



สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม  
*Skeletonema costatum*  
 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยาน  
 Cultivation of Diatom *Skeletonema costatum* in  
 Airlift Photobioreactors

ศรัญญา มงคลสิทธิ์<sup>1</sup> สรวิต เผ่าทองสุข<sup>2</sup> และ ประเสริฐ ภาวสันต์<sup>1\*</sup>

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการเลี้ยงไดอะตอม *Skeletonema costatum* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยาน (Airlift photobioreactor) ปริมาตร 3 ลิตร ให้อากาศที่ 1.5 เซนติเมตรต่อวินาที ความเข้มแสง 33.78 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และใช้เซลล์เริ่มต้นที่  $0.4 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสูตรอาหารมาตรฐาน F/2 ของกิลลาร์ด จะได้เซลล์ที่มีความเข้มข้นสูงสุด  $1.96 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.032 ต่อชั่วโมง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเข้าไปในสูตรอาหารมาตรฐาน F/2 ให้มีค่า 4 เท่าของสูตรอาหารมาตรฐาน ส่งผลให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้นโดยได้ความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดที่  $4.6 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.046 ต่อชั่วโมง

**ABSTRACT**

This work investigated the cultivation of *Skeletonema costatum* in a 3L airlift photobioreactor which was operated at superficial air velocity of  $1.5 \text{ cm s}^{-1}$ , light intensity of  $33.78 \text{ mmol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  with an initial cell density of  $0.4 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$ . The cultivation in a standard Guillard F/2 medium provided the final culture with a maximum cell density of  $1.96 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$  at a specific growth rate of  $0.032 \text{ h}^{-1}$ . Experimental findings reveal that a 4 fold increase in silica concentration in the standard Guillard F/2 medium could significantly increase the cell growth with a final cell density of  $4.6 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$  at a specific growth rate of  $0.046 \text{ h}^{-1}$ .

<sup>1</sup> ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

<sup>2</sup> ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330 และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

\* Corresponding Author, E-Mail: prasert.p@chula.ac.th

## บทนำ

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สภาพแวดล้อม ปริมาณอาหาร รวมทั้งความสมบูรณ์ของสัตว์น้ำวัยอ่อน การเลือกอาหารที่เหมาะสมกับชนิดของสัตว์น้ำวัยอ่อนสามารถช่วยให้สัตว์น้ำมีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตสูง โดยอาหารที่เหมาะสมที่สุดชนิดหนึ่งสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำ คือ อาหารธรรมชาติที่เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) และ ไดอะตอม

ในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนสำหรับประเทศไทย ในปัจจุบันพบว่า ทางภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงใต้ นิยมใช้แพลงก์ตอนพืชจำพวกไดอะตอมคือ *Chaetoceros vulgaris* ส่วนในทางภาคใต้นิยมเลี้ยงไดอะตอม *Skeletonema costatum* เนื่องจากมีสภาพภูมิประเทศที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง ไดอะตอมทั้ง 2 ชนิดนี้เหมาะสำหรับนำมาอนุบาลลูกกุ้งในระยะนอพลีสสุดท้าย (nauplius 6) ที่กำลังเข้าสู่ระยะซุเอีย (zoea) ซึ่งลูกกุ้งต้องการสารอาหารจากไดอะตอมมาสร้างเปลือก ดังนั้นถ้าไดอะตอมมีปริมาณน้อย จะทำให้ลักษณะของกริเกิดการโค้งงอผิดปกติไป และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางอาหารของ *S. costatum* พบว่าให้คุณค่าที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่น ๆ (Su et al., 1988) โดยมีปริมาณกรดไขมัน (fatty acid 20:5 n-3) ประมาณ 30.2 % ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และองค์ประกอบทางชีวเคมีอื่น ๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งประกอบด้วย โปรตีน 37% คาร์โบไฮเดรต 20.8 % ไขมัน 4.7 % และเถ้า 39 % (Darley, 1977)

