ผลของธาตุอาหารต่อการเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros* sp. ในน้ำเลี้ยงไดอะตอมที่นำกลับมาใช้ใหม่

The Effect of Nutrients on Growth of a Marine Diatom, *Chaetoceros* sp., in Recycled Diatom Cultured Water

มะลิวัลย์ คุตะโค[1*], ศิริพร คำทองดี[1] ภควรรณ เศรษฐมงคล[1] เมธินี จามกระโทก[2] และวศิน ยุวนะเตมีย์[1]

Maliwan Kutako[1], Siripon Khamtongdee[1], Pakawan Setthamongkol[1], Matinee Jamkratoke[2] and Vasin Yuvanatemiya[1]

[1]คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22170

[2]คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22170

*E-mail address: maliwan@buu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของปริมาณไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตในอาหาร F/2 เตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมมาแล้วต่อการเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros* sp. โดยเลี้ยงไดอะตอมในอาหารปริมาตร 4 ลิตร ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 1.09 กิโลลักซ์ และให้อากาศตลอดเวลา พบว่าการเพิ่มปริมาณไนเตรตและฟอสเฟตไม่มีผลต่อการเติบโตและผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอม แต่น้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมมาแล้วสามารถเลี้ยงไดอะตอมได้โดยที่ไม่เติมไนเตรตและฟอสเฟต ส่วนการเติมซิลิเกตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 12.49 มิลลิกรัม-ซิลิกาต่อลิตร ส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์และผลผลิตมวลชีวภาพสูงถึง 37.39×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 11.67×10^4 เซลล์ต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำใหม่ ผลการทดลองครั้งนี้จึงชี้ให้เห็นว่าน้ำที่ผ่านการใช้งานแล้วสามารถนำกลับมาใช้เลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* ได้

คำสำคัญ: ไดอะตอม, สารอาหาร, การนำน้ำมาใช้ใหม่, การเติบโต

Abstract

The effect of nutrients concentrations including nitrate, phosphate and silicate of F/2 medium in the recycled diatom cultured water on the growth of diatom *Chaetoceros* sp. was investigated. All experiments, diatom was cultured in 4L bottle and incubated under controlled condition as 26±2°C with 1.09 Klux under continuously aerated atmosphere. The result reveals that an increasing of nitrate and phosphate in the F/2 medium has no significant effect on the growth of diatom in term of biomass productivity and cell density. Therefore, recycle water can be used for cultured diatom without the

addition of nitrate or phosphate. In contrast, the addition of silicate in F/2 medium recycle water showed significant effect on the biomass productivity and cell density. Diatom could be grown with highest cells density and biomass productivity at 37.39×10^4 cells/mL and 11.67×10^4 cells/L/day, respectively, using 12.49 mg-Si/L as silicate concentration. It can be concluded that the recycled water F/2 medium can be used for *Chaetoceros* cultivation.

