ปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนเทโนอิคต่อกรดโคโคสะเฮกซะโนอิคที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการรอดของกุ้งกุลาดำ Penaeus monodon หลังวัยอ่อน

นางสาววรีวรรณ สุวณิชย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-888-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17016424

QUANTITY AND RATIO OF EICOSAPENTAENOIC ACID/ DOCOSAHEXAENOIC ACID ON GROWTH AND SURVIVAL OF BLACK TIGER PRAWN (Penaeus monodon) POSTLARVAE

Miss Raweewan Suwanich

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Biotechnology Program

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-633-888-9

Thesis Title	Quantity and Ratio of Eicosapentaenoic acid/ Docosahexaenoic acid on Growth and Survival of Black tiger prawn (*Penaeus monodon*) Postlarvae
By	Miss Raweewan Suwanich
Program	Biotechnology
Thesis Advisor	Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D. Prasat Kittakoop, Ph.D. Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Master's Degree.

Santi Thoongsuwan ..... Dean of Graduate School

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

Sumate Tantratian ..... Chairman

(Sumate Tantratian, Ph.D.)

Somkiat P. ..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Prasat Kittakoop, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

Voranop Viyakarn ..... Member

(Voranop Viyakarn, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

รวีวรรณ สุวณิชย์ : ปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนเทโนอิคต่อกรดโดโคสะเฮกซะโนอิคที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการรอดของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) หลังวัยอ่อน (QUANTITY AND RATIO OF EICOSAPENTAENOIC ACID/DOCOSAHEXAENOIC ACID ON GROWTH AND SURVIVAL OF BLACK TIGER PRAWN (*Penaeus monodon*) POSTLARVAE) อ.ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร. ประสาท กิตตะคุปต์, ศ. ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต , 75 หน้า. ISBN 974-633-888-9

การวิจัยนี้เพื่อศึกษาปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนเทโนอิค (EPA) ต่อกรดโดโคสะเฮกซะโนอิค (DHA) ที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการรอดของกุ้งกุลาดำ *P. monodon* หลังวัยอ่อน โดยผลิตอาหารที่มีปริมาณ n-3 HUFAs 2 ระดับคือ 1.0 % และ 1.5 % และในแต่ละปริมาณมีอัตราส่วนของ EPA/DHA 3 ระดับคือ 1:3, 1:2 และ 1:1 โดยมีสูตรอาหารควบคุมที่มี ปริมาณ n-3 HUFAs 0.35% และอัตราส่วน EPA/DHA เท่ากับ 1:3 นำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังวัยอ่อน (PL-20) โดยออกแบบการทดลองเป็นการทดลองแบบสุ่ม (completely randomized design) ซึ่งมีจำนวนกุ้งกุลาดำหลังวัยอ่อนหนาแน่น 100 ตัว/ตารางเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ให้อาหาร 5 มื้อต่อวัน เลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ดูการเติบโต การรอดของกุ้งกุลาดำและการทนสภาวะความเครียดด้วยน้ำจืด

หลังจากทดลองเลี้ยง 30 วัน พบว่าปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนเทโนอิคต่อกรดโดโคสะเฮกซะโนอิคมีความสัมพันธ์ต่อการเติบโต และการทนต่อสภาวะความเครียดด้วยน้ำจืดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยอัตราส่วนของ EPA/DHA ที่ให้การเติบโตที่ดีของ n-3 HUFAs ที่ 1.0 % คือ 1:1 ในขณะที่ n-3 HUFAs เท่ากับ 1.5 % อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:2 สำหรับการทนต่อสภาวะความเครียดด้วยน้ำจืด พบว่า อัตราส่วนของ EPA/DHA ของ n-3 HUFAs ที่ 1.0 % คือ 1:2 และที่ n-3 HUFAs ปริมาณ 1.5% เท่ากับ 1:3 ทำให้กุ้งกุลาดำทนสภาวะความเครียดได้ แต่พบว่าที่ปริมาณและอัตราส่วนเหล่านี้ไม่มีผลต่อการรอดของกุ้งกุลาดำอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

และเมื่อนำกุ้งกุลาดำมาวิเคราะห์กรดไขมันรวม (total lipid), ไขมันขั้วสูง (polar lipid), ไขมันขั้วต่ำ (non-polar lipid) พบว่ากลุ่มไขมันเหล่านี้ได้รับอิทธิพลมาจากกรดไขมันในอาหาร โดย ปริมาณ n-3 HUFAs จะสะสมในส่วนของไขมันขั้วสูง (polar lipid) มากกว่าไขมันขั้วต่ำ (non-polar lipid)

สูตรอาหารที่มี n-3 HUFAs 1.5 % และมีอัตราส่วนของ EPA/DHA เท่ากับ 1:2 มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับกุ้งกุลาดำหลังวัยอ่อนในด้านการเติบโตและการทนต่อสภาวะความเครียด

ภาควิชา .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2538

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##C625822 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: EICOSAPENTAENOIC ACID / DOCOSAHEXAENOIC ACID / *Penaeus monodon* / EPA / DHA
RAWEEWAN SUWANICH : QUANTITY AND RATIO OF EICOSAPENTAENOIC ACID/ DOCOSAHEXAENOIC ACID ON GROWTH AND SURVIVAL OF BLACK TIGER PRAWN (*Penaeus monodon*) POSTLARVAE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : PRASAT KITTAKOOP, Ph.D., PROF. PIAMSAK MENASVETA, Ph.D., 75 p. ISBN 974-633-888-9

The aim of this study is to determine quantity and ratio of eicosapentaenoic acid (EPA)/ docosahexaenoic acid (DHA) on growth and survival of black tiger prawn (*Penaeus monodon*) postlarvae.

