การคัดแยกไดอะตอมขนาดใหญ่จากบ่อพักน้ำของฟาร์มเลี้ยงกุ้ง และการเพาะเลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์และแบบต่อเนื่อง

Isolation of large diatom from shrimp farm reservoir and cultivation under batch and continuous modes

ปวีณา ตปนียวรวงศ์[1,2*], เฟื่องฟ้า เสริมใหม่[3], ปรารถนา ปานทอง[1,2], มะลิวัลย์ คุตะโค[3], วิชญา กันบัว[4] และ สรวิศ เผ่าทองศุข[1,2]

Paveena Tapaneeyaworawong[1,2*], Fuengfa Sermmai[3], Prarathana Pantong[1,2], Maliwan Kutako[3], Vichaya Gunbua[4] and Sorawit Powtongsook[1,2]

บทคัดย่อ: การศึกษานี้ได้คัดแยกและเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่เซลล์มีขนาดใหญ่จากบ่อพักน้ำของฟาร์มเลี้ยงกุ้งในจังหวัดจันทบุรี ซึ่งตั้งอยู่ในภาคตะวันออกของประเทศไทย ทำการคัดแยกไดอะตอมด้วยเทคนิค single cell isolation โดยใช้อาหารสูตร F/2พบว่าคัดแยกได้ไดอะตอม *Navicula* sp. BUUC1501 ซึ่งเซลล์มีความยาว 40 ไมครอน และสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์จากอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการตกตะกอน จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* sp. BUUC1501 แบบแบทช์ในขวด 1 ล. พบว่าไดอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 129.17x10^4 เซลล์/มล. และอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.99 ต่อวัน ส่วนการขยายปริมาตรการเพาะเลี้ยงเป็น 5 ล. พบว่าไดอะตอมมีอัตราการเติบโตจำเพาะลดลงเพียงเล็กน้อยเป็น 0.84 ต่อวัน และมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 129.39x10^4เซลล์/มล. เมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบต่อเนื่องในขวดปริมาตร 2 ล. ด้วยอัตราการเจือจางในช่วง 0.2-0.6 ต่อวัน พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบต่อเนื่องได้นานกว่า 40 วัน และที่อัตราการเจือจาง 0.22 ต่อวัน ไดอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 183.92 ± 44.16 x10^4 เซลล์/มล. และให้ผลผลิตมวลชีวภาพเท่ากับ 40.74 x10^7 เซลล์/ล./วัน การเพิ่มอัตราการเจือจางเป็น 0.4 ต่อวัน กลับส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลงเป็น 141.75 ± 17.10 x10^4 เซลล์/มล. ผลการเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบต่อเนื่องแสดงให้เห็นว่าไดอะตอมให้ผลผลิตเซลล์สูงที่สุด 87.15 x10^7 เซลล์/ล./วัน เมื่อใช้อัตราการเจือจาง 0.58 ต่อวัน ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 150.00 ± 25.74 x10^4 เซลล์/มล.

คำสำคัญ: ไดอะตอม, การแยกเชื้อบริสุทธิ์, ผลผลิตมวลชีวภาพ, การเลี้ยงแบบแบทช์, การเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

[1] ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency

[2] ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

[3] คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี
Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chantaburi Campus

[4] ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University

* Corresponding author: paveena.tap@biotec.or.th

ABSTRACT: This study involved the isolation and cultivation of large diatom from shrimp farm reservoir in Chantaburi Province, Eastern Thailand. Isolation was performed by single cell isolation technique using F/2 medium and the diatom was identified as *Navicula* sp. BUUC1501. The *Navicula* sp. BUUC1501 was 40 microns in length and cells could be harvested from the culture medium by sedimentation. Under batch culture condition, maximum cells density of *Navicula* sp. BUUC1501 in 1L culture bottles were 129.17x10^4 cells/ml with specific growth rate of 0.99 /day. Scaling up the culture to 5 L culture bottles slightly reduced the specific growth rate to 0.84 /day with the maximum cells density 129.39x10^4 cells/ml. Finally, continuous culture of *Navicula* sp. BUUC1501 was performed in 2 L culture bottle with the dilution rate between 0.2-0.6 /day. It was found that *Navicula* sp. was successfully cultured under continuous mode for more than 40 days. At the dilution rate of 0.22 /day, the diatom density was 183.92 ± 44.16 x10^4 cells/ml and the biomass productivity of 40.74 x10^7 cells/L/day. Increasing of the dilution rate to 0.4 /day decreased the cells density to 141.75 ± 17.10 x10^4 cells/ml. With continuous culture, the highest cell productivity of 87.15 x10^7 cells/L/day was obtained from the dilution rate of 0.58 /day which provided the cells density of 150.00 ± 25.74 x10^4 cells/ml.
Keywords: diatom, isolation, biomass productivity, batch culture, continuous culture