*S. costatum* เป็นไดอะตอมซึ่งพบได้มากตั้งแต่ชายฝั่งจนถึงระดับความลึกประมาณ 2 เมตร และมักพบบริเวณชายฝั่งมากกว่าในทะเลเปิด โดยสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 20-30°C ความเค็มตั้งแต่ 15-34 ppt (Bernhard and Rompi, 1965, Liao et al., 1983) การเพาะเลี้ยง *S. costatum* ในประเทศไทยโดยทั่วไปนิยมเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็มระดับ 25 ppt และใช้สารอาหารสำเร็จรูปที่มีองค์ประกอบของ ไนโตรเจน ฟอสเฟส และซิลิกา นอกจากนี้

ยังมีสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย เช่น เหล็ก แมกนีเซียม เป็นต้น และพบว่าสารบางอย่างมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโต และบางชนิดเป็นปัจจัยสำคัญในการสังเคราะห์แสง จึงมีการเติมสารอาหารเหล่านี้จำนวนเล็กน้อยลงในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม เช่น แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โคบอลต์ โมลิบดีนัม และวิตามิน (Droop, 1955) จากการศึกษาที่ผ่านมา Rouillard และ Robert (1992) พบว่าในแหล่งน้ำที่มีสารประกอบไนโตรเจนต่ำ ปริมาณของสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ของ *S. costatum* จะมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไขมัน โปรตีน และ กรดไขมันอิ่มตัวใน *S. costatum* มีน้อยลง นอกจากนี้ Urbani และคณะ (2005) พบว่า *S. costatum* เจริญเติบโตได้ดีหากปรับค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในอาหารเพาะเลี้ยง F/2 ให้เป็น 6 ไมโครโมลาร์ ผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *S. costatum* มีผลต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีที่มีอยู่ในเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ

ในปัจจุบันเกษตรกรไทยทำการเพาะเลี้ยง *S. costatum* โดยเริ่มต้นจากหัวเชื้อในห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงทำการขยายหัวเชื้อในถังขนาดใหญ่ในลักษณะระบบเปิด และมีการเป่าอากาศภายในถัง โดยเติมอาหารสำเร็จรูปลงไป ในน้ำทะเลที่มีระดับความเค็มที่เหมาะสม เพื่อเป็นอาหารสำหรับเลี้ยง *S. costatum* ทั้งนี้วิธีการเพาะเลี้ยงในปัจจุบันยังให้ผลผลิตที่ไม่ดีเท่าที่ควร ปริมาณเซลล์ที่ได้มีความเข้มข้นของเซลล์ค่อนข้างน้อย และใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลล์ในปริมาณที่ต้องการค่อนข้างมาก และปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ง่าย ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงได้พัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอมโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกในการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros vulgaris* พบว่าระบบเพาะเลี้ยงแบบอากาศยกมีข้อดีว่าการเลี้ยงปรกติเช่น ได้ปริมาณเซลล์มากกว่าในพื้นที่ของการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงน้อย และยังสามารถควบคุมการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นในระหว่าง

การเลี้ยงได้ง่าย เนื่องจากมีพื้นที่เปิดสู่สิ่งแวดล้อมน้อยลง (Krichnavaruk et al., 2005)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาเพาะเลี้ยง *S. costatum* ในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก โดยศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีคุณภาพ เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับนำไปพัฒนาการเพาะเลี้ยง *S. costatum* เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

## วิธีการ

การทดลองเริ่มจากการเลี้ยงเซลล์หัวเชื้อของ *Skeletonema costatum* ในขวดรูปชมพู่ จากนั้นนำเซลล์ที่ได้ไปเลี้ยงต่อในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกชนิดโปร่งแสง ขนาด 3 ลิตร ผลิตจากแผ่นอะคริลิกใสเพื่อให้แสงส่องผ่านได้ และเพื่อให้สามารถสังเกตการณ์การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ง่าย (รายละเอียดของถังแสดงดังรูปที่ 1) โดยใช้เซลล์เริ่มต้นที่  $0.4 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร อาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์คือ สูตรอาหาร F/2 (อาหารสูตรกิลลาร์ด) (Guillard & Ryther, 1962, Guillard, 1975) ให้ความเข้มข้นแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ผิวของถังปฏิกรณ์ ประมาณ 33.8 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และให้อากาศอัตราไหลเชิงปริมาตรต่อพื้นที่หน้าตัดของท่อด้านใน ( $u_{gs}$ ) เท่ากับ 1.5 เซนติเมตรต่อวินาที ทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ทุก ๆ 6 ชั่วโมงเพื่อนำมานับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer) นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อหาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ตามสมการการคำนวณต่อไปนี้

$$\mu = \frac{\ln(N_2 - N_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

โดยที่  $\mu$  คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)