Keywords: Diatom, nutrients, recycled water, growth

คำนำ

เนื่องจากปัจจุบันได้มีการเลี้ยงไดอะตอมน้ำเค็ม *Chaetoceros* เพื่อใช้อนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนอย่างแพร่หลาย เช่น ลูกกุ้งและลูกหอย เพราะไดอะตอมเป็นอาหารมีชีวิตและมีคุณค่าทางโภชนาการสูงจึงส่งเสริมให้ผลผลิตสัตว์น้ำวัยอ่อนมีคุณภาพดี (Becker, 1995) การเลี้ยงไดอะตอมเชิงการค้าจำเป็นต้องใช้น้ำทะเลปริมาณมากเพื่อเตรียมอาหาร ส่งผลให้มีต้นทุนสูงเนื่องจากมีค่าใช้จ่ายทั้งค่าน้ำเค็ม สารเคมีและการขนส่ง จากปัญหานี้จึงได้ศึกษาแนวทางแก้ไขโดยนำน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมแล้วกลับมาใช้เลี้ยงไดอะตอมอีกครั้ง โดย Ross *et al.* (2010) รายงานว่าหลังจากเลี้ยงไดอะตอมแล้วพบสารอาหารบางชนิดเหลืออยู่ในน้ำ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซิลิเกตซึ่งเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเติบโตของไดอะตอม ไนเตรตเป็นธาตุอาหารหลักมีหน้าที่ช่วยให้เซลล์มีสีเขียวและเร่งการเติบโตเช่นเดียวกับฟอสฟอรัส ถึงแม้ว่าซิลิเกตเป็นธาตุอาหารรองแต่มีความจำเป็นต่อการเติบโตของไดอะตอมมาก เพราะเซลล์จะนำไปใช้ในการสร้างเปลือกหุ้มเซลล์ อย่างไรก็ตามการนำน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมมาแล้วมาใช้ใหม่โดยตรงอาจมีข้อจำกัด เนื่องจากน้ำที่ผ่านการใช้แล้วจะมีคุณภาพต่ำลงหรือมีสารที่ยับยั้งการเติบโตของไดอะตอมได้ นอกจากนี้มีหลายงานวิจัยที่นำน้ำเสียมาใช้ในการเลี้ยงไดอะตอม ทั้งนี้ Karthikeyan *et al.* (2010) ได้รายงานว่าน้ำเสียจากนิคมอุตสาหกรรม Cuddalore ประเทศอินเดีย มีสารอาหารที่ไดอะตอมสามารถใช้ในการเติบโตได้ เช่น แอมโมเนีย ไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตแต่สารดังกล่าวมีความเข้มข้นสูง เมื่อนำมาเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* พบว่าการเติบโตของไดอะตอมถูกยับยั้ง จึงต้องเจือจางน้ำเสียก่อนแล้วจึงสามารถนำใช้เลี้ยงไดอะตอมได้ ในขณะที่น้ำเสียบางประเภทจะมีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำ เช่น น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งสามารถเลี้ยงไดอะตอมได้ แต่ต้องนำน้ำเสียมาผ่านการตกตะกอนและการฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และเติมสารอาหารบางชนิดเพิ่ม เช่น วิตามินและธาตุอาหารรอง เป็นต้น จึงจะใช้เลี้ยงไดอะตอมได้ (Venkatesan *et al.,* 2006)

งานวิจัยนี้จึงนำน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมแล้วมาปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้มีปริมาณสารอาหารใกล้เคียงกับอาหารเลี้ยงไดอะตอมที่ดัดแปลงจากสูตร F/2 (Guillard, 1973) โดยปรับความเข้มข้นของสารอาหารหลักคือไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตให้เหมาะสมต่อการเติบโตของไดอะตอม ซึ่งผลจากงานวิจัยจะสามารถบ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ในการนำน้ำที่ผ่านการใช้เลี้ยงไดอะตอมแล้วกลับมาใช้เลี้ยงไดอะตอมได้อีกครั้งและข้อมูลจากงานวิจัยนี้จะเป็นแนวทางในการลดต้นทุนการเลี้ยงไดอะตอมได้เช่นกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ไดอะตอมที่ใช้ในการทดลอง

ไดอะตอมน้ำเค็ม *Chaetoceros* sp. ได้รับความอนุเคราะห์หัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การเตรียมน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp. เพื่อนำน้ำกลับมาใช้ใหม่

เลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp. ด้วยอาหารที่ดัดแปลงจากอาหาร F/2 ของ Guillard (1973) โดยดูดสารละลายเข้มข้น 4 ชนิด ในปริมาตรชนิดละ 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำทะเล 1 ลิตร (ความเค็ม 30 พีพีที) สารละลายเข้มข้น 4 ชนิด คือ (1) สารละลายไนเตรต ($NaNO_3$ 75 กรัมต่อลิตร), (2) สารละลายฟอสเฟต ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 5 กรัมต่อลิตร), (3) สารละลายซิลิเกต ($Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$30 กรัมต่อลิตร) และ (4) สารละลาย trace elements ประกอบด้วย $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ และ $Na_3EDTA \cdot 2H_2O$ เท่ากับ 9.8, 6.3, 22, 10, 180, 3.15 และ 4.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เลี้ยงไดอะตอมเริ่มต้น 2.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในห้องปฏิบัติการที่ให้แสงตลอดเวลา ติดตามการเติบโตของไดอะตอมโดยนับเซลล์ วิเคราะห์ปริมาณไนเตรตด้วยวิธี UV screening วัดปริมาณฟอสเฟตและซิลิเกตด้วยเทคนิค Colorimetric วิธี Ascorbic acid และ Molybdate blue ตามลำดับ (Strickland and Parsons, 1972)