บทนำ

ปัญหาที่พบในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวปริมาณมาก ก็คือการเก็บผลผลิตสาหร่าย เนื่องจากเซลล์ของสาหร่ายมักมีขนาดเล็กไม่สามารถเก็บโดยการกรองได้ การผลิตสาหร่ายเซลล์เดียวในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จึงจำเป็นต้องใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ซึ่งมีราคาแพงมาก การค้นหาสายพันธุ์สาหร่ายที่จะสามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมากโดยสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่ายจึงมีความจำเป็น

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม เช่น กุ้งขาวและปลากะพง เกษตรกรจะสูบแหล่งน้ำเค็มธรรมชาติน้ำนำมากักเก็บไว้ในบ่อพักเพื่อเตรียมน้ำก่อนนำเข้าสู่บ่อเลี้ยง จึงสามารถพบสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เติบโตอยู่ได้ เช่น *Oscillatoria, Chaetoceros, Skeletonema, Nitzchia, Navicula* และ *Cymbella* (Sen and Sonmez, 2006) ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กดังกล่าวโดยเฉพาะในกลุ่มของไดอะตอม (diatom) จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเพราะอุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง (PUFA) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการเติบโตและพัฒนาการของสัตว์น้ำวัยอ่อนอีกด้วย (Natrah et al., 2007) จึงทำให้ไดอะตอมมีบทบาทสำคัญในด้านการเป็นอาหารสำหรับลูกสัตว์น้ำของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน, ลูกปลา และใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยสองฝาในทุกๆ ระยะ รวมถึงใช้เป็นอาหารสำหรับแพลงก์ตอนสัตว์ซึ่งจะถูกนำไปใช้เป็นอาหารเมื่อลูกสัตว์น้ำโตขึ้น (Volkman et al., 1989) ทั้งนี้หากสามารถเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่มีอยู่ในน้ำเค็มเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ในข้างต้นจึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างคุ้มค่าเนื่องจากในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมดังกล่าวด้วยน้ำเค็มธรรมชาติได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้แยกไดอะตอมน้ำเค็มจากบ่อพักน้ำในฟาร์มกุ้ง จังหวัดจันทบุรี โดยเน้นไดอะตอมที่มีเซลล์ขนาดใหญ่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ด้วยวิธีการทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำมาศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอม โดยเพาะเลี้ยงทั้งแบบแบทช์ (batch culture) และและต่อเนื่อง (continuous culture) ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่แยกได้จากแหล่งน้ำเค็มเพื่อนำใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

สถานที่และการเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำโดยกรองผ่านถุงลากแพลงก์ตอนและเก็บตัวอย่างไดอะตอมที่เติบโตเกาะติดเป็นเมือกที่ปกคลุมผิวหน้าดินและก้อนหินภายในบ่อพักน้ำขนาด 2 ไร่ จากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี และตรวจวัดพารามิเตอร์ต่างๆ ประกอบด้วยปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรต ฟอสเฟตและ

ซิลิเกต (Strickland and Parsons, 1972) โดยมีค่าเท่ากับ 0.84 มล.ไนโตรเจน/ล., 0.07มล.ไนโตรเจน/ล., 0.83มล.ไนโตรเจน/ล., 0.01 มล.ฟอสฟอรัส/ล. และ 1.62 มล.ซิลิเกต/ล. ตามลำดับ และวัดค่าการละลายออกซิเจนด้วย DO meter ((รุ่น DO 200, YSI INC) มีค่าเท่ากับ6.42 มล.ก./ล. ตรวจวัดค่า pH ด้วย pH meter (รุ่น CONSORT C532x, CONSORT) มีค่าเท่ากับ 2.88

