

GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF  
*SPIRULINA PLATENSIS* AND *S. FUSIFORMIS*  
UNDER DIFFERENT CULTURE CONDITIONS

MD. RAFIQUL ISLAM

DOCTOR OF PHILOSOPHY  
KOLEJ UNIVERSITI SAINS DAN TEKNOLOGI MALAYSIA  
2004

016821

1100054026

Perpustakaan Sultanah Nur Zahirah (UMT)  
Universiti Malaysia Terengganu

thesis  
QK 731 .M3 2004



1100054026

## Growth and biochemical composition of *sprulina platensis* and *s. fusiformis* under different culture conditions / Md. Rafiqul Islam.



PERPUSTAKAAN SULTANAH NUR ZAHIRAH  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT)  
21030 KUALA TERENGGANU

Ihat coholsz

HAK MILIK  
PERPUSTAKAAN SULTANAH NUR ZAHIRAH UMT

**GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *Spirulina platensis* AND *S. fusiformis* UNDER DIFFERENT CULTURE CONDITIONS**

**By**

**MD. RAFIQUL ISLAM**

**Thesis Submitted in Fulfilment of the Requirement for the Degree of Doctor of  
Philosophy in the Faculty of Agrotechnology and Food Science  
Kolej Universiti Sains dan Teknologi Malaysia**

**June 2004**

**1100054026**

## **DEDICATION**

**"THIS THESIS IS DEDICATED TO MY PARENTS**

**THEY PASS AWAY LIVING ME ALONE**

**BUT WITH LOTS OF LOVE**

**AND**

**MY BELOVED WIFE, RAFIA ISLAM (RUMA)**

**'HER INSPIRATION, PATIENCE AND SACRIFICE**

**ENABLED ME FOR THE SUCCESS"**

Abstract of the thesis presented to the Senate of Kolej Universiti Sains dan Teknologi Malaysia (KUSTEM) in fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy

**GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *Spirulina platensis* AND *S.fusiformis* UNDER DIFFERENT CULTURE CONDITIONS**

**MD. RAFIQUL ISLAM**

**June 2004**

**Chairman : Associate Professor Anuar Bin Hassan, Ph.D.**

**Member : Siti Aishah Abdullah @ Christine A. Orosco, Ph.D.  
Paymon Rostaian, Ph.D.**

**Faculty : Faculty of Agrotechnology and Food Science**

A study on the growth and biochemical composition of *Spirulina platensis* and *S. fusiformis* were carried out at KUSTEM. *Spirulina platensis* was obtained from the Planktology Laboratory, KUSTEM, while *S. fusiformis* was obtained from the Marugappa Chettair Research Center (MCRC), Chennai, India. The culture was maintained by repeated transfer to liquid Zarouk medium. The effect of physico-chemical factors: nutrients, salinity, pH, temperature, light intensity and urea concentration on the growth and biochemical constituents of the two strains were investigated.

The growth of *S. platensis* and *S. fusiformis* was studied grown in three different media: Zarouk, Kossaric and NPK. The specific growth rates of *S. platensis* in Zarouk, Kossaric and NPK media were 0.220, 0.214 and 0.209 day<sup>-1</sup>, respectively and the specific growth rates of *S. fusiformis* were 0.199, 0.189 and 0.171 day<sup>-1</sup>, respectively. Statistical analysis

of the specific growth rates of *S. fusiformis* in different media did not show any significant difference ( $p>0.05$ ). While it was significantly different ( $p<0.05$ ) in *S. platensis*. The study showed that the different types of culture media could generate distinct, variable biochemical profile and pigment contents as well. Over all, the Zarouk medium has shown the best performance in terms of growth and biochemical constituents.