$N_1$  คือ ค่าความเข้มข้นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ที่เวลา  $t_1$  (ชั่วโมง)

$N_2$  คือ ค่าความเข้มข้นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ที่เวลา  $t_2$  (ชั่วโมง)

## ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

### ผลของสารอาหารที่จำกัดการเจริญเติบโตของเซลล์ *S. costatum* ในสูตรอาหาร F/2

การทดลองนี้ได้ทำการเก็บเซลล์พร้อมกันหาความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรอาหาร F/2 พบว่า ขณะที่เซลล์เจริญเติบโตในช่วงระยะปรับตัว (lag phase) ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับซิลิกาและไนโตรเจน เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบหนึ่งของสารพลังงานสูง (high energy compound) เช่น ATP การสังเคราะห์ ATP นี้เกิดควบคู่ไปกับกระบวนการสังเคราะห์แสง (photophosphorylation) ซึ่งเซลล์ในระยะนี้จะเก็บ ATP ไว้ใช้ในหลายกระบวนการ เช่น ใช้เป็นแหล่งพลังงานในปฏิกิริยาเคมี โดย ATP สามารถถ่ายทอดพลังงานที่สะสมในรูปของสารประกอบฟอสเฟสให้แก่สารตัวกลาง นอกจากนี้ ATP ยังเป็นแหล่งพลังงานสำหรับขับเคลื่อนกระบวนการดูดซึมไนเตรตเข้าสู่เซลล์ (Crawford, 1995) เพื่อให้เซลล์สามารถนำไนโตรเจนจากสารประกอบไนเตรต (nitrate complex) เพื่อการเจริญเติบโตต่อไป

หลังจากระยะนี้อัตราการเจริญเติบโต (growth rate) เพิ่มขึ้นถึงค่าสูงสุดและคงที่เข้าสู่ระยะเติบโตทวีคูณ (log หรือ exponential phase) พบว่าความเข้มข้นของซิลิกาและไนโตรเจนลดลงเป็นอย่างมาก เนื่องจากในระยะนี้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างทวีคูณ จึงต้องใช้ซิลิกาที่เป็นองค์ประกอบหลักของเปลือกหุ้ม (shells) และไนโตรเจนในการสร้างเซลล์ใหม่ ส่วนความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลดลง แต่อัตราที่ช้ากว่าในช่วงระยะปรับตัว เนื่องจากเซลล์ได้ใช้พลังงานจาก ATP ที่เก็บไว้ในระยะปรับตัวในกระบวนการต่างๆ ดังที่ได้กล่าวไว้ ดังนั้นในระยะนี้จึงไม่ต้องการฟอสเฟสมากนัก

ในระยะสุดท้ายคือระยะคงที่ (stationary phase) เซลล์จะมีอัตราการเติบโตเท่ากับการตาย ทำให้เซลล์มีปริมาณคงที่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสะสมของสารพิษที่เกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์ หรือมีอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ความ

เข้มข้นของฟอสฟอรัสในระยะนี้ยังลดลงมาจนเกือบหมด ไม่เพียงพอกับการนำไปใช้เพื่อสังเคราะห์ ATP เป็นแหล่งพลังงานต่อไป ดังนั้นการเจริญเติบโตจึงน้อยมากจนกระทั่งหยุดนิ่ง ส่งผลให้การใช้ซิลิกาลดน้อยลงไปด้วย

รูปที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของซิลิกาและฟอสฟอรัสจะลดลงตามเซลล์ที่เจริญเติบโตขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนจะลดลลงค่อนข้างน้อยมาก จากการทดลองจึงเห็นได้ว่า ซิลิกาและฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่มีผลจำกัดการเจริญเติบโตของเซลล์ *S. costatum*

#### การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

สูตรอาหาร F/2 เป็นสูตรอาหารทั่วไปที่นิยมใช้เลี้ยงเซลล์สาหร่ายน้ำเค็มหลายชนิด อย่างไรก็ตามสูตรอาหาร F/2 นี้อาจยังไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *S. costatum* หัวข้อนี้จึงมุ่งเน้นในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารอาหารหลักที่เหมาะสม โดยดัดแปลงจากปริมาณสารอาหารหลักในสูตรอาหารมาตรฐาน F/2 ที่ให้อัตราการเจริญเติบโตของ *S. costatum* ที่ดีที่สุด และจากการวิเคราะห์ผลข้างต้น พบว่าซิลิกา และฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่จำกัดการเจริญเติบโต การทดลองนี้จึงมุ่งเน้นในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารทั้งสองชนิด โดยได้ปรับเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนเพื่อวิเคราะห์ผลของปริมาณไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายนี้ด้วย ดังรายละเอียดต่อไปนี้

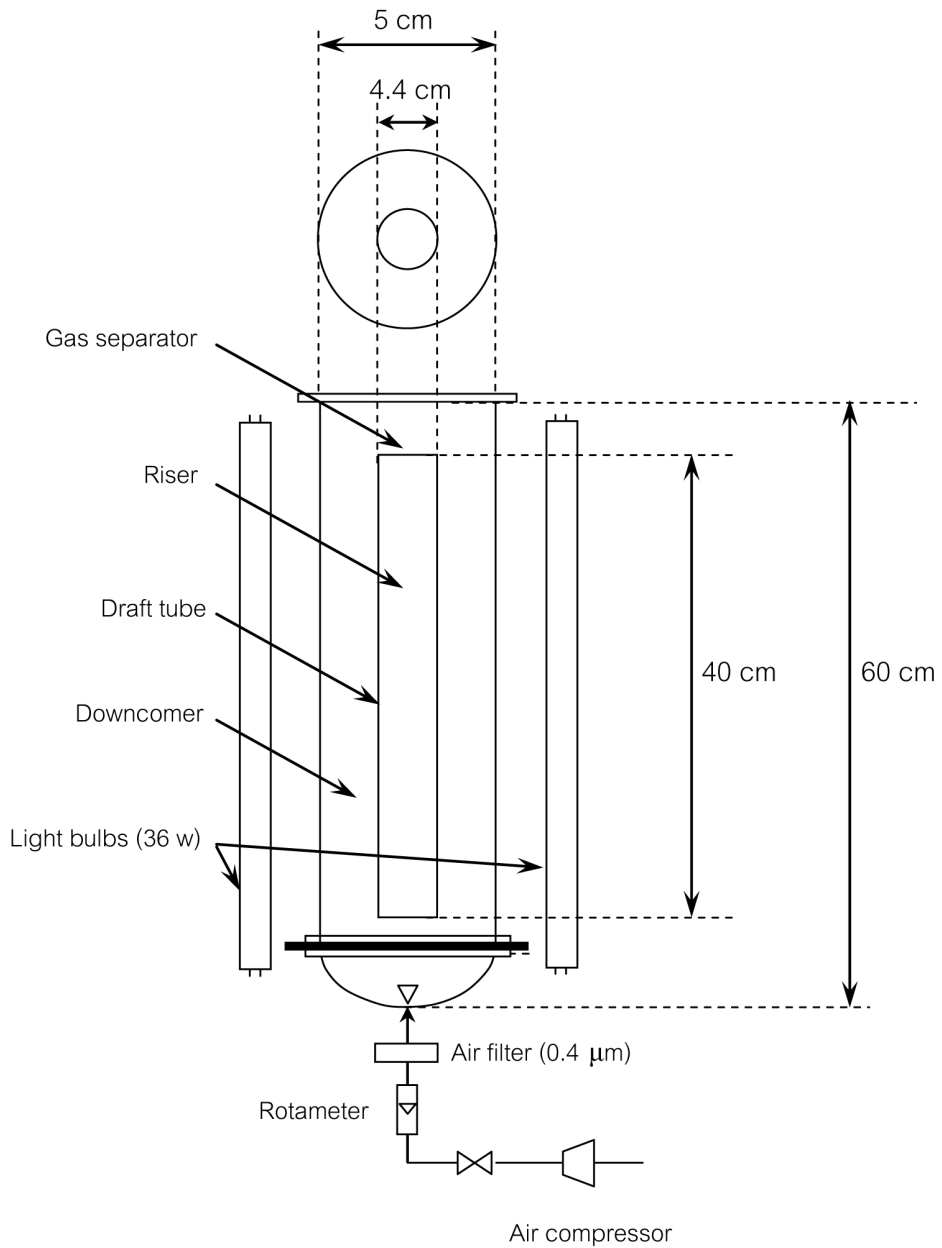
รูปที่ 3 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเซลล์ที่มากที่สุดและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสตั้งแต่ 1 ถึง 3 เท่าของฟอสฟอรัสในสูตรอาหารมาตรฐาน F/2 ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟอรัสไม่มีผลต่อการเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์และอัตราการเจริญเติบโต ดังนั้นความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ในสูตรอาหาร F/2 ปรกติจึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเซลล์ *S. costatum* มากที่สุด