การแยกไดอะตอม

นำน้ำที่เก็บได้จากบ่อพักน้ำมาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อแยกเซลล์ไดอะตอมให้ได้เซลล์เดี่ยวด้วยเทคนิค Single cell isolation จากนั้นนำเซลล์เดี่ยวไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1973) ที่เตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) บ่มในสภาวะห้องปฏิบัติการที่ให้แสงตลอดเวลา (ประมาณ 1000 ลักซ์) แยกเซลล์ไดอะตอมให้มีความบริสุทธิ์โดยนำไดอะตอมในอาหารเพาะเชื้อมาเขี่ย (streak) ลงบนอาหารแข็งสูตรกิลลาร์ด F/2 ที่มีวุ้น 1.5 % นำไปบ่มจนกระทั่งพบว่าไดอะตอมเติบโตจึงเลือกโคโลนีเดี่ยวและย้ายที่ลงในอาหารเหลว รอจนกระทั่งไดอะตอมเติบโตจึงจำแนกสกุลโดยตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ตามวิธีของ ลัดดา, 2542

การเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบแบทช์

นำไดอะตอม *Navicula* ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำในฟาร์มกุ้งมาเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ในขวดแก้วปริมาตร 1 และ 5 ล. ตามลำดับ โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ซ้ำ ด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตรกิลลาร์ด F/2 (เตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 3,000 ลักซ์ ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดเวลา เนื่องจากไดอะตอมชนิดนี้มีขนาดเซลล์ใหญ่และตกตะกอนจึงต้องมีการกวนตลอดเวลาโดยใช้เครื่องกวนสาร (magnetic stirrer) ร่วมกับการให้อากาศตลอดเวลา และทำการติดตามการเติบโตของไดอะตอมด้วยการนับจำนวนด้วยสไลด์นับเม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน และคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะของไดอะตอมตามวิธีของ Becker (1994) โดยทำการสุ่มนับทั้งสิ้นตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

การเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบต่อเนื่อง

การศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* ในแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับแบบแบทช์ แต่ในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องจะใช้เครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย (Masterflex C/L model 77120-62) เพื่อควบคุมอัตราการไหลของอาหารที่สูบอาหารจากถังเก็บอาหารเข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงไดอะตอมตลอดเวลา ในขณะเดียวกันผลผลิตของไดอะตอมที่ได้ในขวดเพาะเลี้ยงก็จะไหลออกทางท่อด้านบนด้วยแรงดันอากาศภายในขวดเข้าสู่ขวดเก็บเกี่ยวผลผลิตไดอะตอม การทดลองเริ่มต้นจากเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* แบบแบทช์ในขวดแก้วปริมาตร 2 ล. นาน 4 วัน โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ชุดทดลอง เมื่อให้ไดอะตอมเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ จากนั้นจึงเริ่มเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางประมาณ 0.2 ต่อวัน โดยอัตราการเจือจางคำนวณได้จาก D=F/ V โดยที่ D = อัตราการเจือจาง (ต่อวัน), F=อัตราการไหลของน้ำเลี้ยง (ล./วัน) และ V=ปริมาตรการทำงานของถังเลี้ยง (ล.) (Bailey and Oillis, 1986) เมื่ออัตราการเจือจางและความหนาแน่นเซลล์คงที่จึงทำการอัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นเป็น 0.4, 0.5 และ 0.6 ต่อวัน ตามลำดับ ในระหว่างการทดลองได้ติดตามการเติบโตของไดอะตอมด้วยการนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยสุ่มนับตัวอย่างละ 3 ครั้งและวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้เพื่อคำนวณอัตราการเติบโตทุกวัน

ผลการศึกษา

การแยกไดอะตอม

จากการคัดแยกไดอะตอมจากบ่อพักน้ำในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง นำเซลล์ที่คัดเลือกได้มาจำแนกเบื้องต้นโดยการต้มเซลล์ในสารละลายกรดไนตริกและซัลฟูริคเข้มข้น นำเปลือกเซลล์ที่ผ่านการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดแล้วมาส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นไดอะตอม *Navicula* sp. ที่มีขนาดความยาวประมาณ 40 ไมครอน ให้ชื่อว่า *Navicula* sp. BUUC1501

การเติบโตของไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 ที่เพาะเลี้ยงแบบแบทช์

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 แบบแบทช์โดยใช้ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 13.39±2.51x10^4 เซลล์/มล. ในขวดแก้วปริมาตร 1 ล. เป็นเวลา 7 วัน พบว่าในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ไดอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดถึง 129.17±6.03x10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Figure 1) ทั้งนี้ไดอะตอมมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.99 ต่อวัน (ในวันที่ 0-2 ของการเลี้ยง) ส่วนการทดลองเพิ่มปริมาตรการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในขวดแก้ว 5 ล. เป็นเวลา 9 วัน โดยใช้ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น 12.61±1.49x10^4 เซลล์/มล. จากนั้นพบว่าไดอะตอมมีการเติบโตและมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 129.39±7.08x10^4 เซลล์/มล. ในวันที่ 6 ของการเลี้ยง และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.84 ต่อวัน ในวันที่ 0-2 ของการเลี้ยง (Figure 1) ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบแบทช์ด้วยปริมาตร 1 ล. จะเติบโตได้รวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตร 5 ล. แต่มีความหนาแน่นสูงสุดใกล้เคียงกัน

