

## ***Arthrospira platensis* (Natron Gölü/Çad), *Arthrospira maxima* (Natron Gölü/Çad) ve *Arthrospira platensis* (Parachas Gölü/Peru)'in Suşlarının Büyüme Özelliklerinin Karşılaştırılması**

**Edis Koru**

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

### **ÖZET**

Bu çalışmada *Arthrospira platensis* (Parachas Gölü/Peru), *Arthrospira platensis* (Natron Gölü/Çad) ve *Arthrospira maxima* (Natron Gölü/Çad)'nın yoğun üretimin ilk basamağı olan laboratuvar koşullarındaki büyüme dinamikleri incelenmiştir. Deneme ortamı olarak saf suyla hazırlanan Zarrouk besin ortamı kullanılmıştır. Mikroalg türleri için ortam sıcaklığı 35 °C'ye, pH 9'a, aydınlatma 3000 lux ışık şiddetine ayarlanmış ve sürekli havalandırma yapılmıştır. Türlerin günlük olarak absorbansı spektrofotometre kullanılarak 680 nm'de ölçülmüş ve aynı zamanda Neubauer lamında hücre sayımları yapılmıştır. *Arthrospira platensis*'te (Natron ve Parachas suşu) 180 birim ile başlayan absorbans 14-15. güne kadar 1480 birime, *A. maxima*'da 290 birimle başlayan absorbans değeri 9-10. güne kadar 1190 birime ulaşmış sonraki günlerde azalma gözlenmiştir. Hücre sayıları da biyomasla orantılı olarak artış göstermiştir. Bu sonuçlar her üç türde de absorbans artarken hücre sayısının da arttığını ve aynı zamanda *Arthrospira platensis*'in *A. maxima*'ya göre daha sıcak ortamlarda gelişip üremesini sürdürdüğü göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, mikroalg, biyomas, kültür.

## **Comparison of the Growth Characteristics of *Arthrospira platensis* (Natron Lake/Chad), *Arthrospira maxima* (Natron Lake/Chad) and *Arthrospira platensis* (Parachas Lake/Peru) Strains**

### **ABSTRACT**

This study explores the relation between the growth dynamics on the laboratory conditions which is the first step of mass production of *Arthrospira platensis* (Parachas Lake/Peru), *Arthrospira platensis* (Natron Lake/Chad) and *Arthrospira maxima* (Natron Lake/Chad). Zarrouk medium setting arranged in pure water has been used as experimental setting. The setting temperature for the species of microalgae is 35 °C, pH is 9 and the lighting is fixed to the density of 3000 lux light and continual ventilation has been made. The daily absorbance of the species has been measured in 680 nm through a spektrophotometer, and cell counting has been made in Neubauer counting slide. The absorbance starting with 180 unit in *Arthrospira platensis* (Natron and Parachas water) as reached to the unit of 1480 on the 14<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day, and the value of absorbance starting with 290 unit in *A. maxima* has reached the value of 1190 on the 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> day, and in the following days, decrease has been observed in these values. The number of cells has exhibited increases in line with biomass. These results have demonstrated in each three species that while the absorbance increases, the number of cells also increases and at the same time, *Arthrospira platensis* is capable of sustaining its growth and reproduction at hotter atmospheres when compared to *A. maxima*.

**Key words:** *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, microalgae, biomass, culture.

## GİRİŞ

*Arthrospira* (*Spirulina*), mavi-yeşil alglerden (*Cyanophyceae*) filamentli yapıda bir mikroalgdir. Spiralli hücre yapısından dolayı yaygın olarak *Spirulina* olarak da adlandırılmaktadır. Karbonat veya bikarbonat içeren, pH'ı yüksek, tropik ve yarı tropik sularda yoğun olarak bulunan alglerdendir. Doğada 30 dan fazla türü olup, *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* ve *A. (Spirulina) platensis* yetiştiriciliği en çok yapılan iki türüdür. *Spirulina* türleri önemli bir protein kaynağı olduğundan ticari olarak büyük miktarlarda üretilmekte ve yaygın olarak tüketilmektedir. Günümüzde başta Amerika olmak üzere Japonya, İsrail, Tayvan ve Tayland gibi ülkelerde büyük hacimlerde kültürü yapılmakta ve pazara sunulmaktadır (Borowitzka, 1999; Richmond, 2000; Cost ve ark., 2001).

