

การเติบโตและองค์ประกอบกรดไขมันของไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* BUUC1501 ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิก

Growth and fatty acid compositions of a benthic diatom *Nitzschia* BUUC1501 cultured under autotrophic and mixotrophic conditions

มะลิวัลย์ คุณะโค^{1*}, ปวีณา ตปนียวรรวงศ์^{2,3}, นิษา สिरนนทธาน⁴, จันทรจรัส วัฒนะโชติ⁴,
รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ¹, ชลีย์ ไพบูลย์กิจกุล¹ และ สรวิต เผ่าทองสุข^{2,3}

Maliwan Kutako^{1*}, Paveena Tapaneeyaworawong^{2,3}, Nisa Siranonthana⁴,
Janjarus Watanachote⁴, Rachanimuk Hiransuchalert¹, Chalee Paibulkichakul¹
and Sorawit Powtongsook^{2,3}

บทคัดย่อ: จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* sp. สายพันธุ์ BUUC1501 ภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกด้วยอาหารสูตรกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1973) และสภาวะมิกโซโทรฟิกที่ใช้อาหาร F/2 ผสมอาหาร Nutrient broth และกลูโคส 10 ก./ล. ปริมาตรเลี้ยง 2 ล. ให้แสง 4,300 ลักซ์ ตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่าเซลล์ที่เติบโตภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกสามารถให้ผลผลิตมวลชีวภาพ $451.73 \pm 29.15 \times 10^7$ เซลล์/ล./วัน ซึ่งสูงกว่าสภาวะมิกโซโทรฟิก (P≤0.05) แต่เซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิกมีปริมาณไขมัน $26.73 \pm 1.02\%$ ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าเซลล์ในสภาวะออโตโทรฟิก (P≤0.05) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวพบในเซลล์ที่เติบโตในสภาวะมิกโซโทรฟิก 28.59% ของกรดไขมันทั้งหมด และสูงกว่าเซลล์ที่เติบโตในสภาวะออโตโทรฟิก (P≤0.05) ในขณะที่ กรดไขมันเชิงซ้อนชนิด eicosapentaenoic acid พบเฉพาะในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิก โดยมีปริมาณ 4.38% ของกรดไขมันทั้งหมด

คำสำคัญ: ไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* sp., สภาวะออโตโทรฟิก, สภาวะมิกโซโทรฟิก, การเติบโต, กรดไขมัน

ABSTRACT: Cultivation of a benthic diatom *Nitzschia* BUUC1501 was performed under autotrophic and mixotrophic conditions. Autotrophic condition was performed using Guillard's F/2 medium (Guillard, 1973). Mixotrophic culture medium was standard F/2 medium supplemented with nutrient broth and 10 g/L glucose. Both autotrophic and mixotrophic cultures were conducted in 2L bottle and incubated under continuous 4300 Lux illumination. With autotrophic condition, the maximum biomass productivity was $451.73 \pm 29.15 \times 10^7$ cells/L/day. This productivity was significantly higher than mixotrophic condition (P≤0.05). Under mixotrophic condition, the lipid content was $26.73 \pm 1.02\%$ of dry weight which was significantly higher than autotrophic cultivation. Total monounsaturated fatty acids of mixotrophic cultivation (28.59% in total fatty acids) was significantly higher than autotrophic cultivation (P≤0.05). Moreover, eicosapentaenoic acid of 4.38% in total fatty acids was found only in autotrophic cultivation.

Keywords: *Nitzschia* sp., autotrophic condition, mixotrophic condition, growth, fatty acids

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

⁴ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
Institute of Marine Science, Burapha University

* Corresponding author: maliwan@buu.ac.th

บทนำ

ไดอะตอม (diatom) เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสาหร่ายเซลล์เดียวที่ดำรงชีวิตคล้ายกับพืชโดยสร้างอาหารเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านกระบวนการ Calvin-Benson cycle เรียกกระบวนการเติบโตแบบนี้ว่าแบบออโตโทรฟิก (autotrophic growth) ไดอะตอมท้องน้ำ (benthic diatom) สามารถเติบโตในที่มืดได้ด้วย โดยดูดซึมสารอินทรีย์คาร์บอนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน เป็นรูปแบบการเติบโตแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic growth) และไดอะตอมที่เติบโตภายใต้สภาวะที่มีทั้งแสงและสารอินทรีย์คาร์บอนเรียกว่าการเติบโตแบบมิกโซโทรฟิก (mixotrophic growth) ซึ่งแต่ละรูปแบบการเติบโตของไดอะตอมมีแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน เซลล์จึงมีกระบวนการเมแทบอลิซึมแตกต่างกัน ส่งผลให้การเติบโตและสารประกอบทางชีวภาพภายในเซลล์มีความแตกต่างกันได้ (Lowrey et al., 2015) ทั้งนี้ไดอะตอมจะสร้างพลังงานและอาหารสะสมในรูปของไขมัน ไดอะตอมจึงถือเป็นแหล่งของกรดไขมัน โดยเฉพาะในกลุ่มกรดไขมันเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) เช่น eicosapentaenoic acid หรือ EPA (20:5n3) ที่เป็นสารตั้งต้นในการผลิตฮอร์โมนต่างๆ เช่น prostaglandins และมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและภูมิแพ้ตนเอง นอกจากนี้ยังมีผลต่อพัฒนาการและการเติบโตของสัตว์น้ำ (Wah et al., 2015)

ไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* BUUC1501 ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาว อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี เป็นหนึ่งในไดอะตอมที่สามารถเติบโตได้ทั้งสภาวะออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก แต่ไดอะตอมเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในขบวนการหมักขนาด 250 มล. ภายใต้สภาวะออโตโทรฟิก รองลงมาคือสภาวะมิกโซโทรฟิก (มะลิวัลย์ และคณะ, 2559) ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทดลองขยายปริมาณการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 ภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิก เป็น 2 ล. ที่ให้

ความเข้มข้นเท่ากับการทดลองในขวดรูปชมพู่เพื่อติดตามการเติบโต ปริมาณไขมันและองค์ประกอบกรดไขมันของไดอะตอม เพาะการทดลองในขวดรูปชมพู่ นั้นยังไม่ทราบข้อมูลปริมาณไขมันและกรดไขมันในไดอะตอม ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จะนำไปเป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมดังกล่าวสำหรับเป็นแหล่งกรดไขมันเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 ภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิก

เพาะเลี้ยงไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาว อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ในขวดแก้วที่มีบรรจุอาหาร 2 ล. เติมห่วงเชื้อไดอะตอม 10% ของปริมาตรการเลี้ยง วางขวดเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส เติมห่วงที่ผ่านไส้กรองรูปพรุน 0.22 ไมครอน และให้แสง 4,300 ลักซ์ ตลอดเวลา ทดลองเพาะเลี้ยงไดอะตอมให้มีรูปแบบการเติบโตที่แตกต่างกัน 2 สภาวะ คือ (1) สภาวะการเติบโตแบบออโตโทรฟิก โดยเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตรของกิลลาร์ด หรือ F/2 (Guillard, 1973) อาหารดังกล่าวเตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และ (2) สภาวะการเติบโตแบบมิกโซโทรฟิก ที่เพาะเลี้ยงไดอะตอมในอาหารสูตร F/2 ผสมอาหารสูตร Nutrient broth (NB medium) ที่มีส่วนประกอบของเปปโตนิเยสส์สกัดและเนื้อสกัดในปริมาณ 5, 2 และ 1 ก./ล. ตามลำดับ (Bridson, 1995) และกลูโคส 10 ก./ล. (ชมพูนุท และคณะ, 2544) อาหารเตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับสภาวะออโตโทรฟิก แต่ละสภาวะการทดลองทำ 3 ขั้ว ตลอดการทดลอง 9 วัน ได้นับเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด นำค่าที่ได้ไปคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะของไดอะตอม (specific growth rate, μ) ในหน่วยต่อวัน ดังนี้ $\mu = (\ln C_2 - \ln C_1) / (t_2 - t_1)$ โดยที่ C_2 และ C_1 คือจำนวนเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ณ เวลา t_2 และ t_1 (วัน)

ตามลำดับ และคำนวณผลผลิตเซลล์ (biomass productivity, $P_{\max}$) ในหน่วยเซลล์/ล./วัน ดังนี้ $P_{\max} = C_{\max} \times \mu_{\max}$ โดยที่ $C_{\max}$ คือ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) (Contreras Gomez et al., 1998) ซึ่งวันสุดท้ายของการทดลองได้เก็บเซลล์มาปั่นเหวี่ยง และทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer (รุ่น Beta 1-8 LO plus, Martin Christ)

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันและองค์ประกอบกรดไขมันของไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501