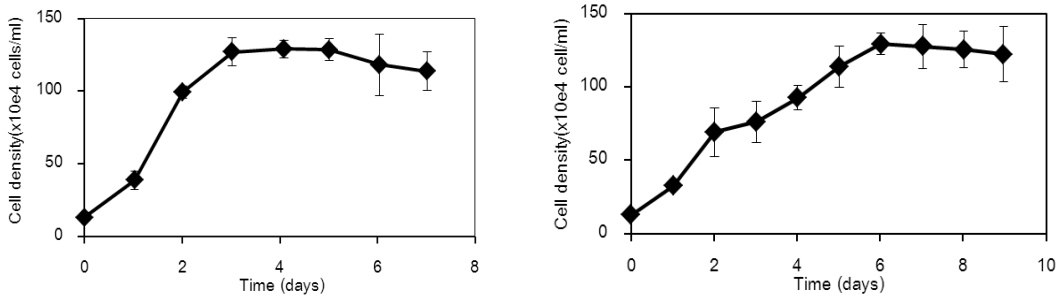

Figure 1 Growth of *Navicula* BUUC1501 in 1 L (left) and 5L (right) bottles under batch culture condition.

การเติบโตของไดอะตอม *Navicula* ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

Figure 2 แสดงให้เห็นการเติบโตของไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 ที่แยกเชื้อได้จากบ่อพักน้ำในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 41 วัน โดยได้เลี้ยงแบบแบทช์ก่อนเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งไดอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์ 201.39±21.50 x10^4 เซลล์/มล. จากนั้นในวันที่ 5-14 ของการเลี้ยง ได้ปรับเป็นการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องโดยมีการเติมอาหารเข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.22 ± 0.02 ต่อวัน พบว่ามีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 183.92 ± 44.16 x10^4 เซลล์/มล.เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.40 ± 0.02 ต่อวัน ในระหว่างวันที่ 15-24 ของการเลี้ยง พบว่าไดอะตอมมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 141.75 ± 17.10 x10^4 เซลล์/มล. หลังจากนั้นในวันที่ 25-41 ของการเลี้ยง การเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นอีกเป็น 0.58 ± 0.08 ต่อวัน ไดอะตอมมีความหนาแน่น 150.00 ± 25.74 x10^4 เซลล์/มล. เมื่อคำนวณผลผลิตเซลล์ที่อัตราการเจือจาง 0.22, 0.40 และ 0.58 ต่อวัน มีผลผลิต

เท่ากับ 40.67±11.67, 56.58±5.23 และ 87.32±15.26 x10^7 เซลล์/ล./วัน ตามลำดับ ผลจากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าผลผลิตไดอะตอมเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางที่สูงขึ้นเช่นกัน โดยที่อัตราการเจือจาง 0.58 ต่อวัน สามารถให้ผลผลิตมวลชีวภาพไดอะตอมได้สูงที่สุด

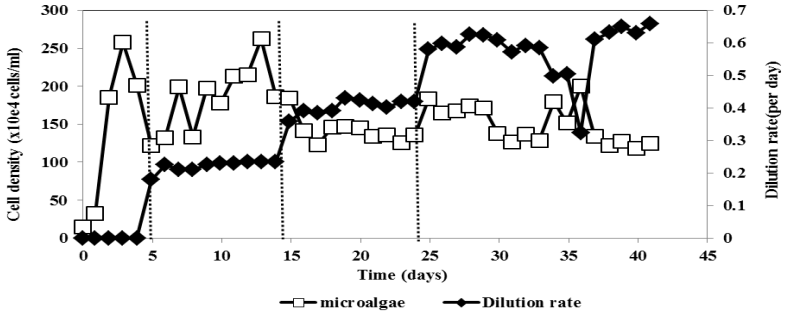

Figure 2 Growth of *Navicula* BUUC1501 in 2 L bottle under continuous culture condition

