

การเติบโตแบบออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก ของไดอะตอมท้องถิ่น *Nitzschia* sp. BUUC1501

Autotrophic, mixotrophic and heterotrophic growth of benthic diatom *Nitzschia* sp. BUUC1501

มะลิวัลย์ กุตะโก^{1*}, สมเกียรติ แวนมณี¹, ปวีณา ตปนียรรวงศ์^{2,3}, สุรเชษฐ์ บุรุษอาชาไนย^{2,3}
และ สรวิศ เผ่าทองสุข^{2,3}

Maliwan Kutako^{1*}, Somkiaet Wanmanee¹, Paveena Tapaneyaworawong^{2,3},
Surachet Burut-archanail^{2,3} and Sorawit Powtongsook^{2,3}

บทคัดย่อ: ไดอะตอมท้องถิ่น *Nitzschia* sp. BUUC1501 แยกจากบ่อพักน้ำในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาว อำเภอบ้านฉาง จังหวัด จันทบุรี นำมาเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะการเจริญเติบโตที่ต่างกัน คือ สภาวะออโตโทรฟิกที่เลี้ยงในอาหารสูตรกิลลาร์ด หรือสูตร F/2 (Guillard, 1975) ความเค็ม 30 ppt ให้แสงตลอดเวลา 4,300 ลักซ์ และแบบมิกโซโทรฟิกที่เพาะเลี้ยง ไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ผสมอาหารสูตร NB (Nutrient broth) เดิมกลูโคส 10 ก./ล. (F/2 + NB + กลูโคส) และให้ แสงตลอดเวลา สุดท้ายคือสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกที่เซลล์เจริญเติบโตในที่มีดโดยเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร F/2 + NB + กลูโคส พบว่าไดอะตอม *Nitzschia* sp. เจริญเติบโตได้ทั้งสภาวะออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก โดยมีอัตราการ เจริญเติบโตจำเพาะ 0.55 0.65 และ 0.45 ต่อวัน ตามลำดับ แต่ไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิก โซโทรฟิกมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสภาวะเฮเทอโรโทรฟิก และให้ผลผลิตมวลชีวภาพ 37.09 ± 1.71 และ 36.87 ± 2.72 ($\times 10^7$ เซลล์/ล./วัน.) ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิก ($P \leq 0.05$)

คำสำคัญ: *Nitzschia* sp., ออโตโทรฟิก, มิกโซโทรฟิก, เฮเทอโรโทรฟิก

ABSTRACT: Marine benthic diatom *Nitzschia* sp. BUUC1501 was isolated from shrimp farm reservoir at Thamai, Chanthaburi Province. Diatom was cultured under autotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions. The autotrophic condition was performed using Guillard's F/2 medium (Guillard, 1975) with salinity 30 ppt and 4300 Lux continuous light. Mixotrophic culture was F/2 medium supplemented with nutrient broth (NB) and 10 g/L glucose (F/2 + NB + glucose) with continuous illumination. Heterotrophic culture was conducted in F/2 + NB + glucose under dark condition. The results revealed that *Nitzschia* sp. could grow under autotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions with the specific grow rate of 0.55, 0.65 and 0.45 d⁻¹, respectively. With autotrophic and mixotrophic conditions, the maximum biomass productivity were 37.09 ± 1.71 and 36.87 ± 2.72 ($\times 10^7$ cells/L/day), respectively. These productivities were significantly higher than heterotrophic condition ($P \leq 0.05$).

Keywords: *Nitzschia* sp., autotrophic growth, mixotrophic growth, heterotrophic growth

¹ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

Faculty of Marine Technology, Burapha University Chanthaburi Campus

² ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Center of Excellence for Marine Biotechnology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

³ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

National Center of Genetic Engineering and Biotechnology

* Corresponding author: maliwan@buu.ac.th

บทนำ

ไดอะตอม (diatom) เป็นสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงมากกว่า 100,000 ชนิด (Armbrust, 2009) สามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็วและใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยกว่าพืชชนิดอื่น จึงมีข้อได้เปรียบกว่าพืชชั้นสูงชนิดอื่นๆ รวมถึงไดอะตอมยังอุดมไปด้วยสารประกอบทางชีวเคมีหรือสารเมแทบอลิต์ที่มีคุณค่า เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน รงควัตถุและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Courtois de Vicoise et al., 2012; Dunstan et al., 1993) แสดงให้เห็นว่าไดอะตอมมีศักยภาพที่สามารถผลิตสารเมแทบอลิต์ได้ดี อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ไดอะตอมและสภาวะการเจริญเติบโตหรือสภาวะการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ไดอะตอมมีความสามารถในการสร้างสารดังกล่าวข้างต้นได้แตกต่างกันทั้งในรูปของชนิดและปริมาณของสารเมแทบอลิต์ (Ying et al., 2002; Dolch and Maréchal, 2015)