นำเซลล์แห้ง 50 มก. มาสกัดไขมันตามวิธีของ Folch et al. (1957) โดยใช้สารละลายผสม Chloroform:Methanol เมื่อได้สารละลายไขมันจะนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator (รุ่น R-210, Buchi) ฟันด้วยก๊าซไนโตรเจนและชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักไขมัน จากนั้นละลายไขมันด้วยสารละลายผสม Chloroform:Methanol ที่ผสม BHT แล้วทำการทรานเอสเทอริฟิเคชัน (tranesterification) ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Christie (2003) และนำสารละลายไประเหยและเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นละลายกรดไขมันด้วย n-hexane ปริมาตร 1 มล. นำสารละลายกรดไขมันไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (รุ่น 7890A, Agilent) ที่มีอุปกรณ์ตรวจวัดเป็น Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์รุ่น 19091N-133, HP-INNOWAX (Agilent) จัดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร แบบ split (5:1) อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียม 1.1 มล./นาที อุณหภูมิจุดฉีดสาร 240 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ detector 260 องศาเซลเซียส โดยเริ่มต้นที่ 35 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้นาน 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 170 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียส/นาที และคงอุณหภูมิไว้ 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 240 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 2 องศาเซลเซียส/นาที คงไว้ 3 นาที รวมเวลาวิเคราะห์ 86.5 นาที จำแนกชนิดกรดไขมันโดยเปรียบเทียบกับ Retention Time ของกรดไขมันมาตรฐาน 37 Component FAME Mix (Supelco)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ผลผลิตมวลชีวภาพและปริมาณกรดไขมันของไดอะตอม ด้วยวิธี T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 15

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเติบโตของไดอะตอมท้องน้ำ *Nitzschia* BUUC1501 ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิก

ไดอะตอม *Nitzschia* sp. BUUC1501 ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกและมิกโซโทรฟิกสามารถเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) ได้โดยที่ไม่มีระยะพักเซลล์ (lag phase) (Figure 1) และเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิคมียุทธการเติบโตสูงกว่าสภาวะมิกโซโทรฟิก ($P \leq 0.05$) รวมถึงผลผลิตมวลชีวภาพไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงแบบสภาวะออโตโทรฟิคมียุทธการเติบโตสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิก ($P \leq 0.05$) (Table 1) ประมาณ 2.2 เท่า ซึ่งแตกต่างจากหลายงานวิจัยที่พบว่าไดอะตอม *Synedra acus* และสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* เติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมิกโซโทรฟิก (Shishlyannikov et al., 2014; Li et al., 2014) ทั้งนี้เพราะการเพาะเลี้ยงแบบมิกโซโทรฟิกในงานวิจัยนี้ใช้แหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส 10 ก./ล. คิดเป็น 4 ก.คาร์บอน/ล. ซึ่งกลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เซลล์ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่สามารถนำไปใช้ได้โดยตรง จึงส่งเสริมให้เซลล์เติบโตได้ดีกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดอื่นๆ แต่หากมีความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเติบโตของไดอะตอมได้ (Morales-Sánchez et al., 2013) ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในขนาด

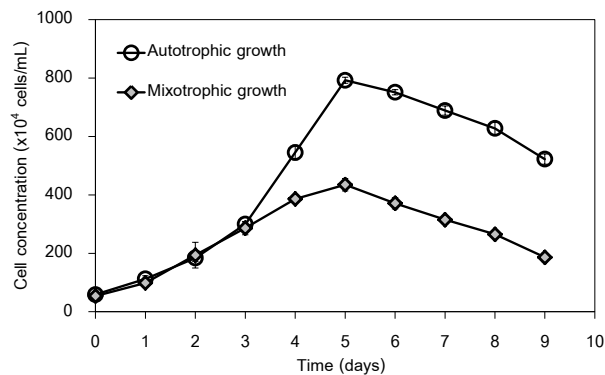


Figure 1 Density of *Nitzschia* sp. BUU1501 under different conditions

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

Growth condition	Specific growth rate (day ⁻¹)	Maximum cell density (x10 ⁴ cells/mL)	Biomass productivity (x10 ⁷ cells/L/day)
Autotrophic growth	0.57 $\pm$ 0.07 ^a	792.50 $\pm$ 10.60 ^a	451.73 $\pm$ 29.15 ^a
Mixotrophic growth	0.47 $\pm$ 0.04 ^a	435.12 $\pm$ 22.32 ^b	204.51 $\pm$ 11.18 ^b
P-value	0.2290	0.0086	0.0081