วิจารณ์

จากการจำแนกชนิดของไดอะตอมที่คัดแยกได้จากบ่อพักน้ำในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำพบว่าเป็นไดอะตอม *Navicula* sp. ซึ่งไดอะตอมชนิดนี้มีข้อดีคือสามารถเติบโตได้ดีในอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายสูตรมาตรฐาน (F/2) ในสภาวะห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 แบบแบทช์ในขวดแก้วขนาด 1 ล. มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ0.99 ต่อวัน ในวันที่ 0-2 ของการเลี้ยง ซึ่งใกล้เคียงกับไดอะตอมชนิดที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 1.00 ต่อวัน (ปวีณา, 2546) ซึ่งอัตราการเติบโตจำเพาะจะมีค่าแตกต่างกันในสาหร่ายแต่ละชนิด แต่เมื่อเพิ่มปริมาตรการเพาะเลี้ยงเป็น 5 ลิตร กลับพบว่าอัตราการการเติบโตจำเพาะลดลงเล็กน้อยโดยมีค่าเท่ากับ 0.84 ต่อวัน ในวันที่ 0-2 ของการเลี้ยง ทั้งนี้อาจเนื่องจากปัจจัยจำกัดเรื่องความเข้มแสงที่จะส่องผ่านเข้าไปด้านในของขวดเลี้ยง เกิดการบังแสงกันเอง (self-shading) ของไดอะตอมในขวดที่มีขนาดใหญ่ขึ้นส่งผลให้ไดอะตอมมีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงทำให้อัตราการเติบโตลดลง อย่างไรก็ตาม แนวทางในการเพิ่มปริมาตรการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 แบบแบชท์เพื่อผลิตมวลชีวภาพมีความเป็นไปได้โดยอาจเพิ่มความเข้มแสงในระหว่างการเพาะเลี้ยง หรือปรับเปลี่ยนรูปแบบภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพการได้รับแสงมากขึ้น เช่นใช้ถังปฏิกรณ์ที่เป็นแบบแผ่นแบน (flat plate) ซึ่งจะช่วยให้แสงส่องผ่านได้ดีทำให้ไม่เกิดปัญหาเรื่องการบังแสงกันเองของเซลล์ที่มีความหนาแน่นสูง (Zhang and Richmond, 2003) อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบแบทช์จะไม่มีการเติมอาหารเข้าเพิ่มเติมในระหว่างการเพาะเลี้ยง เมื่อทำการเลี้ยงไประยะหนึ่งก็จะทำให้ปริมาณสารอาหารในน้ำลดลงจนหมดไป ส่งผลให้ไดอะตอมไม่สามารถเติบโตเพิ่มจำนวนต่อไปได้ ในขณะที่เมื่อปรับระบบการเลี้ยงเป็นแบบต่อเนื่อง จะช่วยลดปัญหาเรื่องการขาดสารอาหารของไดอะตอม (Bailey and Oillis, 1986) เมื่อเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานพบว่าไดอะตอมสามารถเติบโตได้ดี และการเพิ่มอัตราการเจือจางก็จะส่งผลต่อความหนาแน่นของเซลล์ที่เลี้ยง โดยการเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นจาก 0.22 เป็น 0.58 ต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ในสภาวะ steady stage จะลดลงจาก 183.92 ± 44.16 x10^4 เหลือ 150.00± 25.74 x10^4 เซลล์/มล. แสดงให้เห็นว่าเมื่ออัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการ

ทดลองของ Shozen et al., (2001) ที่ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros ceratosporum* ซึ่งการเพิ่มอัตราการเจือจางที่สูงเกินไปจะทำให้สาหร่ายไม่สามรถเติบโตขึ้นมาทดแทนได้ทำให้เกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ (washout) ในงานวิจัยครั้งนี้พบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.58 ต่อวัน ไดอะตอมให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 87.15 x10^7 เซลล์/ล./วัน แสดงให้เห็นว่าอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.5-0.6 ต่อวัน เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 เป็นอัตราการเจือจางที่ให้ผลผลิตเซลล์สูงสุดและไม่เกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ ซึ่งผลการเติบโตนี้มีค่าใกล้เคียงกับกับการศึกษาของ Wen and Chen(2001) พบว่าอัตราการเจือจางที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Nitzschia laevis* มีค่าเท่ากับ 0.6 ต่อวัน แต่จากการศึกษาของมะลิวัลย์ และคณะ (2549) การเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* ที่อัตราการเจือจาง 0.98 ต่อวัน ให้ผลผลิตเซลล์สูงกว่า เนื่องจากได้ทำการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบนที่เพิ่มประสิทธิภาพการรับแสงได้ดีกว่าซึ่งส่งผลให้สาหร่ายเติบโตได้ดีที่ระดับอัตราการเจือจางสูง

ไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 ที่แยกได้จากบ่อพักน้ำสามารถเติบโตได้ดีทั้งในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์และแบบต่อเนื่อง และเซลล์มีขนาดใหญ่สามารถจมตัวลงสู่ก้นภาชนะได้ด้วยตัวเอง สามารถเก็บผลผลิตเซลล์ได้ง่ายต่างจากสาหร่ายเซลล์เดียวทั่วไปที่มีขนาดเล็กทำให้ยากต่อการเก็บเกี่ยว (Sun et al., 2013) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำไดอะตอมชนิดนี้มาเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต นอกจากนี้ *Navicula* ชนิดนี้ยังแยกเลี้ยงได้จากน้ำในบ่อพักน้ำของฟาร์มเลี้ยงกุ้งที่ค่าพีเอชเท่ากับ 2 ซึ่งเป็นสภาวะที่ใกล้เคียงกับรายงานของ (DeNicola, 2000) ที่พบไดอะตอมในแหล่งน้ำที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 3.5 ทั้งนี้การที่สาหร่ายชนิดนี้สามารถเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรดจะเป็นข้อดีอย่างมากสำหรับการป้องกันการปนเปื้อนในระบบการเลี้ยงกลางแจ้งได้

สรุป

จากการคัดแยกไดอะตอมได้จากบ่อพักน้ำเค็มในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง จังหวัดจันทบุรี จำแนกได้เป็นไดอะตอม *Navicula* BUUC1501 โดยสามารถเพาะเลี้ยงได้ผลดีภายในสภาวะห้องปฏิบัติการทั้งในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์และแบบต่อเนื่อง โดยในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ในขวดแก้ว 1 ล. มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.99 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 129.17 x10^4 เซลล์/มล. ส่วนการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องพบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.58 ต่อวัน สามารถให้ผลผลิตไดอะตอมได้ดีที่สุดโดยมีผลผลิตสูงสุด 87.15 x10^7 เซลล์/ล./วัน

คำขอบคุณ

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

เอกสารอ้างอิง

ปวีณา ตปนียวรวงศ์. 2546. การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

มะลิวัลย์ คุตะโค และ สรวิศ เผ่าทองศุข. 2549. ผลของอัตราการเจือจางและความเข้มแสงต่อการเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพรูปทรงแผ่นแบน. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 28(5): 965-975.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Bailey, J. E., and D. F. Oillis. 1986. Biochemical Engineering Fundamental.2ed. McGraw-Hill. Singapore.

Becker, E.W. 1994. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press, UK.

Dahiya, A. 2015. Bioenergy: Biomass to Biofuels. A cademic Press, UK.

DeNicola, D.M. A review of diatoms found in highly acidic environments. 2000. Hydrobiologia. 433: 111-122.

Guillard, R.R.L. 1973. Method for Microflagellates and Nanoplankton. In: J.R. Stein (Ed.), *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, UK.

Natrah, F., F.M. Yosoff, M. Shariff,F. Abas, and N. S. Mariana. 2007. Screening of Malaysian indigenous microalgae for antioxidant properties and nutritional value. J. Appl. Phycol. 10(1007): 10811.

Sen, B., and F. Sonmez. 2006. A Study on the Algae in Fish Ponds and Their Seasonal Variations. International Journal of Science & Technology.1(1): 25-33.

Shozen, K., I. Umeda, T. Nakashima, and A. Honma. 2001. Continuous cultivation of a diatom, *Chaetoceros ceratosporum*, in deep-sea water pumped from toyama bay. IOA Newsletter. 12(4).

Strickland, J.D.H., and T. R. Parson. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Research of board of Canada. Canada.

Sun, X., C. Wang, Y. Tong, W. Wang, and J. Wei. 2013. A comparative study of microfiltration and ultrafiltration for algae harvesting. Algal Research. 2: 437-444.

Volkman, J.K., S.W. Jeffrey, P.D. Nichols, G.I. Rogers, and C.D. Garland. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. J. Exp. Mar.Biol.Ecol. 128: 219-240.

Wen, Z. Y., and F. Chen. 2001. A Perfusion-Cell breeding culture strategy for enhancing the productivity of eicosapentaenoic acid *Nitzschia laevis*. Applied Microbiology and Biotechnology. 57: 316322.

Zhang, C. W., and A. Richmond. 2003. Sustainable, high-yielding outdoor mass cultures of *Chaetoceros muelleri* var. subsalsum and *Isochrysis galbana* in vertical plate reactors. Mar Biotechnol. 5(3): 302-10