เมื่อเลี้ยงไดอะตอมได้ 6 วัน พบว่าเซลล์เติบโตเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary growth phase) จึงกรองแยกเซลล์ออก ส่วนน้ำที่ผ่านการกรองจะเติมคลอรีนให้ได้ความเข้มข้น 2 พีพีเอ็ม ด้วยคลอรีนเม็ด (Septrivet 3.0, Bayer, Ireland) ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำน้ำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. ผลของไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตต่อการเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros* sp. ในอาหารที่เตรียมจากน้ำที่นำกลับมาใช้ใหม่

อาหาร F/2 ของ Guillard (1973)ที่เตรียมจากน้ำทะเล (น้ำใหม่) มีความเข้มข้นของไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตเท่ากับ 25.17, 2.74 และ 4.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงไดอะตอมเป็นเวลา 6 วัน พบว่ามีไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตเหลือเท่ากับ 6.03, 0.08 และ 2.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จึงนำมาเตรียมอาหาร F/2 เพื่อเลี้ยงไดอะตอมอีกครั้ง แบ่งการทดลองเป็น 3 ส่วน คือ (1) ศึกษาผลของไนเตรตโดยเติมสารละลายไนเตรตด้วยปริมาตรที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ไม่เติม, เติมเพิ่มให้ความเข้มข้นเท่ากับ 1, 2 และ 5 เท่าของอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำทะเล ส่วนสารละลายฟอสเฟตและซิลิเกตมีเหลืออยู่ในน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมแล้ว ดังนั้นจึงเติมเพิ่มในปริมาตรที่ทำให้มีความเข้มข้นเท่ากับอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำทะเล สารละลาย trace element จะเติมในปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (2) ศึกษาผลของฟอสเฟต โดยแปรผันปริมาตรสารละลายฟอสเฟตเช่นเดียวกัน แต่เติมสารละลายไนเตรตและซิลิเกตให้เข้มข้นเท่ากับอาหาร F/2 เตรียมจากน้ำทะเล และเติมสารละลาย trace element และ (3) ศึกษาผลของซิลิเกตโดยแปรผันปริมาตรสารละลายซิลิเกตเช่นเดียวกัน แต่เติมสารละลายไนเตรตและฟอสเฟตให้เข้มข้นเท่ากับอาหาร F/2 เตรียมจากน้ำทะเล และเติมสารละลาย trace element 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (Table 1)

ในการทดลองนี้ได้เตรียมอาหารปริมาตร 4 ลิตร สำหรับเลี้ยงไดอะตอมที่ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น 2.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 6 วัน ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่ให้แสงตลอดเวลาด้วยความเข้มแสง 1.09 กิโลลักซ์ อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส และให้อากาศที่ผ่านการกรองตลอดเวลา ติดตามการเติบโตของไดอะตอมและวัดปริมาณไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกต ตามวิธีของ Strickland and Parsons (1972)

Table 1 Nutrient addition volume in F/2 medium

Nutrients solution	Volume of nutrient added into 4L of recycled seawater (ml of nutrients solution)			
- Effect of nitrate supplements				
Nitrate solution*	0.00	3.04	7.04	23.04
Phosphate solution**	3.86	3.86	3.86	3.86
Silicate solution***	1.96	1.96	1.96	1.96
- Effect of phosphate supplements				
Nitrate solution*	3.04	3.04	3.04	3.04
Phosphate solution**	0.00	3.86	7.86	23.36
Silicate solution***	1.96	1.96	1.96	1.96
- Effect of silicate supplements				
Nitrate solution*	3.04	3.04	3.04	3.04
Phosphate solution**	3.86	3.86	3.86	3.86
Silicate solution***	0.00	1.96	5.96	21.96

Remarks: *nitrate solution (75×10^3 mg/L $NaNO_3$)

**phosphate solution (5×10^3 mg/L $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)

***silicate solution (30×10^3 mg/L $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$)

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ และนำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel และวิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของข้อมูลที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 11.5)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ของ Guillard (1975)

การเติบโตของไดอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำทะเล (น้ำใหม่) เป็นเวลา 6 วัน Figure 1 แสดงให้เห็นว่าในวันที่ 1 ถึง 3 ของการทดลองไดอะตอมเพิ่มจาก 2.44×10^4 เป็น 14.40×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) เท่ากับ 0.39 ต่อวัน (ในวันที่ 1-3 ของการทดลอง) และผลผลิตมวลชีวภาพ เท่ากับ 4.69×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน

ผลการทดลองพบว่าในวันแรกมีไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตในอาหารเท่ากับ 25.17, 2.74 และ 4.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และวันสุดท้ายของการทดลองกลับพบว่าไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตลดลง (Figure 2) เพราะไดอะตอมนำสารอาหารดังกล่าวไปใช้ในการเติบโตด้วยอัตราการใช้สารอาหารเท่ากับ 0.26, 0.01 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ และพบว่าน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมแล้วมีไนเตรต ฟอสเฟตและซิลิเกตเหลืออยู่ โดยเฉพาะไนเตรตเหลือในปริมาณสูงถึง 6.03 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร

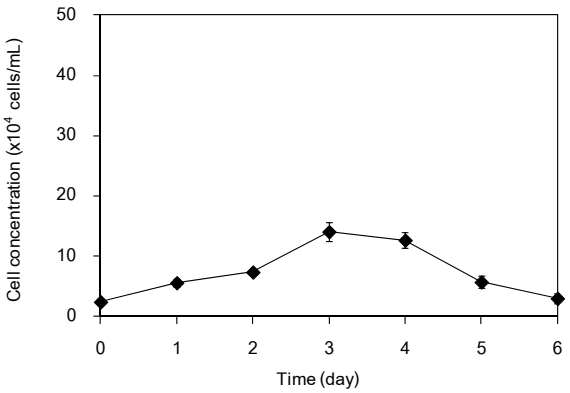

Figure 1 Growth of *Chaetoceros* in F/2 medium of fresh seawater.

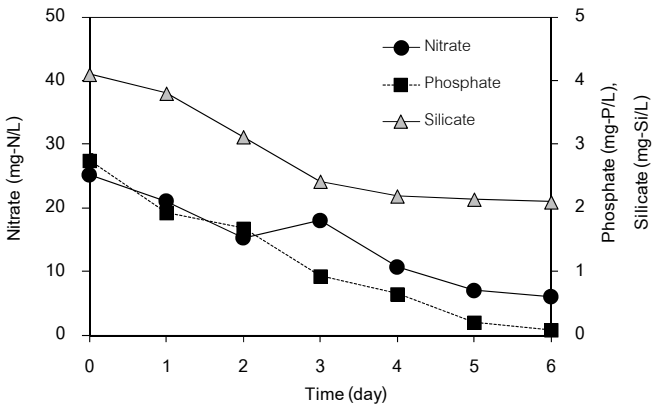

Figure 2 Changes in nitrate, phosphate and silicate in F/2 medium of fresh seawater throughout the experimental period.

2. การเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหารเตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม

2.1 ผลของไนเตรตในอาหาร F/2 เตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม

การเติบโตของไดอะตอมที่เติมสารละลายไนโตรเจนเข้มข้น 25.17, 35.12, 36.87 และ 43.19 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร แสดงดัง Figure 3 พบว่าไดอะตอมสามารถเติบโตได้ เมื่อเติมไนเตรตให้มีความเข้มข้น 35.12 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ส่งผลให้ไดอะตอมมีจำนวนเซลล์สูงสุดและผลผลิตมวลชีวภาพสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไนเตรตความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มไนเตรตเป็น 36.87 และ 43.19 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร กลับส่งผลให้การเติบโตของไดอะตอมลดลง (Table 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tuney *et al.* (2010) ที่พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นไนเตรตสูงเกินไปส่งผลให้สาหร่ายเกิดสภาวะเครียดออสโมติก (osmotic stress) และผลิตสารออกซิไดซ์ที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา (reactive oxygen species) เช่น ไฮดรอกซิลแรดิเคิล (hydroxyl radical) หากสารดังกล่าวสะสมสูงขึ้นจะทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมัน โปรตีนและกรดนิวคลีอิกของสาหร่ายถูกทำลาย นอกจากนี้ Bates *et al.* (1993) ได้รายงานว่าการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีปริมาณไนเตรตสูงเกินไปทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงและเสียสภาพ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเติบโตของสาหร่ายลดลงเช่นเดียวกัน