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501

วิเคราะห์ปริมาณไขมันในไดอะตอมในวันที่ 9 ของการเลี้ยง ซึ่งสาหร่ายที่เติบโตในระยะพัก (lag phase) ระยะทวีคูณ (log phase) ระยะคงที่ (stationary phase) และระยะตาย (death phase) จะมีปริมาณไขมันเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ เพราะปริมาณสารอาหารลดลง เซลล์จึงสะสมพลังงานและอาหารไว้ในรูปของไขมัน (Pratiwi et al., 2009) ไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 ที่เพาะเลี้ยงแบบมิกโครไฟดมีไขมัน 26.73 $\pm$ 1.02% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิกที่มีปริมาณ 18.83 $\pm$ 0.58% ของน้ำหนักแห้ง ($P \leq 0.05$) (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งการเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้สภาวะมิกโครไฟดเซลล์ได้รับคาร์บอนทั้งสารอินทรีย์ (กลูโคส) และสารอนินทรีย์ (ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์) ในขณะที่สภาวะออโตโทรฟิกเซลล์มีแหล่งคาร์บอนจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เพียงอย่างเดียว จึงส่งผลให้เซลล์ที่เติบโตในสภาวะมิกโครไฟดนำคาร์บอนไปสร้างมวลชีวภาพและสะสมในรูปไขมันได้รวดเร็ว (Bhatnagar et al., 2010)

จาก Table 2 แสดงให้เห็นว่า ไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงในสภาวะออโตโทรฟิกและมิกโครไฟดมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids, SFAs) 72.56 และ 71.41% ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งสูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เช่นเดียวกับไดอะตอม *Chaetoceros gracilis* ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวตลอดระยะการเติบโตจนถึงระยะตาย (Pratiwi et al., 2009) และผลการทดลองพบว่าไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 มี palmitic acid (16:0) สูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัวชนิดอื่น ทั้งนี้เป็นลักษณะเฉพาะของสาหร่ายในกลุ่ม Bacillariophyceae หรือไดอะตอมที่มักพบกรดไขมันชนิดนี้สะสมในเซลล์สูงที่สุด เพื่อทำหน้าที่เกี่ยวกับการสะสมพลังงานของไดอะตอม โดยกรดไขมันชนิดนี้จะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเซลล์อยู่ในระยะที่มีปริมาณสารอาหารลดลง

(Mansour et al., 2003) การเพาะเลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิคมีชนิดและปริมาณรวมของกรดไขมันเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acids, MUFAs) สูงกว่าสภาวะออโตโทรฟิค ($P \leq 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง oleic acid (18:1n9c) ที่มีความสำคัญในการเริ่มสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน หรือ PUFAs ด้วยกระบวนการ desaturation และ elongation และมักพบว่าหากปริมาณ oleic acid ลดลงก็จะพบ PUFAs

เพิ่มสูงขึ้น (Pratiwi et al., 2009) แต่ในงานวิจัยนี้พบว่า EPA (20:5n3) จะมีเฉพาะในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิคเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากไดอะตอมเติบโตได้ดีในสภาวะนี้ ดังนั้นไดอะตอมจะผลิตออกซิเจนได้สูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงในสภาวะมิกโซโทรฟิคซึ่งออกซิเจนมีความจำเป็นในกระบวนการ desaturation และ elongation เพื่อสร้างกรดไขมันในกลุ่ม ω -3 ซึ่งรวมถึง EPA ด้วย (Wen and Chen, 2003)

Table 2 Percentage of fatty acid in total fatty acids of *Nitzschia* BUUC1501 cultured under different conditions. Values with different letters in the same row indicate significant differences ($P \leq 0.05$).

Fatty acid	Autotrophic growth	Mixotrophic growth	P-value
<u>Saturated fatty acid</u>			
13:0 (Tridecyl acid)	6.55±0.36 ^b	20.88±0.75 ^a	0.0000
14:0 (Myristic acid)	7.90±0.52 ^a	3.67±0.05 ^b	0.0001
15:0 (Pentadecanoic acid)	7.78±0.66 ^a	5.05±0.17 ^b	0.0023
16:0 (Palmitic acid)	33.00±2.38 ^a	26.78±0.43 ^b	0.0111
18:0 (Stearic acid)	17.33±0.98 ^a	15.03±0.22 ^a	0.1690
<u>Monounsaturated fatty acid</u>			
16:1 (Palmitoleic acid)	20.97±1.50 ^a	13.36±0.11 ^b	0.0009
18:1n9c (Oleic acid)	2.09±3.61 ^a	7.79±0.12 ^a	0.0525
18:1n9t (Elaidic acid)	ND	7.45±0.28	ND
<u>Polyunsaturated fatty acid</u>			
20:5n3 (Eicosapentaenoic acid)	4.38±3.82	ND	ND
SFAs	72.56±4.90 ^a	71.41±0.32 ^a	0.0034
MUFAs	23.06±2.11 ^b	28.59±0.17 ^a	0.0890
PUFAs	4.38±3.82	ND	ND

Remark: ND was not detected.