ไดอะตอมท้องน้ำ (benthic diatom) มักอาศัยยึดเกาะกับวัตถุต่างๆ ในมวลน้ำ เช่น กิ่งไม้ ก้อนหินและผิวหน้าดินตะกอนที่แสงส่องถึงได้ และเป็นอีกกลุ่มที่น่าสนใจเพราะไดอะตอมกลุ่มนี้อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) ที่มีส่วนสำคัญสำหรับใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ (Ying et al., 2002) โดยทั่วไปไดอะตอมมีการเจริญเติบโตโดยสร้างอาหารเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและตรึงสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนผ่านกระบวนการ Calvin-Benson cycle ซึ่งเป็นสภาวะการเจริญเติบโตแบบออโตโทรฟิค (autotrophic growth) และบางชนิดยังเจริญเติบโตแบบเฮเทอโรโทรฟิค (heterotrophic growth) โดยการดูดซึม (assimilation) สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนในที่มีด โดยเซลล์นำสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนได้ ทั้งนี้พบลักษณะการเจริญเติบโตแบบนี้ในสาหร่ายเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น และไดอะตอมท้องน้ำเป็นหนึ่งในชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะ

เฮเทอโรโทรฟิค (Lowrey et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีเซลล์อาจเจริญเติบโตในภายใต้สภาวะที่มีแสงและมีแหล่งคาร์บอนที่เป็นสารอินทรีย์ร่วมด้วยจึงเป็นการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะออโตโทรฟิคร่วมกับสภาวะเฮเทอโรโทรฟิค เรียกว่ามิกโซโทรฟิค (mixotrophic growth) (Chen and Zhang, 1997) เห็นได้ว่าแต่ละสภาวะการเจริญเติบโตที่กล่าวมาข้างต้นมีแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน ส่งผลให้มีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่แตกต่างกันด้วย (Lowrey et al., 2015) ในหลายงานวิจัยจึงพบว่าการสร้างสารประกอบทางชีวเคมีของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กจะมีปริมาณและชนิดต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะการเจริญเติบโตหรือสภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* sp. BUU1501 ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำจากฟาร์มกุ้งขาว อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (พงษ์ธร, 2558) มาเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบออโตโทรฟิค มิกโซโทรฟิคและเฮเทอโรโทรฟิค ติดตามการเจริญเติบโตของไดอะตอมเพื่อทราบถึงแนวทางการเพาะเลี้ยงไดอะตอมดังกล่าวให้ได้ผลผลิตมวลชีวภาพสูงสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วิธีการศึกษา

หัวเชื้อไดอะตอมที่ใช้ในการทดลอง

ไดอะตอมได้จากงานวิจัยของ พงษ์ธร (2558) ที่ได้เก็บตัวอย่างไดอะตอมท้องน้ำโดยชูดเก็บเมื่อเกาะอยู่บนก้อนหิน หน้าดินและกิ่งไม้ในบ่อพักน้ำจากฟาร์มกุ้งขาว อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี บ่อพักน้ำดังกล่าวมีความเค็ม 8.67 ± 1.16 ppt พีเอช 2.88 ± 0.02 ปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกต เท่ากับ 0.87 ± 0.00 , 0.83 ± 0.09 0.01 ± 0.01 และ 1.62 ± 0.13 มก./ล. ตามลำดับ และจากการจำแนกชนิดไดอะตอมพบว่าเป็นไดอะตอมท้องน้ำชนิด *Nitzschia* sp. BUU1501 ลักษณะเซลล์ไดอะตอมดังกล่าวแสดงดัง Figure 1A-B

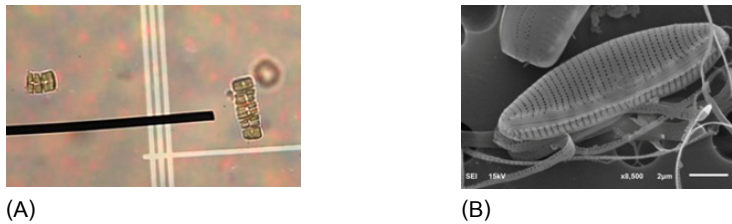


Figure 1 Morphology of *Nitzschia* sp. BUU1501 under light microscope (A) and electron microscope (B)

การเจริญเติบโตแบบออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิก และเฮเทอโรโทรฟิกของไดอะตอม *Nitzschia* sp. BUU1501

ทดลองเพาะเลี้ยงไดอะตอมในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ที่บรรจุอาหารปริมาตร 90 มล. เติมห่วงเชื้อไดอะตอมปริมาตร 10 มล. ทั้งนี้สภาวะการเจริญเติบโตของไดอะตอมที่ใช้ในการทดลองมี 3 สภาวะ แต่ละสภาวะทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

(1) สภาวะการเจริญเติบโตแบบออโตโทรฟิกโดยเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตรของกิลลาร์ด หรือ F/2 (Guillard, 1973) อาหารดังกล่าวเตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt และผ่านการฆ่าเชื้อ วางขวดเลี้ยงไดอะตอมในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส และให้แสงตลอดเวลาด้วยความเข้มแสง 4,300 ลักซ์

(2) สภาวะการเจริญเติบโตแบบมิกโซโทรฟิกจะเพาะเลี้ยงไดอะตอมในอาหารสูตร F/2 ผสมอาหารสูตร Nutrient broth (NB medium) ที่มีส่วนประกอบของเปปโตเน ยีสต์สกัดและเนื้อสกัดในปริมาณ 5, 2 และ 1 ก./ล. ตามลำดับ (Bridson, 1995) และเติมกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในรูปสารอินทรีย์ 10 ก./ล. (ชมพูนุท และคณะ, 2544) วางขวดเพาะเลี้ยงไดอะตอมในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิและให้แสงตลอดเวลาเช่นเดียวกับสภาวะแบบออโตโทรฟิก

(3) สภาวะการเจริญเติบโตแบบเฮเทอโรโทรฟิกเป็นการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในอาหารสูตรเดียวกับสภาวะมิกโซโทรฟิก แต่วางขวดเลี้ยงไดอะตอมในที่มืดและอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส

ในระหว่างการทดลองเพาะเลี้ยงไดอะตอมนาน 8 วัน ได้ติดตามการเจริญเติบโตด้วยวิธีการนับเซลล์บน

สไลด์นับเม็ดเลือด (haemocytometer) จากนั้นคำนวณหาความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์/มล.) และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของไดอะตอม (μ) รายงานในหน่วยต่อวัน ด้วยสมการโดยที่ N_1 คือ ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์/มล.) ณ เวลา t_1 (วัน) และ N_2 คือ ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์/มล.) ณ เวลา t_2 (วัน) และคำนวณหาผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอม (เซลล์/ล./วัน) ตามสมการ N_1 คือ ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์/มล.) ณ วันแรกของการทดลอง หรือ t_1 (วัน) และ N_2 คือ ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์/ล.) ณ วันที่ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด หรือ t_2 (วัน)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอมที่มีสภาวะการเจริญเติบโตแตกต่างกันด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ โดยใช้โปรแกรมใช้โปรแกรม R version 3.3.1

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ไดอะตอมท่อน้ำ *Nitzschia* sp. มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) ที่มีประมาณ 16.55 และ 1.69% ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (Courtois de Viçose et al., 2012) ทั้งนี้สัตว์และมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันชนิดดังกล่าวได้ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

วัยอ่อน เช่น กุ้งและหอย จึงต้องให้อาหารที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอด (Sargent et al. 1999) ไดอะตอมจึงมีศักยภาพใช้เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้

จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้สภาวะการเจริญเติบโตแบบออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก นาน 8 วัน พบว่าไดอะตอม *Nitzschia* sp. BUU1501 สามารถเติบโตได้ทั้ง 3 สภาวะ และเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ทันทีโดยไม่พบว่าเซลล์อยู่ในระยะพัก (lag growth phase) การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกที่เซลล์สร้างอาหารเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานจึงมีสภาวะการเจริญเติบโตเหมือนกับพืชทั่วไป และให้เซลล์สูงสุดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยให้เซลล์สูงสุด 185.46×10^4 เซลล์/มล. ในขณะที่ภายใต้สภาวะมิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิกใช้เวลาเร็วกว่าโดยใช้เวลาเพียง 4 และ 3 วัน ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะมิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิกมีสารอินทรีย์คาร์บอนในรูปของกลูโคสที่เซลล์สามารถดูดซึมไปใช้ได้โดยตรงผ่านกระบวนการ assimilation (Lowrey et al., 2015; Li et al., 2014) เซลล์จึงเจริญเติบโตได้เร็วและให้เซลล์สูงสุด 147.47 และ 37.78×10^4 เซลล์/มล. ตามลำดับ แต่เห็นได้ว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิกมีเซลล์สูงสุดต่ำกว่าสภาวะออโตโทรฟิก ทั้งนี้อาจเนื่องจากชนิดและปริมาณของสารอินทรีย์คาร์บอนที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ กลูโคส 10 ก./ล. คิดเป็น 4 ก.คาร์บอน/ล. อาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไดอะตอมชนิดนี้ แต่ Li et al. (2014) กลับพบว่าสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ที่เจริญเติบโตแบบมิกโซโทรฟิกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส 4 ก.คาร์บอน/ล. เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะออโตโทรฟิกมากถึง 5.4 เท่า ทั้งนี้ชนิดของสารอินทรีย์คาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบมิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก

นั้นมีหลายชนิด เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอินทรีย์ กลีเซอรอล อะซิเตตและน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์คาร์บอนสูง เป็นต้น (Shishlyannikov et al., 2014; Lowrey et al., 2015)

การที่เซลล์ไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าสภาวะมิกโซโทรฟิก (Figure 2 และ Table 1) อาจเป็นเพราะสภาวะมิกโซโทรฟิกเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเนื่องจากกระบวนการเพาะเลี้ยงมีการให้แสงตลอดเวลา และเซลล์ยังสามารถดูดซึมกลูโคสมาใช้ในการเจริญเติบโตร่วมด้วยเพราะอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมกลูโคส (Shishlyannikov et al., 2014) ในขณะที่สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในที่มืด เซลล์เจริญเติบโตได้โดยอาศัยกระบวนการดูดซึมกลูโคสเพียงอย่างเดียวเท่านั้น อีกสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลให้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกเจริญเติบโตต่ำกว่าสภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิก คือ การเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิกมักเกิดปัญหาการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย โดยหากเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียจะพบว่าแบคทีเรียสามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ในขณะที่สาหร่ายมีการเติบโตได้ช้ากว่าแบคทีเรียมาก (Chen, 1996))

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของไดอะตอม *Nitzschia* sp. BUU1501 ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงใน Table 1 พบว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิกส่งเสริมเซลล์ให้เจริญเติบโตได้ดีใกล้เคียงกันและให้เซลล์สูงสุดได้สูงกว่าสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเช่นเดียวกัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิกมีค่าใกล้เคียงกับเซลล์ที่เพาะเลี้ยงด้วยสภาวะออโตโทรฟิก ซึ่งสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าไดอะตอมที่เลี้ยงด้วยสภาวะมิกโซโทรฟิกและออโตโทรฟิกให้ผลผลิตมวลชีวภาพมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าสูงกว่าถึง

3.02 และ 3.00 เท่า ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าไดอะตอมที่เจริญเติบโตแบบมิกโซโทรฟิคให้ผลผลิตได้ใกล้เคียงกับสภาวะออโตโทรฟิค แต่ต้นทุนอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบมิกโซโทรฟิคสูงกว่าแบบออโตโทรฟิค เพราะต้องเติมสารอินทรีย์เพิ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแนวทางการลดต้นทุนอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอมชนิดนี้ในสภาวะมิกโซโทรฟิคจึงอาจใช้

น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์คาร์บอนเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เพราะโดยทั่วไปแล้วไดอะตอมสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ เช่น น้ำเสียจากโรงงานผลิตภัณฑ์นม น้ำเสียจากบ้านเรือน น้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ปีก เป็นต้น (Shishlyan-nikov et al., 2014; Lowrey et al., 2015;)

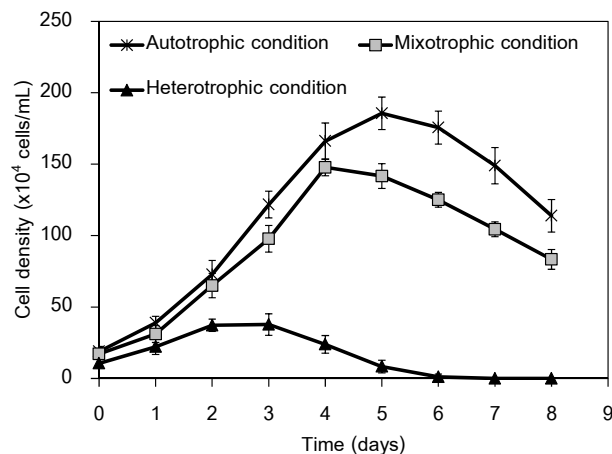


Figure 2 Growth of *Nitzschia* sp. BUU1501 under autotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions.