*Arthrospira* içerdiği yüksek protein, vitaminler, yağ asitleri, pigmentler ve daha bir çok değerli metabolit bakımından önemli bir türdür. Düşük nükleik asit yüzdesi, zengin vitamin içeriği ve tokluk hissi vermesi nedeniyle kilo vermeye son 20 yılda yaygın olarak kullanılan doğal besin maddelerinden biri olmuştur. Bu bakımdan özellikle yaşlılar, çocuklar ve mide rahatsızlığı olanlar için çok iyi bir besin desteğidir. Ayrıca hayvan yemlerinde ve akvakültürde balık beslemede yoğun şekilde kullanımı da söz konusudur (Cifferi, 1983; Belay ve ark., 1996).

Mikroalg kültüründe çevresel şartlara dayanıklı, besin içeriği yüksek, laboratuvar şartlarına kolay adapte olabilen ve hızlı gelişen türlerin yetiştiriciliği önemlidir. Ticari ve yoğun mikroalg üretiminde çevresel şartlara bağlı olarak, doğal ortamdan izole edilen alg türlerinin adaptasyonu ve büyüme dinamiklerinin bilinmesi başarılı bir üretimin yapılabilmesindeki ilk basamaklardır.

Mikroalglerin en uygun gelişim göstermesi için gerekli olan ihtiyaçlar türlere göre farklılık göstermektedir. *Spirulina*'nın gelişmesi için yüksek alkalinite şarttır. Bununla birlikte aydınlatma düzeni, sıcaklık, besin ortamı gibi faktörlerde etkilidir. Bu çalışmada, Türkiye'de ticari üretimi

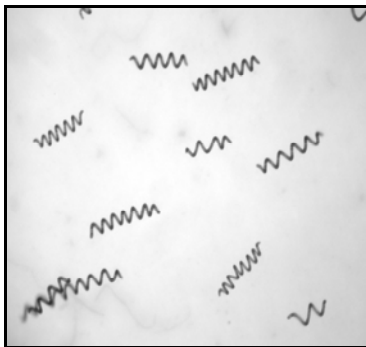
yapılan *Spirulina* mikroalginin farklı bölgelerden izole edilmiş iki farklı türünün, yoğun üretimin ilk basamağı olan laboratuvar koşullarındaki gelişimi araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

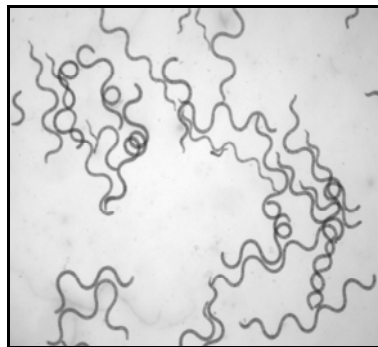
Laboratuvar şartlarında yapılan çalışmada UTEX (Teksas Üniversitesi-A.B.D)'den temin edilen ve E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Plankton Kültür koleksiyonuna katılan mikroalglerden *S. platensis* (Parachas Gölü-Peru), (Şekil 1), *S. platensis* (Natron Gölü-Chad), (Şekil 2) ve *S. maxima* (Natron Gölü-Chad), (Şekil 3) olmak üzere üç farklı suş kullanıldı. Kültür ortamı olarak, *Spirulina* türleri için spesifik olan Zarrouk (1966) besin ortamı kullanıldı; (NaHCO<sub>3</sub> 16.8 g/l., K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g/l., NaNO<sub>3</sub> 2.5 g/l., K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 g/l., NaCl 1.0 g/l., MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.20 g/l., CaCl<sub>2</sub> 0.04 g/l., FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g/l., EDTA 0.08 g/l.). Bu ortama A<sub>5</sub> solusyonundan (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86 g/l., MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1.81 g/l., ZnSO<sub>4</sub> 0.22 g/l., CuSO<sub>4</sub> 0.08 g/l., MoO<sub>4</sub> 0.01 g/l) 1 ml., B<sub>6</sub> solusyonundan (NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> 229x10<sup>-4</sup> g/l., K<sub>2</sub>Cr(SO<sub>4</sub>)<sub>4</sub>·24 H<sub>2</sub>O 960x10<sup>-4</sup> g/l., NiSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 478x10<sup>-4</sup> g/l., Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 44x10<sup>-4</sup> g/l.) 1 ml. ilave edildi (Fox, 1996).