รูปที่ 4 แสดงถึงผลของซิลิกาต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยในการทดลองมีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของซิลิกาจาก 1 ถึง 6 เท่าของซิลิกาในสูตรอาหาร F/2 ปรกติ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาจาก 1 เป็น 4 เท่า เซลล์มีการตอบสนองโดยให้การเจริญเติบโตสูงขึ้น หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกา (มากกว่า 4 เท่า) เซลล์จะเจริญเติบโตได้น้อยลง จึงสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของซิลิกาที่ 4 เท่าจะให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด (ความเข้มข้นของเซลล์มากที่สุดเท่ากับ  $4.6 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.067 ต่อชั่วโมง) ซึ่งสามารถสังเกตได้ว่า การที่เพิ่มความเข้มข้นของซิลิกามากเกินไปเซลล์จะเกาะกลุ่ม และเกาะอยู่บนผนังของถังปฏิกรณ์ ทำให้เซลล์สัมผัสกับอาหารและอากาศได้น้อย ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตที่ไม่ดีตามไปด้วย

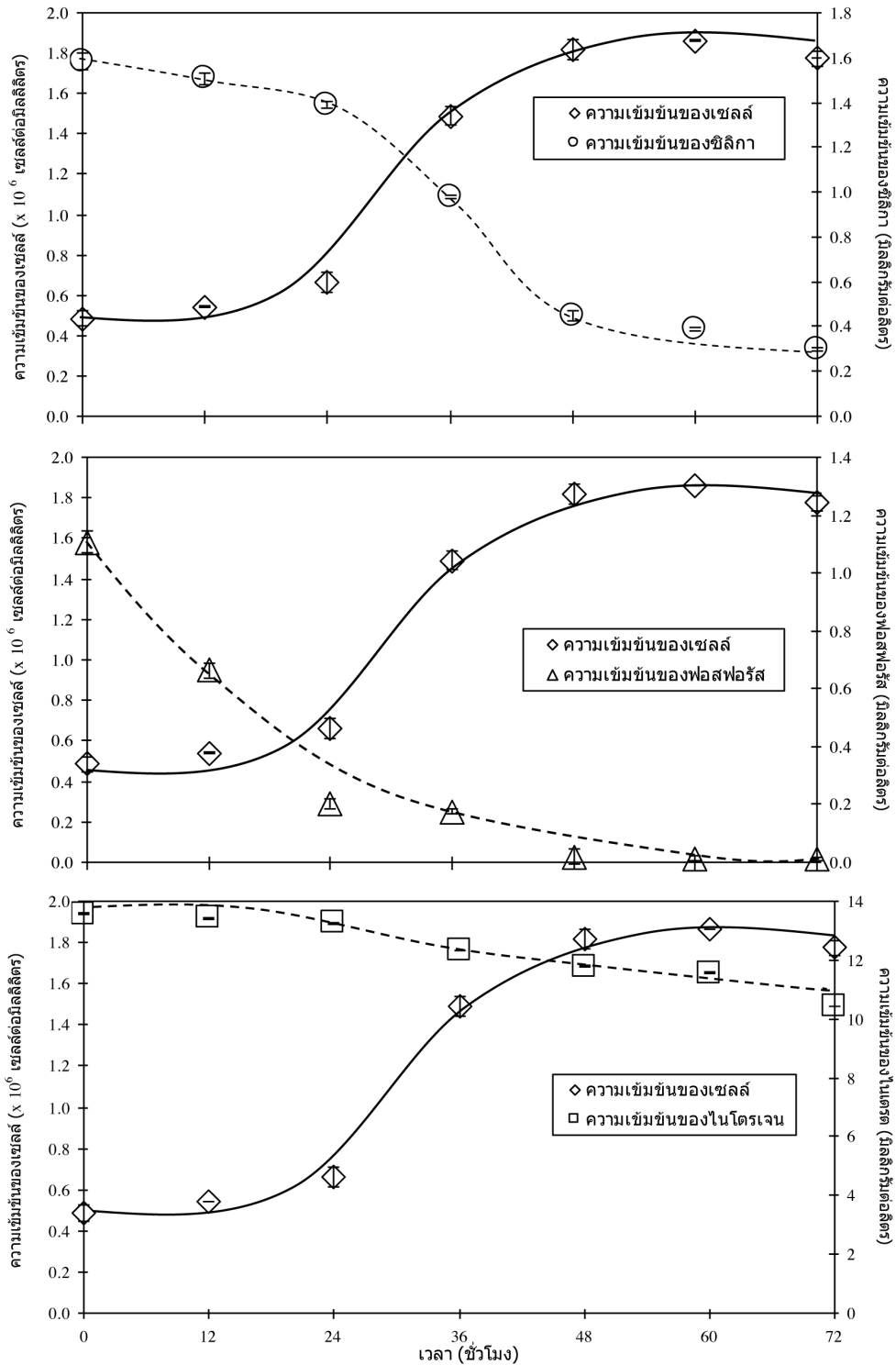
การศึกษานี้ยังได้รวมผลของความเข้มข้นไนโตรเจนดังแสดงในรูปที่ 5 โดยเมื่อทดลองเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนจาก 1 ถึง 2 เท่า พบว่าไม่ให้เกิดการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนขึ้นเป็น 3 เท่า การเจริญเติบโตกลับลดลง ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากผลความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนที่ความเข้มข้นสูง

#### ผลเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *S. costatum* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกและผลจากรายงานที่ผ่านมา

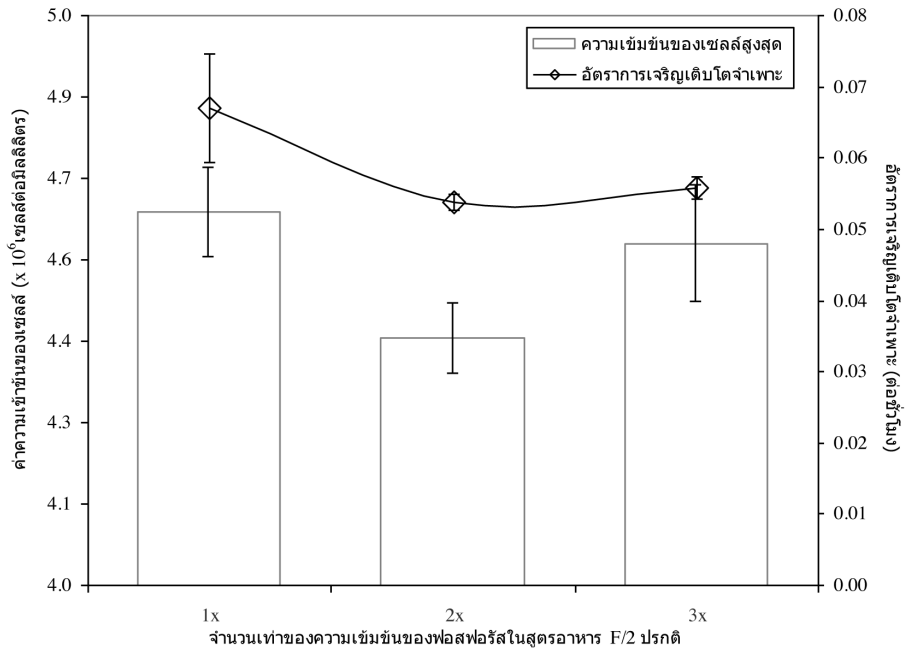
การเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกโดยใช้สารอาหาร F/2 (Guillard & Ryther, 1962) ที่มีการปรับค่าความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 4 เท่าของปริมาณที่ใช้ในสูตรอาหารมาตรฐาน ในให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ 0.067 ต่อชั่วโมง และความเข้มข้นเซลล์สูงสุด  $4.6 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีระดับค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับผลการเพาะเลี้ยงในรายงานต่างๆ ดังสรุปในตารางที่ 1