When grown at the different seawater salinity both growth and biochemical composition of *S. platensis* and *S. fusiformis* were varied. The cultures showed a new steady state of growth, established after carry out an initial lag phase. The observed growth rate was slower and inversely related with concentration of salt i.e. the greater the salinity, the slower was the growth rate during the experiment. A decrease in biomass of *Spirulina* sp. was also observed during their culture in the high salinity. High salt concentration showed low protein and phycocyanin content with increasing carbohydrate and carotenoids. Lipid content was found exceptionally high at 1 ppt salinity. The predominant fatty acid was found palmitic acid (16:0) in every culture. Highest amount of this fatty acid (52.2 % of total FA) was found in *S. fusiformis*. Palmitoleic acid (16:1) was found only in salinity culture for both species. High level of gamma linolenic acid (GLA) was found in *S. platensis* grown at culture without salinity (14.8%) and low level was also found in *S. platensis* grown at 1 ppt (2.7 %). No GLA was found in the biomass grown in 1.2 ppt culture for both species.

The optimum temperature in terms of growth was recorded at  $32^{\circ}\text{C}$  and  $37^{\circ}\text{C}$  in *S. platensis* and *S. fusiformis*, respectively. The optimum pH was recorded at pH 9 and 10

in *S. platensis* and *S. fusiformis*, respectively. The growth rates of *S. platensis* and *S. fusiformis* increased with the increase of light intensity. Protein content found high at optimum pH and light intensity for both species. Protein content of *S. platensis* was high at optimum temperature ( $32^{\circ}\text{C}$ ), while protein content of *S. fusiformis* was also high at  $32^{\circ}\text{C}$  rather than its optimum temperature ( $37^{\circ}\text{C}$ ). The effect of replacing nitrate by urea in Zarouk media showed a distinct influence in the growth of two *Spirulina* species. The presence of nitrate showed the better performance in terms of growth, protein content and pigments. *S. platensis* showed better result in presence of urea than that of *S. fusiformis* might be due to the variation of genetic characteristics of the species.

In outdoor culture, the growth rate was significantly lower than that of indoor culture ( $p<0.05$ ). In this experiment the growth rate was higher in *S. platensis* than that of *S. fusiformis* ( $p<0.05$ ). The biomass loss of 14.6 % at night for *S. platensis* and 11.3 % for *S. fusiformis* were observed. Protein content of the biomass harvested in the morning found significantly higher ( $p<0.05$ ) than protein content of the biomass harvested in the evening. This is due to the carbohydrates might be stored during the daylight and was subsequently utilized for protein synthesis and respiration at night.

Abstrak tesis dikemukakan kepada Senat Kolej Universiti Sains dan Teknologi Malaysia (KUSTEM) sebagai memenuhi syarat untuk mendapatkan Ijazah Doktor Falasafah

**PERTUMBUHAN DAN KOMPOSISI BIOKIMIA *Spirulina platensis* DAN  
*S.fusiformis* DI BAWAH KEADAAN PENGKULTURAN YANG BERBEZA**

**MD. RAFIQUL ISLAM**

**May 2004**

**Pengerusi : Profesor Madya Anuar Bin Hassan, Ph.D.**

**Ahli : Siti Aishah Abdullah @ Christine A. Orosco, Ph.D.  
Paymon Rostaian, Ph.D.**

**Fakulti : Fakulti Agrotechnologi dan Sains Makanan**

Kajian pertumbuhan dan kajian biokimia ke atas dua spesies *Spirulina*: *Spirulina platensis* dan *S. fusiformis* telah dijalankan di KUSTEM. *Spirulina platensis* telah diperolehi daripada makmal planktologi, KUSTEM sementara *S. fusiformis* telah diperolehi daripada Marugappa Chettair Research Center (MCRC), Chennai, India. Kultur ini dikekalkan dengan cara perpindahan berulang ke cecair media Zarouk. Kesan faktor fisio-kimia yang merangkumi nutrien, kemasinan, pH, suhu, keamatan cahaya dan kepekatan urea terhadap pertumbuhan dan bahan biokimia kedua-dua jenis *Spirulina* ini telah kaji.

Pertumbuhan *S. platensis* dan *S. fusiformis* telah dikaji di dalam tiga media yang berbeza: Zarouk, Kossaric dan NPK. Kadar pertumbuhan spesifik *S. platensis* di dalam media Zarouk, Kossaric dan NPK masing masing adalah 0.220, 0.214 dan 0.209 day<sup>-1</sup> dan pertumbuhan spesifik bagi *S. fusiformis* adalah masing masing

mencatatkan 0.199, 0.189 dan 0.171 day<sup>-1</sup>. Analisis statistik telah menunjukkan bahawa kadar pertumbuhan spesifik dalam media berbeza *S. fusiformis* adalah tidak ketara ( $p>0.05$ ) tetapi bagi *S. platensis* adalah ketara ( $p<0.05$ ). Kajian ini telah menunjukkan bahawa media kultur yang berbeza memberi profil maklumat biokimia dan kandungan pigmen yang berbeza. Pada keseluruhan media Zarouk telah menunjukkan keputusan yang paling baik dari segi pertumbuhan dan kandungan bahan biokimia.

