

ไคอะตอมน้ำเค็ม *Amphora delicatissima* สายพันธุ์ AM9901 ซึ่งคัดเลือกได้จากชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี สามารถเติบโตได้ดีภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในที่มีค โดยใช้อาหารเพาะเชื้อที่คัดแปลงจากอาหารเพาะเชื้อสำหรับสาหร่ายสูตร F/2 ที่เสริมด้วยสารอาหารอินทรีย์ จากการทดลองเพาะเลี้ยง *A. delicatissima* ภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในขวดรูปชมพู่ พบว่าไคอะตอมเติบโตได้สูงที่สุดให้ความหนาแน่นเซลล์ 88×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 ที่มีการเติมเปปโตน 5 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร เนื้อสกัด 1 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 4 กรัมคาร์บอนต่อลิตร (อาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C) จากการเพาะเลี้ยงไคอะตอมแบบแบคซ์ภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 1 ลิตร และ 5 ลิตร พบว่าไคอะตอมเติบโตได้สูงที่สุดให้ความหนาแน่นเซลล์ 75×10^4 และ 61×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และการเติมกลูโคสและอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพในระหว่างที่เซลล์มีการเติบโตในระยะคงที่มีผลทำให้การเติบโตของไคอะตอมเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ การเพิ่มซิลิกาในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C จาก 0.12 เป็น 2.4 มิลลิโมลาร์ (อาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C+2.4 mM Si) ทำให้ไคอะตอมมีการเติบโตได้สูงที่สุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์ 792×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C ถึง 9 เท่า และสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิกในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 ที่เสริมด้วยซิลิกา 1.2 มิลลิโมลาร์ (อาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+1.2 mM Si) ถึง 4 เท่า

จากการใช้อาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C+2.4 mM Si เพาะเลี้ยงไคอะตอมแบบแบคซ์ภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 1 ลิตร พบว่าไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 320×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเพาะเลี้ยงไคอะตอมแบบต่อเนื่อง พบว่าที่อัตราการเจือจางต่ำ (0.14 ต่อวัน) ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูง ($291-310 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ในระยะคงที่ (steady state) และการเพิ่มอัตราการเจือจางมีผลทำให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลงแต่ผลผลิตเซลล์ทั้งหมดกลับเพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงไคอะตอมด้วยอัตราการเจือจาง 1.24 ต่อวัน ซึ่งเป็นอัตราการเจือจางที่สูงกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบแบคซ์ พบว่าเกิดปรากฏการณ์ชะล้างเซลล์ออกจากระบบเพาะเลี้ยง

จากการวิเคราะห์สารประกอบทางชีวเคมีที่ผลิตขึ้นภายในเซลล์ของไคอะตอมน้ำเค็ม *A. delicatissima* พบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิกในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+NB+4C+2.4 mM Si มีปริมาณไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดไขมันบางชนิด เช่น ปาล์มิติก (C16:0) ปาล์มิตอเลอิก (C16:1) สเตียริก (C18:0) โอเลอิก (C18:1) ลิโนเลอิก (C18:2) ลิโนเลนิก (C18:3) และอีโคซะเพนตะอีโนอิก (อีพีเอ, C20:5) รวมทั้งรงควัตถุชนิด คลอโรฟิลล์-เอ คลอโรฟิลล์-ซี ฟุโคแซนทิน ไคอะไดโนแซนทินและไคอะไดโนแซนทินสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิกในอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2+1.2 mM Si

ABSTRACT

TE150967

The marine diatom *Amphora delicatissima* AM9901 isolated from Bangsaen beach, Chonburi Province was cultured under a heterotrophic condition in darkness using a modified F/2 algal medium supplemented with organic nutrients. Under a heterotrophic condition in a shaking flask scale, *A. delicatissima* showed the maximum growth at cell density 88×10^4 cells/mL when cultivated in the modified F/2 medium supplemented with 5 g/L peptone, 2 g/L yeast extract, 1 g/L meat extract and 4 g-carbon/L glucose (F/2+NB+4C medium). Under a heterotrophic condition in bioreactor 1 and 5 L, cells gave the maximum growth at cell density 75×10^4 and 61×10^4 cells/mL, respectively. An addition of glucose and fresh medium into the cell culture during the stationary growth phase resulted in an increase of the diatom growth. In addition, an increase of silica concentration from 0.12 to 2.4 mM (F/2+NB+4C+2.4mM Si medium) resulted in the maximum growth at cell density 792×10^4 cells/ml and the significant enhance in the growth of *A. delicatissima*. (9-fold higher than cells cultivated in F/2+NB+4C medium and 4- fold higher than cells cultivated photoautotrophically in F/2+1.2 mM Si medium)

From using F/2+NB+4C+2.4 mM Si medium in batch cultivation in the bioreactor 1 L *A. delicatissima* produced the maximum cell concentration of 320×10^4 cells/mL under heterotrophic condition. With the continuous cultivation, the high cell density ($291\text{--}310 \times 10^4$ cells/mL) was found in the steady state in the low dilution rate (0.14 day^{-1}). When the dilution rate was increased, cell density was proportionally decreased but cell productivity was increased. Cells were washed out from the vessel when the dilution rate higher than 1.24 day^{-1} whose rate was higher than the maximum specific growth rate of the diatom in the batch cultivation.

Biochemical analysis of *A. delicatissima*, cells cultured under a heterotrophic condition in F/2+NB+4C+2.4 mM Si medium showed higher amount of lipid, protein, carbohydrate, some fatty acids (plamitic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3) and eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5) including some pigments (chlorophyll-*a*, chlorophyll-*c*, fucoxanthin, diadinoxanthin and diatoxanthin) than cells cultured under a photoautotrophic condition in F/2+1.2 mM Si medium.