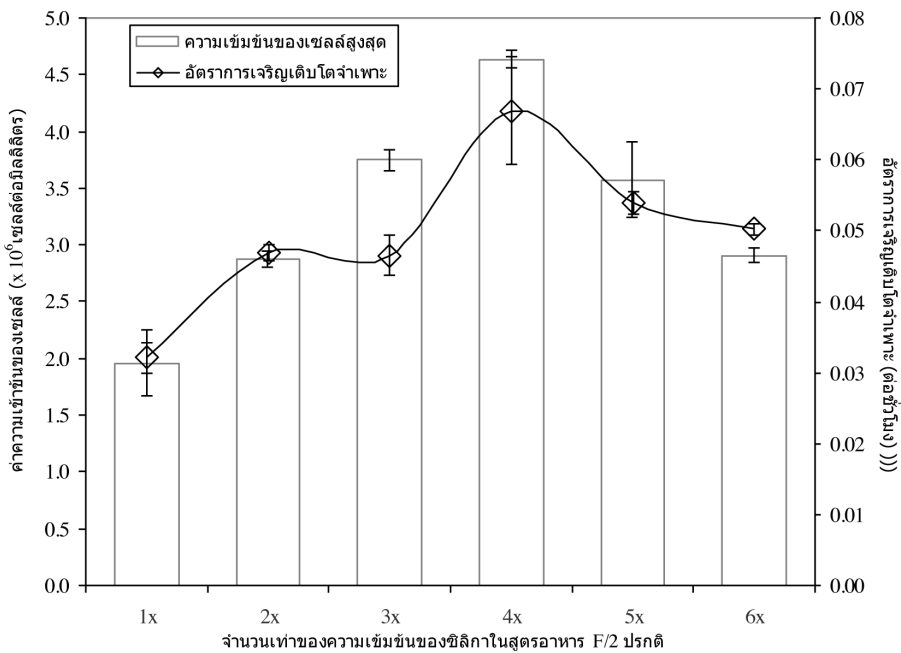
รูปที่ 1 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกดขนาด 3 ลิตร



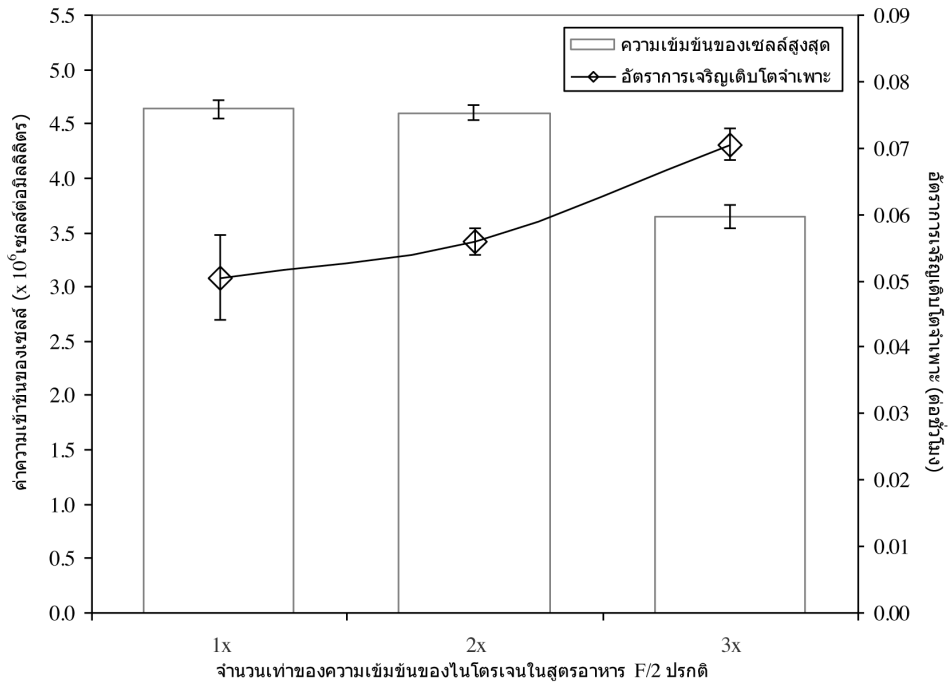
รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ *S. costatum* และความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสูงสุดของ *S. costatum* และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่างๆ