Optik yoğunluk değerleri spektrofotometrede 680 nm'de ölçüldü. Spektrofotometrik ölçümler Optima model 300 marka spektrofotometrede yapıldı. Filament sayısının tespitinde aynalı Neubauer sayma lamı kullanıldı. Denemeler için kullanılan 9 adet, 1 litrelik erlen, cam malzemeler ve besi ortamı 121 °C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika otoklavlandı. Her bir erlene besin ortamı olarak 50 ml Zarrouk ve 50 ml saf su ilave edildikten sonra ortam sıcaklığı 34±1 °C'ye, pH 9'a, aydınlatma 3000 lux ışık şiddetine ayarlandı ve stok kültürlerden alınan 10 ml alg besi ortamına ekildi. Ekim yapıldıktan hemen sonra 680 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı.

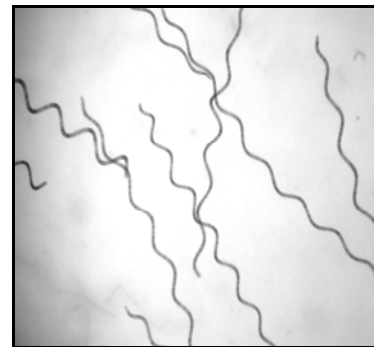
16 gün süren deneme boyunca, *S. platensis* (Parachas), *S. platensis* (Natron) ve *S. maxima* (Natron) türlerinin hücre sayısı ve buna karşılık gelen absorbans değerleri ölçüldü.



Şekil 1. *S. platensis*



Şekil 2. *S. platensis*



Şekil 3. *S. maxima*

### İstatistiksel analiz

Hücre sayısı için parametrik test uygulandı ve Student-Newton-Keuls, Tukey HSD ve Duncan'a göre üç tür arasında farklılık görüldü ( $P \leq 0,05$ ). Absorbans değeri için parametrik olmayan test uygulandı. Kruskal-Wallis testi uygulandı ve Kruskal-Wallis'e göre farklılık görüldü. En farklı değer *Spirulina maxima*'da görüldü ( $P \leq 0,05$ ) (Özdamar, 1997).

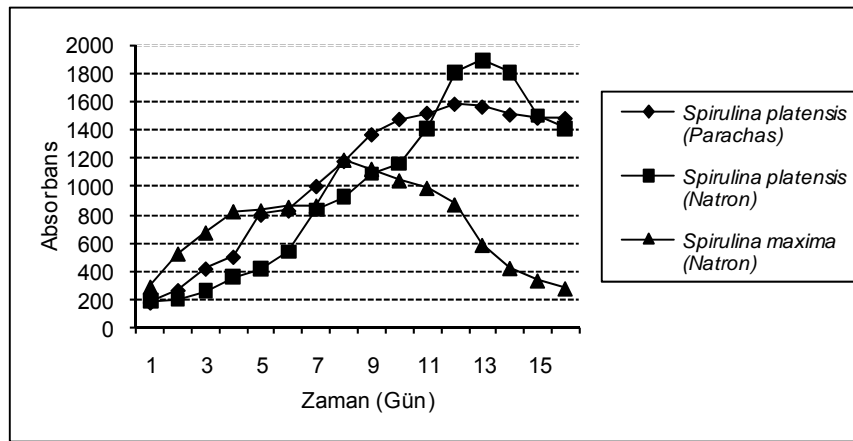
### BULGULAR

Türkiye için yeni olan üç farklı *Spirulina* suşunun büyüme özelliklerinin karşılaştırıldığı bu denemede, kültürlerin gelişimi 17 gün boyunca gözlemlendi. *Spirulina* suşlarının ortama adaptasyonları aşamasında farklılar görüldü. *S. platensis* (Natron suşu) ve *S. platensis* (Parachas suşu) başlangıç absorbans değeri 182 (Şekil 4), *Spirulina maxima*'nın 290 olarak ölçüldü (Şekil 4). *A. maxima* Natron