A completely randomized design experiment was used for this study. In this experiment, six diets contained two levels of % n-3 HUFAs (1.0, 1.5) and each level contained 3 EPA/DHA ratios (1:3, 1:2, 1:1). A control diet containing 0.35% n-3 HUFAs with the ratio EPA/DHA of 1:3 was used for comparison. Three replicates (100 postlarvae/m^2) were used in each treatment. Postlarvae were fed 5 times/day.

Results of 30 days feeding experiment showed an interaction between quantity n-3 HUFAs and ratio of EPA/DHA on growth and the osmotic resistance of postlarvae. The EPA/DHA ratio in the diet that improved growth of postlarvae was 1:1 at 1 % n-3 HUFAs and 1:2 at 1.5% n-3 HUFAs, respectively. On the contrary, the EPA/DHA ratio in diet 1:2 at 1% n-3 HUFAs and 1:3 at 1.5% n-3 HUFAs provided the high osmotic resistance of postlarvae. There were no effect of quantity and EPA/DHA ratio on survival of postlarvae.

The dietary fatty acids have influence on the fatty acid composition in shrimp tissues. Polar lipids have more n-3 HUFAs than non-polar lipids in the tissues of shrimp. And the ratio of EPA/DHA in diet also has an influence on the ratio of EPA/DHA in polar lipid more than non-polar lipids.

The suitable amount of n-3 HUFAs and the ratio of EPA/DHA recommended for normal growth and osmotic resistance of *P. monodon* postlarvae was 1.5 % and 1:2, respectively.

ภาควิชา..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to extend my deep gratitude to my advisors, Asst. Prof. Dr. Somkiat Piyatiratitivorakul, Dr. Prasat Kittakoop and Professor Dr. Piamsak Menasveta for their useful suggestions and their assistance. Moreover, I wish to thank Dr. Voranop Viyakarn and Dr. Sumate tantratian for their worthy suggestion and discussion; Mr. Saree Donnue, Miss Nittaya Chaiyanat, Miss Surinthorn Boonanuntanasarn, Miss Jintana Darachai, Mr. Virowt Hirunchaipuk and friends in Marine Biotechnology Research Unit (MBRU), who always kindly help me.

I would like to thank to Mr. Pongtorn Pitakgosolpong, Asst. General manager foreign trade division T.C. Union Agrotech CO., Ltd and Mr. F.C. Gou, Rovithai CO., Ltd for fish oil and vitamin and mineral mix samples for this research.

This research was supported by National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency.

Finally, I deeply gratitude to my family for their understanding and encouragement.

CONTENTS

	page
English Abstract	iv
Thai Abstract	v
Acknowledgements	vi
List of Tables	viii
List of Figures	x
Chapters	
I. Introduction	1
II. Literature Review	3
III. Meterials and Methods	22
IV. Results and Discussion	31
V. Conclusion and Recomendation	50
References	52
Appendices	59
Biography	75

LIST OF TABLES

Table		page
1	The common biological fatty acids	5
2	Major functions of essential fatty acids	13
3	Possible roles of polyunsaturated fatty acids in membranes	14
4	Summary of degree of essentiality for fatty acids of crustaceans. examined	16
5	Roles of highly unsaturated fatty acid in marine species	17
6	Ingredients of the experimental diets	23
7	Quantity of fish oils and EPA/DHA ratio in experimental diets	24
8	Lists of chemicals used in fatty acid analysis	25
9	The fatty acid compositions of reference standard GLC methylester.	26
10	Proximate analysis of the experiment diets	31
11	The quality of rearing water during the experiment	32
12	Fatty acid composition of two fish oil used in this experiment	33
13	Fatty acid composition of the experimental diets for *Penaeus monodon* (mg/g dry weight)	34
14	Growth of *P. monodon* postlarvae fed diets containing different levels of n-3 HUFAs after 30 day feeding experiment	36
15	Fatty acid composition of total lipids from the whole body of *Penaeus monodon* postlarvae fed the experiment diets (mg/g dry weight)	40
16	Fatty acid composition of polar lipids from the whole body of	

Table Page

Penaeus monodon postlarvae fed the experiment diets (mg/g dry weight)..... 42

17 Fatty acid composition of non-polar lipids from the whole body of *Penaeus monodon* postlarvae fed the experiment diets (mg/g dry sample)..... 44

18 CM_{50} of postlarvae fed each diet..... 46

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Major pathways of fatty acid biosynthesis by desaturation and chain elongation in animal tissues	9
2.	Effect of n-3 HUFAs and EPA/DHA ratio on the final weight of *P. monodon* postlarvae	38
3.	Effect of n-3 HUFAs and EPA/DHA ratio in diet on resistance to osmotic stress of *P. monodon* postlarvae	47
4.	The final weight and resistance to osmotic stress of *P. monodon* postlarvae	49