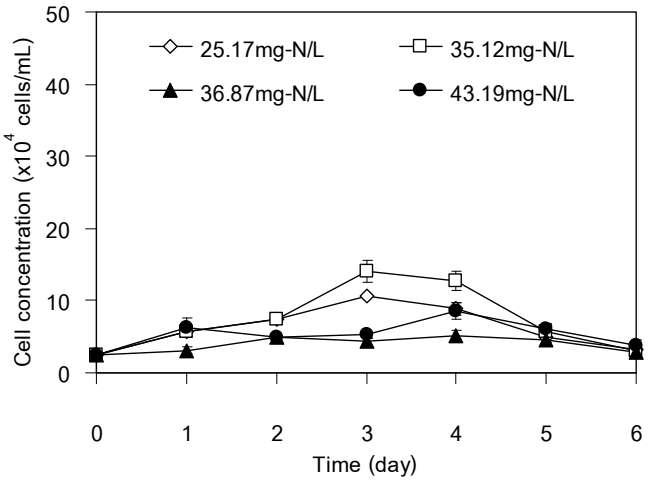

Figure 3 Growth of *Chaetoceros* sp. in F/2 medium of recycled seawater with various nitrate concentrations.

2.2 ผลของฟอสเฟตในอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม

Figure 4 แสดงให้เห็นการเติบโตของไดอะตอมที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมมาแล้ว โดยได้แปรผันปริมาตรการเติมสารละลายฟอสเฟต (Table 1) ในอาหาร F/2 พบว่าความเข้มข้นฟอสเฟตในอาหารเท่ากับ 2.62, 2.74, 3.46 และ 4.51 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของไนเตรตและซิลิเกตในวันแรกแสดงใน Table 2 ซึ่งไดอะตอมเติบโตได้ต่ำถึงแม้ว่าจะมีการเติมฟอสเฟตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตาม

อาหารที่มีฟอสเฟต 2.74 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตรสามารถส่งเสริมให้เซลล์มีความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ 14.09×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ในวันที่ 3 ของการทดลอง) การเติบโตของไดอะตอมพบว่าฟอสฟอรัสมีบทบาทต่อกระบวนการถ่ายเทพลังงานและกระบวนสร้างกรดนิวคลีอิก โดยไดอะตอมสามารถใช้ฟอสฟอรัสทั้งในรูปของฟอสฟอรัสและออโธฟอสเฟต หรือฟอสเฟต ถ้าไดอะตอมขาดฟอสฟอรัสมีผลให้ปริมาณ โปรตีน คลอโรฟิลล์-เอ RNA และ DNA ลดลงได้ (Werner, 1977)จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของฟอสเฟตมากกว่า 2.74 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร ส่งผลให้การเติบโตของสาหร่ายลดลงเช่นเดียวกันกับผลการทดลองของ Katiyar *et al.* (2010) ที่รายงานว่าการเพิ่มฟอสเฟตในอาหารให้สูงกว่า 2.17 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร ส่งผลให้การเติบโตของไดอะตอมลดลง

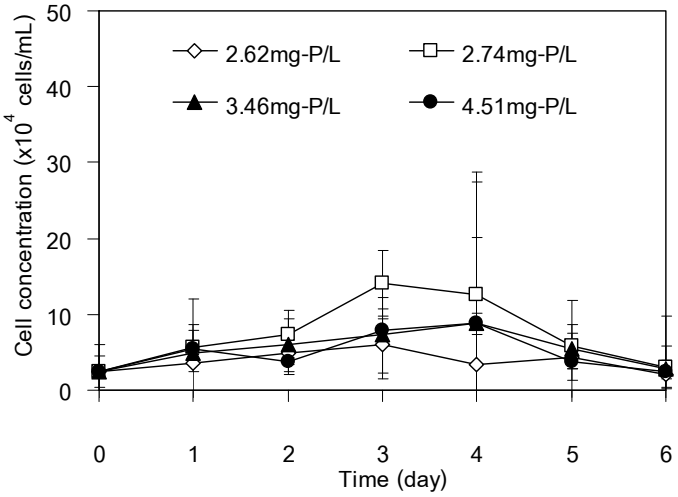

Figure 4 Growth of *Chaetoceros* sp. in F/2 medium of recycled seawater with various phosphate concentrations.

2.3 ผลของซิลิเกตในอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม

อาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมและแปรผันปริมาตรซิลิเกต (Table 1) ทำให้ความเข้มข้นซิลิเกตเป็น 4.10, 7.59, 9.89 และ 12.49 มิลลิกรัม-ซิลิกาต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าไดอะตอมเติบโตได้อย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน โดยให้เซลล์สูงสุด 28.37, 14.09 19.98 และ 37.39×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 5) ทั้งนี้เซลล์สูงสุดและผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอมที่เลี้ยงโดยเติมซิลิเกต 12.45 มิลลิกรัม-ซิลิกาต่อลิตร จะสูงกว่าการเลี้ยงด้วยซิลิเกตที่ระดับความเข้มข้นอื่น รวมถึงอาหารที่เติมไนเตรตและฟอสเฟตด้วยความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 2)

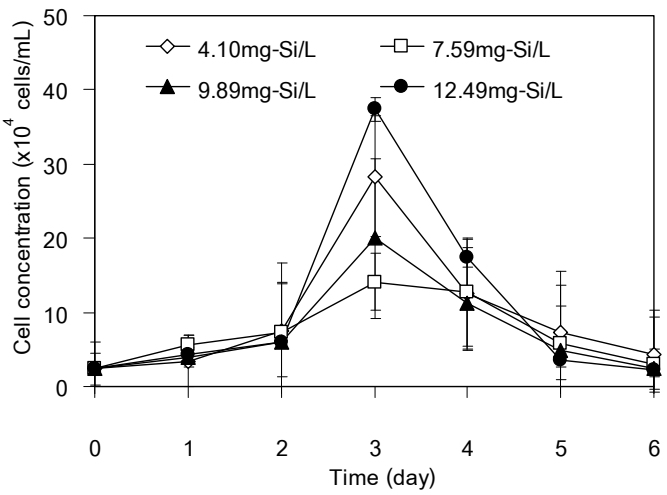

Figure 5 Growth of *Chaetoceros* sp. in F/2 medium prepared with recycled seawater and supplemented with different silicate concentrations.

จาก Table 2 แสดงให้เห็นว่าไดอะตอมสามารถเติบโตได้ในอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำที่ผ่านการใช้งานแล้ว เนื่องจากน้ำที่ผ่านการใช้งานแล้วและผ่านกระบวนการกรองและเติมคลอรีนจะมีสารอาหารในน้ำเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเติบโตของไดอะตอมในอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำทะเลใหม่จะมีสูงกว่าการเลี้ยงไดอะตอมในอาหารสูตร F/2 ที่เตรียมจากน้ำที่ผ่านการใช้งานแล้ว ทั้งนี้อาจเกิดจากสารอินทรีย์บางชนิดที่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างถูกทำลายไปจากการเติมคลอรีน ทำให้ส่งผลต่อการเติบโตของไดอะตอม (Ross *et al.*, 2010) ถึงแม้ว่าการเพิ่มปริมาณไนเตรตและฟอสเฟตจะไม่มีผลต่อการเติบโตของไดอะตอมที่เลี้ยงในอาหาร F/2 ในเตรียมจากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมแล้ว แต่ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมซิลิเกตให้เข้มข้นถึง 12.49 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ไดอะตอมเติบโตได้ดีกว่าการเพิ่มปริมาณไนเตรตและฟอสเฟตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยให้เซลล์สูงสุดและผลผลิตมวลชีวภาพ 37.39×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 11.67×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน ตามลำดับ เนื่องจากซิลิกาเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ไดอะตอมที่เรียกว่า frustule (Martin-Jezequel *et al.,* 2000)

Table 2 Maximum cell density and biomass productivity of *Chaetoceros* sp. cultures in F/2 medium prepared with freshly and recycled diatom cultured water. Values with the same letter within the same column indicate that they are not significantly different.