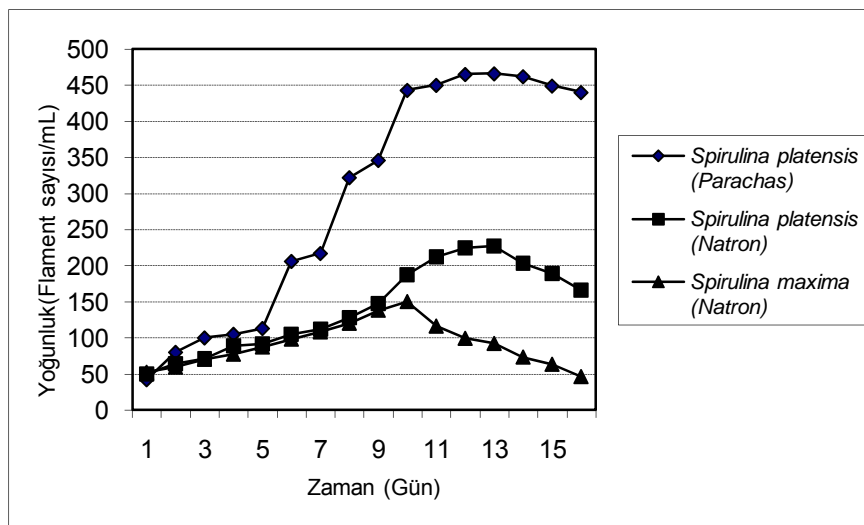
Gölü suşu 1 günden daha az süren bir adaptasyon safhasından sonra 4. güne kadar hızlı bir şekilde artış gösterdi (logaritmik artış safhası), 4-7. günler arasında çoğalmada yavaşlama olmuş (sabit safha), 8. günden sonra büyümede yavaşlama (çöküş safhası) saptandı 11. günden sonra kültürde hızlı bir çöküş saptandı (Şekil 4).

*A. platensis* Natron Gölü suşu 2 günlük bir adaptasyon safhasından sonra, 12. güne kadar büyümede artış gösterdi (logaritmik artış safhası), 12-13. günlerde sabit fazda kaldı, kültürde 14-16 günlerde büyümede yavaşlama ve çöküş safhasına girme gözlemlendi.

*A. platensis* Parachas Gölü suşu 1 günlük bir adaptasyon safhasından sonra 10. güne kadar artış gösterdi (logaritmik artış safhası), 10-14. günler arasındaki sabit gelişim safhasından sonra, 16. günden sonra çöküş safhasına girmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. *Spirulina* türlerinin günlere göre absorbans değerleri



Şekil 5. *Spirulina* türlerinin günlere göre flament yoğunluğu

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Ticari yoğun mikroalg üretiminin ilk basamağı olan laboratuvar koşullarındaki üretim kapsamında, üç farklı *Arthrospira* suşunun büyüme özelliklerini karşılaştırmayı mikroskopik ve spektrofotometrik ölçümlerle pratik bazı sonuçlara ulaşmayı amaçlayan bu deneysel çalışmada her üç suşun da farklı adaptasyon, gelişme ve çöküş aşamalarının olduğu görüldü. *A. maxima* daha kolay adapte olmasına, büyümede hızlı bir artış göstermesine rağmen diğer iki suşa göre üretiminin daha zor ve hassas olduğu görüldü. *Spirulina platensis*'in Natron ve Parachas suşları benzer büyüme değerleri gösterdi. Absorbans değerlerine bakıldığında her iki suş 1-2 günlük bir gecikme fazı safhasından sonra gelişim gösterdikleri saptandı. *A. platensis* Natron suşu 11. güne kadar hem absorbans hem de filament sayısı bakımından üssel olarak artış gösterdiği ve 12.-13. günler arasında sabit bir büyümeden sonra çöküş safhasına girdiği gözlemlendi. *A. platensis* Parachas suşu diğer iki *Spirulina* suşuna göre daha uygun bir gelişim gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4). Filament sayısı bakımından *A. maxima* Natron ve *A. platensis* Natron suşlarına göre 9. güne kadar daha fazla bir biyomas artışı göstermiştir (Şekil 5). Denemenin sonuçlarına göre ticari üretimde kullanılabilen her üç *Spirulina* suşu arasındaki önemli fark birim hacimdeki filament sayısından kaynaklanmaktadır. Genel olarak bakıldığında büyüme hızları arasında fark olmamasına rağmen birim hacimdeki hücre sayısı Parachas suşunda önemli derecede daha fazladır. Bunun nedeni, Parachas suşunun kültür sırasında daha hızlı trikom oluşturmasıdır. Parachas suşu spiralli yapısından dolayı hasadı düz formlu türlere göre daha kolaydır. Mikroalg üretimi genellikle maliyetli bir üretim şeklidir. Algal üretimde, mikroalgın hasadı, toplam üretim maliyetinin % 20-30'unu oluşturabilmektedir (Gudin ve Therpenier, 1986). Ancak *Spirulina* hücre duvarı olmadığından dolayı ve sahip olduğu filament yapısından dolayı rahatlıkla süzülüp, hasat edilebilir. *Spirulina*'nın hasadında genellikle 40-50 ve 100 µm arası göz açıklığına sahip plankton bezleri veya seperatörler kullanılmaktadır (Duerret ve ark., 1997; Vonshak, 1997). *Spirulina* üretiminde istenilen en önemli özellik optimum kültür şartlarında en hızlı gelişen, biyoması en fazla ve hasadı kolay olan türlerin kullanımıdır. Deneysel ölçekte laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen denemede *Arthrospira* türlerinin hasadında spiral yapıdaki türün hasadının daha kolay olduğu gözlemlendi. Dalay ve ark., 2001 çalışmalarında spiral yapıdaki *Spirulina* türünün hasadının daha kolay olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ancak ticari yoğun *Spirulina* üretiminde hasatta özel amaçlı seperatörler kullanılmaktadır. Bu seperatörlerde hasat kolayca yapılabildiğinden dolayı *Spirulina*'nın morfolojik yapısı önemli değildir.

