 2.78 | 4.5 |
| 18:1n9 | 4.10 | 6.43 | 6.0 | 4.76 | 8.2 | 8.3 |
| 18:2n9 | 10.4 | 10.8 | 11.4 | 12.3 | 12.6 | 13.2 |
| 18:3n6 | 12.63 | 18.53 | 16.91 | 20.63 | 15.64 | 16.09 |
| 18:3n9 | 9.1 | 10.0 | 9.8 | 7.5 | 4.0 | 2.8 |
| 18:3n12 | 5.02 | 0.48 | 2.24 | 1.24 | 2.48 | 1.02 |
| Doymuş Yağ asitleri | 55.7 | 51.4 | 52.17 | 52.3 | 55.75 | 57.23 |
| Doymamış Yağ asitleri | 44.2 | 48.5 | 47.73 | 47.6 | 44.15 | 42.67 |

Tartışma ve Sonuç

Araştırmada *S. platensis* kültürünün 40°C'ye kadar olan sıcaklıktan hücrelerin biyokimyasal yapısının ve büyümelerinin etkilendiği saptanmıştır. Sıcaklık 40°C ve üzerindeki değerlerde gelişmede azalma, ipliklerde düzleşme ve hücre

bozulmalarının başladığı gözlemlendi. *Spirulina* kültürlerinde sıcaklık artışında, klorofil a'daki fikobiliproteinlerin oranı da artar. Bu sebeple 42-43°C sıcaklıkta, *Spirulina* filamentlerinde klorofil a ve fikobiliproteinlerin bozulmasından, ve karotenoidlerin artmasından dolayı 35°C'deki karakteristik mavi-yeşil renk,

yeşile dönüşür (Becker, 1995; Cohen, 1997; Sarada ve diğ., 1998). *Spirulina* hücrelerinin makromoleküler yapısıyla sıcaklık arasında da ilişki vardır. Sıcaklık artışıyla, özellikle 40°C ve üzerindeki sıcaklık değerlerinde, protein değeri azalmakta, buna karşılık yağ ve karbonhidrat değerleri artmaktadır (Cohen, 1997; Koru ve Cirik, 2002). Yaptığımız çalışmalar bu sonuçlara uyum göstermektedir. Araştırmamızda, sıcaklığın artışıyla *S. platensis*'in protein değerinin düştüğü (%20), karbonhidrat (%32) ve yağ (%45) değerlerinin arttığı tespit edildi (Tablo 1); büyümenin de en uygun sıcaklık değeri olan 35-38°C'de gerçekleştiği saptandı. 38°C sıcaklıktan sonra büyümenin azaldığı, 45°C'de ise hücrelerde bozulma ve yıkımın gerçekleştiği gözlemlendi (Şekil 1). Yağ asitleri içeriğine bakıldığında palmitic asit (C 16:0) ve γ -linolenic asit (C18:3 ω 6,9,12) oranının daha baskın olduğu saptandı. γ -linolenic asit değeri sıcaklık artışına bağlı olarak azalmaktadır. Palmitic asit değerlerinin fazla değişmediği gözlemlendi. Doymamış yağ asidi değerlerinde de pek fazla bir değişiklik olmamakta, doymuş yağ asit değerleri en yüksek 30-38°C'de bulundu. Daha yüksek sıcaklıkta *Spirulina* hücrelerindeki yıkıma bağlı olarak yağ asitleri değerleri de azalmaktadır. Araştırmada, *Spirulina* yetiştiriciliğinde sıcaklığa bağlı olarak en uygun büyüme/biyokimyasal içerik oranı 35°C sıcaklıkta sağlandığı tespit edildi.

Kaynakça

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of

- the Association of Official Analytical Chemists, 15 th. Edition, (Ed) Williams, S., Arlington, Virginia.
- Bling, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification, Canadian Journal Biochemistry Physiol., 37:911-1015.
- Borowitzka, M:A., 1992. Vitamins and fine chemicals from micro-algae, In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J.(Eds), Micro-Algal Biotechnology, Cambridge University Pres, UK, 158-195 p.
- Becker, E.W., 1995. Microalgae: Biotechnology and microbiology, Cambridge University Press, UK, 293 p.,
- Cohen, Z., 1997. The Chemicals of *Spirulina*, p.175-204. In: Vonshak, A (Ed.) *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cellbiology and Biotechnology, Taylor& Francis Ltd.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Analytical Chemistry 28, 350-355.
- Fox, D.R., 1996. *Spirulina*: Production and Potential, 232 p., Edisud-France.
- IUPAC, 1987. Standart Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives, IUPAC Method 2.301, In: International Union of Pure and Applied Chemistry, 7th Ed. Blackwell Scientific Publications
- Koru, E., Cirik, S., 2002. Biochemical Composition of *Spirulina* Biomass In Open-Air System, 1stInternational Congress on the Chemistry of Natural Products 16-19 October, ICNP 2002, Trabzon.
- Sarada, R., Pillai, M.G., Ravishankar, G.A., 1998. Phycocyanin from *Spirulina* sp: Influence of Processing of Biomass on Phycocyanin Yield, Analysis of Efficiency of Extraction Methods and Stability Studies on Phycocyanin, Process Biochemistry, 34:795-801.