สรุป

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Nitzschia* BUUC1501 ในขวดปริมาตร 2 ล. พบว่าเซลล์ให้ผลผลิตมวลชีวภาพสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะออโตโทรฟิค โดยให้ผลผลิตมวลชีวภาพสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมิกโซโทรฟิค 2.2 เท่า แต่เซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมิกโซโทรฟิคมีไขมันและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวสะสมสูงกว่าสภาวะออโตโทรฟิค ส่วนกรดไขมันชนิด eicosapentaenoic acid พบเฉพาะในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะออโตโทรฟิคเท่านั้น

คำขอบคุณ

งานวิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 124/2560

เอกสารอ้างอิง

- ชมพูนุท ชัยรัตน์, สรวีศ เฝ้าทองสุข และสมเกียรติ ปิยะธีร
จิตติวรกุล. 2546. การเติบโตของไดอะตอม *Amphora
delicatissima* ในที่มีได้ภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิก.
วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
25(2): 205-212.
- มะลิวัลย์ คุตะโค, สมเกียรติ เว้นมณี, ปวีณา ตบนิยวรงค์, สุร
เชษฐ์ บุระอาชาไนย และสรวีศ เฝ้าทองสุข. 2560. การ
เติบโตแบบออโตโทรฟิก มิกโซโทรฟิกและเฮเทอโรโทรฟิก
ของไดอะตอมท้องถิ่น *Nitzschia* sp. BUUC1501. แก่น
เกษตร. 45(ฉบับพิเศษ 1): 915-920.
- Bhatnagar, A., M. Bhatnagar, S. Chinnasamy, and K. Das.
2010. *Chlorella minutissima*-a promising fuel alga for
cultivation in municipal wastewaters. Appl. Biochem.
Biotechnol. 161: 523-536.
- Bridson, E.Y. 1995. The Oxoid Manual. 7 ed. Unipath
Limited, London.
- Christie, W. W. 2003. Lipid Analysis: Isolation, Separation,
Identification and Structural Analysis of Lipids. 3rd
editions. The Oily Press, Bridgewater, UK. 416 pp.
- Contreras Gómez, A., F. García Camacho, J. Merchuk,
and E. Molina Grima. 1998. Interaction between CO₂-
mass transfer, light availability, and hydrodynamic
stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in
a concentric tube airlift photobioreactor. Biotechnol.
Bioengng. 60: 318-325.
- Folch, J., M. Lees, and G.H.S. Stanley. 1957. A simple
method for the isolation and purification of total lip-
ides from animal tissues. The Journal of Biological
Chemistry. 226: 497-509.
- 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 produc-
tion. Energy Procedia. 52: 371-376.
- Lowrey, J., M.S. Brooks, and P.J. McGinn. 2015. Hetero-
trophic and mixotrophic cultivation of microalgae
for biodiesel production in agricultural wastewaters
and associated challenges—a critical review. J Appl
Phycol. 27:1485-1498
- Mansour, M.P., J.K. Volkman, and S.I. Blackburn. 2003.
The effect of growth phase on the lipid class, fatty
acid and sterol composition in the marine dinoflagel-
late, *Gymnodinium* sp. In batch culture. Phytochem-
istry. 63:145-153.
- Morales-Sánchez, D., R. Tinoco-Valencia, J. Kyndt, and A.
Martinez. 2013. Heterotrophic growth of *Neochloris
oleoabundans* using glucose as a carbon source.
Biotechnology for Biofuels. 6(100): 1-12.
- Shishlyannikov, S.M., I.V. Klimenkov, Y.D. Bedoshvili, I.S.
Mikhailov and A.G. Gorshkov. 2014. Effect of mixo-
trophic growth on the ultrastructure and fatty acid
composition of the diatom *Synedra acus* from Lake
Baikal. J Biol Res (Thessalon).21(1): 15-21.
- Wah, N.B., A.L. Ahmad, D.C.J. Chieh, and A.T.S. Hwai.
2015. Changes in lipid profiles of a tropical benthic
diatom in different cultivation temperature. Asian
Journal of Applied Science and Engineering. 4(2):
91-101.
- Zhi-You, W., and F. Chen. 2003. Heterotrophic production
of eicosapentaenoic acid by microalgae. Biotechnol-
ogy Advances.21(4): 273-294.