Pertumbuhan dan komposisi biokimia *S. platensis* dan *S. fusiformis* bila dikultur pada air laut yang berbagai-bagai saliniti berbeza. Kultur telah menunjukkan kemunculan satu tahap baru yang tetap setelah menjalani fasa lag. Kadar pertumbuhan adalah lebih perlahan dan berkadar songsang dengan kepekatan garam yang digunakan dimana salinity tinggi akan memberi kadar pertumbuhan yang lebih rendah semasa eksperimen dijalankan. Penurunan dalam biomas juga diperhatikan pada saliniti tinggi. Kepekatan garam yang tinggi telah menunjukkan kandungan protin dan fikosianin yang rendah dengan pertambahan dalam karbohidrat dan karotenoid. Kandungan lipid adalah tinggi pada saliniti 1ppt. Palmitik asid (16:0) adalah paling menojol asid lemak di dalam setiap kultur. Asid lemak ini (52.2% dari jumlah FA) tertinggi telah didapati pada *S. fusiformis*. Palmitolik asid (16:1) telah didapati dalam kultur saliniti untuk dedua-dua spesis. Gamma linolenik asid (GLA) yang tinggi telah didapati dalam *S. platensis* pada kultur tanpa saliniti (14.8%) dan kadar yang paras rendah juga telah didapati dalam *S. platensis* di kultur pada 1ppt (2.7%). Tiada GLA telah didapati dalam biomas yang dikultur dalam 1.2 ppt.

Suhu optima dari segi pertumbuhan dicatat pada  $32^0\text{C}$  dan  $37^0\text{C}$  masing-masing bagi *S. platensis* dan *S. fusiformis*. pH optima adalah pada 9 dan 10 masing-masing bagi *S. platensis* dan *S. fusiformis*. Kadar pertumbuhan *S. platensis* dan *S. fusiformis* telah meningkat dengan peningkatan keamatan cahaya. Kandungan protin adalah tinggi pada pH optima dan keamatan cahaya untuk kedua-dua spesies. Kandungan protin *S. platensis* adalah tinggi pada suhu optima ( $32^0\text{C}$ ), sementara kandungan protin dalam *S. fusiformis* juga adalah tinggi pada  $32^0\text{C}$  jika dibandingkan pada suhu optima ( $37^0\text{C}$ ). Kesan penggantian nitrate oleh urea dalam media Zarouk telah menunjukkan kesan yang ketara dalam pertumbuhan kedua-dua spesies *Spirulina*. Kehadiran nitrate telah memberi keputusan yang paling baik dari segi pertumbuhan, kandungan protin dan pigmen. *S. platensis* telah menunjukkan keputusan yang lebih baik dalam kehadiran urea jika dibandingkan dengan *S. fusiformis* dan ini mungkin disebabkan oleh ciri-ciri genetik kedua-dua spesies ini.

Dalam pengkulturan luaran, kadar pertumbuhan adalah sangat rendah jika dibandingkan dengan pengkulturan dalaman ( $p<0.05$ ) dan telah didapati kadar adalah lebih tinggi dalam *S. platensis* berbanding dengan *S. fusiformis* ( $p<0.05$ ). Kehilangan biomas adalah 14.6% pada waktu malam untuk *S. platensis* dan 11.3% untuk *S. fusiformis*. Kandungan protin biomas yang dipanen pada waktu pagi telah didapati lebih tinggi ( $p<0.05$ ) daripada kandungan protin biomas yang dipanen pada waktu petang. Ini disebabkan oleh karbhydrat yang menunjukkan disimpan pada cahaya siang dan telah digunakan untuk sintesis protein dan respirasi pada waktu malam.