Bu çalışmada, ticari olarak en fazla üretime alınan mikroalg türlerinden *Arthrospira platensis* ve *A. maxima*'nın üç farklı suşunun, üretim aşamasının ilk basamağı olan laboratuvar koşullarındaki büyüme özellikleri karşılaştırılmış

ve büyüme parametreleri arasında en farklı değer *A. maxima*'da görülmüştür. *A. platensis* Natron ve Parachas suşlarının büyüme parametreleri arasında çok önemli bir fark görülmemiştir. Filament sayısı bakımından Natron suşu daha düşük bir değerde olduğu tespit edilmiştir. Hasat sonucunda düz formların (Natron suşları) verimliliğinin düşük olması yüzünden, *A. platensis* Parachas suşunun yoğun üretimde kullanılmasının daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Belay, A., Kato, T., Ota, Y., 1996. *Spirulina* (*Arthrospira*): Potential Application as an Animal Feed Supplement, J. Appl. Phycology 8: 3003-311.
- Borowitzka, M. A., 1999. Commercial Production of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes and Fermenters. J. Biotechnology, 70: 313-321.
- Belay, A. Y., Ota, K., Kawa, M., Shimamatsu, H., 1993. Current Knowledge on the Potential Health Benefit of *Spirulina*, Appl. Phycology, 5: 235-241.
- Ciferri, O., 1983. *Spirulina*, the Edible Microorganism, Microbial reviews, Vol.7, No:4, 551-578.
- Cost, J. A. V., Cozz, K. L., Oliveria, L., Magagin, G., 2001. Different Nitrogen Source and Growth Response of *Spirulina platensis* Microenvironments, World J. Microbiol. Biotechnology, 17: 439-442.
- Duerr, E. O., Edralin, M. R., Price, N. M., 1997. Facilities Requirements and Procedures for the Laboratory and Outdoor Raceway Culture of *Spirulina* spp. J. Mar. Biotechnology, 5:1-11.
- Dalay, M. C., Cirik, S., Koru, E., 2001. Türkiye Ege Bölgesi İklim Koşullarında Açık Hava Kültürleri İçin Uygun *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl, 1930 Suşunun Tespiti, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, Cilt 18, Sayı (3-4):523-528, Bornova-İzmir.
- Fox, D. R., 1996. *Spirulina*: Production and Potential, p 232, Edisud-France.
- Gudin, C., Therpenier, C., 1986. Bioconversion of Solar Energy into Organic Chemicals by Microalgae, Adv. Biotechnolo. Proc. 6:73-110.
- Özdamar, K., 1997. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizleri I. Anadolu Üniversitesi Yayınları, No:1001, Fen Fakültesi Yayınları, No:11.
- Richmond, A., 2000. Microalgal Biotechnology at the Turn of the Millennium: A Personal View, Journal of Applied Phycology 12:441-451.
- Shimamatsu, H., 2004. Mass Production of *Spirulina*, an Edible Microalga, Hydrobiologia, 512: 39-44.
- Zarrouk, C., 1966. Contribution à l'étude d'une Cyanophycée: Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la Croissance et Photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler, Ph. D. Thesis, University of Paris.
- Vonshak A., 1997. *Spirulina*: Growth, Physiology and Biochemistry, in Vonshak A eds, *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology, Taylor and Francis, 43-65, London.