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสูงสุดของ *S. costatum* และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเข้มข้นของซิลิกาต่างๆ



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสูงสุดของ *S. costatum* และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนต่างๆ



ตารางที่ 1 ผลเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงเซลล์ *S.coastatum*

ตั้งปฏิกรณ์ชีวภาพ		สภาวะการดำเนินการ		แหล่งของแสง	สารอาหาร	ความเข้มข้นของเซลล์ ( $\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	เอกสารอ้างอิง
ชนิด	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	ลักษณะการดำเนินงาน (°C)	อุณหภูมิ (°C)					
ขวดรูปชมพู่	250	กะ	13	200	14:10	FL	F/2 medium (Guillard & Ryther, 1962)	Varum and Mykkestad, 1984
ขวดรูปชมพู่	200	กะ	22	100	12:12	FL	F/2 nutrients (Harrison et al., 1980)	Hul et al., 2003
Water-jacketed culture glasses	500	กะ	20-25	250		FL	Walne medium	Sebastián et al., 2004
ขวดรูปชมพู่	200	กะ	22	100	12:12	FL	Modified F/2 nutrients (Harrison et al., 1980)	Shi et al., 2004
ขวดรูปชมพู่	5 L	Batch	18	112	16:8	Cool-white lamps	F/2 medium	Urbani et al., 2005
Airlift photobioreactor	3 L	Batch	28-30	33.8	24:0	FL	Modified F/2	This work

( $\mu\text{E}^*$ ) = ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรวินาที, FL = หลอดฟลูออเรสเซนต์

**เอกสารอ้างอิง**

- Bernhard, M. and Rompi, L. (1965). Horizontal microdistribution of marine phytoplankton in the Ligurian Sea. *Bot. Gothoburg.* 13-24.
- Crawford, N.M. (1995). Nitrate: Nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell* 7: 859-868.
- Darley, W.M. (1977). Biochemical composition. In: D. Werner, Editor. *The Biology of Diatoms.* Oxford: Blackwell. pp. 198-223.
- Droop, M.R. (1955). A pelagic marine diatom requiring cobalamin. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom.* 229-231.
- Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
- Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp 26-60.
- Harrison, P.J., Waters, R.E., and Taylor, F.J.R. (1980). A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. *Journal of Phycology* 16: 28-35.
- Hul, H., Shi, Y., Cong, W., and Cai, Z. (2003). Growth and photosynthesis limitation of marine red tide alga *Skeletonema costatum* by low concentrations of  $Zn^{2+}$ . *Journal of Biotechnology* 25: 1881-1885.
- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S. and Pavasant, P. (2005). Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor, *Chem. Eng. J.* 105: 91-98.
- Liao, I.C., Su, H.M. and Lin, J.H. (1983). Larval foods for Penaeid prawns. *Crustacean Aquaculture*, Vol. 1. CRC press Inc: Boca Raton. pp: 43-68.
- Rouillard, I. and Robert, J.M. (1992). Variations in the production and biochemical composition of *Skeletonema costatum* grown on two types of saline groundwater enriched with nitrogen and phosphorus. *Oceanis* 18: 157-168.
- Sebastián, S., José, A., Martínez, M.E. and Molina, E. (2004). The influence of temperature on the growth and fatty-acid composition of *Skeletonema costatum* in a batch photobioreactor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 62: 148-152.
- Shi, Y., Hu, H., Ma, R., Cong, W. and Cai, Z. (2004). Improved use of organic phosphate by *Skeletonema costatum* through regulation of  $Zn^{2+}$  concentrations. *Journal of Biotechnology* 26: 747-751.
- Su, H.M., Lei, C.H. and Liao, I.C. (1988). The effect of environmental factors on the fatty acid composition of *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros gracilis* and *Tetraselmis chunii*. *J. Fish. Soc.* 21-34.
- Urbani, R., Magaletti, E., Sist, P. and Cicero, A.M. (2005). Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: effect of P-depletion and growth status. *Sci Total Environ.* 353: 300-306.
- Varum K.M. and Mykkestad, S. (1984). Effects of light, salinity and nutrient limitation on the production of [ $\beta$ ]-1,3-glucan and exo-glucanase activity in *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 83: 13-25.