Table 1 Maximum specific growth, maximum cell density and biomass productivity of *Nitzschia* sp. BUU1501 under different growth conditions. Values showed mean $\pm$ standard deviation of three replicate cultures. Different letters in column represent significant differences at $P \leq 0.05$.

Growth condition	μ (day ⁻¹)	Maximum cell density (x10 ⁴ cells/mL)	Time to maximum cell density (day)	Biomass productivity (x10 ⁷ cells/L/day)
Autotrophic	0.55 $\pm$ 0.04 ^{ab}	185.46 $\pm$ 8.57 ^a	5	37.09 $\pm$ 1.71 ^a
Mixotrophic	0.65 $\pm$ 0.10 ^a	147.47 $\pm$ 10.88 ^b	4	36.87 $\pm$ 2.72 ^a
Heterotrophic	0.43 $\pm$ 0.14 ^b	37.78 $\pm$ 7.53 ^c	3	12.29 $\pm$ 2.51 ^b

สรุป

ไดอะตอมท่อน้ำ *Nitzschia* sp. BUU1501 ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำจากฟาร์มกุ้งขาว อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบออโตโทรฟิค มิกโซโทรฟิคและเฮเทอโรโทรฟิค แต่ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหากต้องการ

ผลผลิตเซลล์ไดอะตอมสูงควรเพาะเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะออโตโทรฟิคหรือมิกโซโทรฟิคก็ได้ เพราะทั้ง 2 สภาวะนี้เซลล์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสภาวะเฮเทอโรโทรฟิค โดยเซลล์ให้ผลผลิตมวลชีวภาพ 37.09 ± 1.71 และ 36.87 ± 2.72 (x10⁷ เซลล์/ล./วัน.) หรือมีค่าสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิคถึง 3.02 และ 3.00 เท่า ตามลำดับ

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพาผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 42/2559

เอกสารอ้างอิง

- ชมพูนุท ชัยรัตน์, สรวิศ เผ่าทองสุข และ สมเกียรติ ปิยะธีรจิตติวรกุล. 2546. การเติบโตของไดอะตอม *Amphora delicatissima* ในที่มีสภาพได้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิก. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 25(2): 205-212.
- พงษ์ธร เจนจัดการ. 2558. การแยกและการเติบโตของสาหร่ายน้ำเค็มจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในบริเวณจังหวัดจันทบุรี. ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีทางทะเล. คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Armbrust, E.V. 2009. The life of diatoms in the world's oceans. *Nature*. 459: 185-192.
- Bridson, E. Y. 1995. *The Oxoid Manual*. 7ed. Unipath Limited, London.
- Chen, F., Y. Zhang, and S. Guo. 1996. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photobioreactor culture. *Biotechnology Letters*. 18(5): 603-608.
- Chen F., and Y. Zhang. 1997. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme Microb Technol*. 20: 221-224.
- Courtois de Viçose, G., A. Porta, M. P. Viera, H. Fernández-Palacios, and M. S. Izquierdo. 2012. Effects of density on growth rates of four benthic diatoms and variations in biochemical composition associated with growth phase. *J Appl Phycol*. 24: 1427-1437.
- Dolch L-J. and E. Maréchal. 2015. Inventory of fatty acid desaturases in the pennate diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Mar. Drugs*. 13: 1317-1339.
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman, S.M. Barrett, J-M. Leroi, and S.W. Jeffrey. 1993. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochemistry*. 35(1): 155-161.
- Guillard, R. R. L. 1973. Method for Microflagellates and Nanoplankton. In Stein, J. R. (ed). *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University, New York.
- Li, Y-R., W-T. Tsai, Y-C. Hsu, M-Z., Xie, and J-J. Chen. 2014. Comparison of autotrophic and mixotrophic cultivation of green microalgal for biodiesel production. *Energy Procedia*. 52: 371-376.
- Lowrey, J., M.S. Brooks, and P.J. McGinn. 2015. Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges—a critical review. *J Appl Phycol*. 27:1485-1498
- Sargent J., L. McEvoy, A. Estévez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson, and D. Tocher. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179: 217-229.
- Shishlyannikov, S.M., I. V. Klimenkov, Y.D. Bedoshvili, I.S. Mikhailov, and A.G. Gorshkov. 2014. Effect of mixotrophic growth on the ultrastructure and fatty acid composition of the diatom *Synedra acus* from Lake Baikal. *J Biol Res (Thessalon)*. 21(1): 15-21.
- Ying, H., M. Kang-sen, and S. Shi-chun. 2000. Total lipid and fatty acid composition of eight strains of marine diatoms. *Chin. J. Oceano. Limno*. 18(4): 345-349.