Experimental condition	Nutrient concentration (mg/L)			Maximum cell density ($x10^4$ cells/mL)	Biomass productivity ($x10^4$cells/mL/day)
	nitrate	phosphate	silicate		
1. Growth of *Chaetoceros* in F/2 medium prepared with seawater					
	13.57±0.06	1.37±0.03	2.26±0.01	14.40^{c}	$4.69±0.50^{d}$
2. Growth of *Chaetoceros* in F/2 medium prepared with recycled diatom cultured water					
2.1 Effect of nitrate supplements					
	25.17±0.19	2.59±0.14	7.31±0.06	10.59^{f}	$2.72±0.15^{f}$
	35.12±0.33	2.74±0.12	7.59±0.01	14.09^{e}	$3.88±0.58^{e}$
	36.87±0.19	2.74±0.09	7.35±0.02	5.91^{h}	$0.69±0.18^{h}$
	43.19±0.11	2.76±0.05	7.18±0.02	8.57^{fg}	$1.54±0.33^{g}$
2.2 Effect of phosphate supplements					
	28.77±0.34	2.62±0.04	7.18±0.02	6.09^{gh}	$1.24±0.15^{gh}$
	25.17±0.19	2.74±0.12	7.59±0.03	14.09^{e}	$3.88±0.58^{e}$
	30.30±0.24	3.46±0.08	6.98±0.03	8.89^{fg}	$1.62±0.47^{g}$
	29.16±0.24	4.51±0.04	7.02±0.04	8.76^{fg}	$1.58±0.30^{g}$
2.3 Effect of silicate supplements					
	28.42±0.16	2.65±0.04	4.10±0.05	28.37^{b}	$8.66±0.29^{b}$
	36.87±0.19	2.74±0.12	7.59±0.03	14.09^{e}	$3.88±0.58^{e}$
	29.73±0.24	2.58±0.17	9.89±0.12	19.98^{d}	$5.85±2.40^{c}$
	30.27±0.11	2.59±0.08	12.49±0.01	37.39^{a}	$11.67±0.53^{a}$

สรุปผลการทดลอง

การเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp.ในอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำทะเลใหม่ให้เซลล์และผลผลิตมวลชีวภาพ $14.40x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ $4.69x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวันตามลำดับ เมื่อนำน้ำที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมนี้ไปเตรียมอาหารเลี้ยงไดอะตอมอีกครั้งพบว่าไดอะตอมเติบโตได้แต่เมื่อเติมไนเตรตและฟอสเฟตด้วยความเข้มข้นที่สูงเกินไปไม่สามารถกระตุ้นให้เซลล์มีการเติบโตสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร F/2 ที่เตรียมจากน้ำใหม่ได้ ในขณะที่การเพิ่มซิลิเกตเป็น 12.49 มิลลิกรัม-ซิลิกาต่อลิตรจะให้เซลล์และผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอมสูงสุดถึง $37.39x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรและ $11.67x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงในอาหารที่เตรียมจากน้ำใหม่ 2.6 และ 2.5 เท่า ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

Bates, S.S., Worm, J. and Smith, J.C. 1993. Effects of ammonium and nitrate on growth and domoicacid production by *Nitzschia pungens* in batch culture. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 50: 1248-1254.

Becker, E.W. 1995. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. New York: Cambridge University. 293 p.

Guillard, R.R.L. 1973. Method for Microflagellates and Nanoplankton. In Stein, J.R. (ed). Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements. New York: Cambridge University. pp. 69-89.

Karthikeyan, P., Jayasudha, S., Sampathkumar, P., Manimaran, K., Santhoshkumar, C., Ashokkumar, S. and Ashokprabu, P. 2010. Effect of industrial effluent on the growth of marine diatom, *Chaetoceros simplex* (Ostenfeld, 1901). Journal of Applied Sciences and Environmental Management 14 (4): 35–37.

Katiyar, D., Lall, A.M. and Singh, B. 2010. Effect of phosphate on growth of diatoms. Indian Journal of Scientific Research 1(2): 103-106.

Martin-Jezequel, V., Hildebrand, M. and Brzezinski, M. 2000. Silicon metabolisms in diatom: implications for growth. Journal of Phycology 36: 821-840.

Ross, A.B., Biller, P., Kubacki, M.L., Li, H., Lea-Langton, A. and Jones J.M. 2010. Hydrothermal processing of microalgae using alkali and organic acids. Fuel 89 (9): 2234–2243.

Strickland, J.D. and Parson, T.R. 1972. A Practical Handbook of Water Analysis. 2nd Otawa:Fishery Research Board of Canada. 310 p.

Tuney, I., Unal, D. and Sukatar, A. 2010. High nitrate supply induces chlorophyll degradation *Chlorella* sp. Rapp. Comm. int. Mer Medit. 39: 408.

Venkatesan, R., Kumaraguru, K.P. and Balasubramanian, T. 2006. Culture of marine microalgae in shrimp farm discharge water: a sustainable approach to reduce the cost production and recovery of nutrients. Journal of Fisheries and Aquatic Science 1(3): 262-269.

Werner, D. 1977. The Biology of Diatom. Los Angeles:Blackwell Scientific. 498 p.