

ผลของแอสทาแซนทินจากสาหร่ายน้ำจืด *Haematococcus pluvialis* NIES144 ต่อการ
เติบโตของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* วัยอ่อน

นางสาวจินตนา คารามาย



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-889-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย

I 17061040

**EFFECT OF ASTAXANTHIN FROM Haematococcus pluvialis NIES 144
ON GROWTH OF Penaeus monodon LARVAE**

Miss Jintana Darachai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the the Requirements

for the Degree of Master of Science

Program of Biotechnology

Graduate School

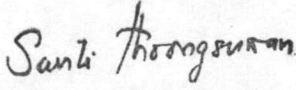
Chulalongkorn University

1996

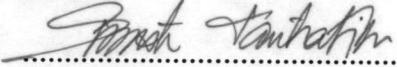
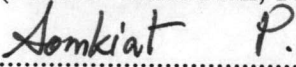
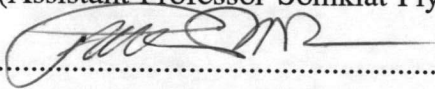
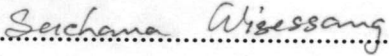
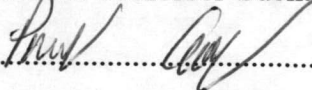
ISBN 974-633-889-7

Thesis Title Effect of Astaxanthin from Haematococcus pluvialis
NIES144 on Growth of Penaeus monodon Larvae
By Miss Jintana Darachai
Program Biotechnology
Thesis Advisor Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.
Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.
Associate Professor Suchana Wisessang, M.Sc.

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


..... Dean of the Graduate School
(Associate Professor Santi Toongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee


.....Chairman
(Sumate Tantratian, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Associate Professor Suchana Wisessang, M.Sc.)

.....Member
(Prasat Kittakoop, Ph.D.)

C 626661: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ASTAXANTHIN / Haematococcus pluvialis / Penaeus monodon / SALT TOLERANCE

JINTANA DARACHAI : EFFECT OF ASTAXANTHIN FROM Haematococcus pluvialis NIES144 ON GROWTH OF Penaeus monodon LARVAE.

THESIS ADVISOR : ASST.PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : PROF. PIAMSAK MENASVETA, Ph.D.,

ASSOC.PROF. SUCHANA WISESSANG, M.Sc.

115 pp. ISBN 974-633-889-7

The aims of the present study are to produce astaxanthin from Haematococcus pluvialis NIES144 and to compare the efficiency of algal and synthetic astaxanthins on growth, survival and stress resistance of Penaeus monodon larvae.

Cultivation of H. pluvialis NIES144 was at 25 °C under 1.5-3 klux light intensity. Astaxanthin accumulation in algae (cyst form) was induced by high light intensity of 10 klux. Yield of dried algae was 0.2 g/l with 1.4 % astaxanthin. Stimulation of astaxanthin accumulation was also studied by using salinity stress. Six concentrations of NaCl: 0, 0.125, 0.5, 1, 3 and 5 g/l with low and high light intensities was provided. Strong light intensity affect astaxanthin production but did not NaCl.

Four diets: algal astaxanthin-added diet (AAD), synthetic astaxanthin-added diet (SAD), non astaxanthin supplemented diet (CD) and natural food (NF) were fed to shrimp larvae of different stages. The larvae fed with AAD showed the highest survival rate and had the same growth rate as the group fed NF. Both larvae fed with AAD and NF showed significantly higher growth rate than the groups fed SAD and CD ($P < 0.05$). Moreover, the AAD group could tolerate in low salinity stress better than others. Carotenoids content in shrimp fed with NF, AAD, SAD and CD were 179.54 ± 0.65 , 122.57 ± 5.62 , 109.67 ± 0.47 and 97.33 ± 3.42 ppm, respectively.

ภาควิชา..... -

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ.....

ปีการศึกษา 2538.....

ลายมือชื่อนิสิต..... จินตนา ดาชาชัย.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

จินตนา ดาราราย : ผลของแอสทาแซนทินจากสาหร่ายน้ำจืด *Haematococcus pluvialis* NIES144 ต่อการเติบโตของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* วัยอ่อน (EFFECT OF ASTAXANTHIN FROM *Haematococcus pluvialis* NIES144 ON GROWTH OF *Penaeus monodon* LARVAE) อ.ที่ปรึกษา : ศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรกุล อ.ที่ปรึกษาร่วม : ศ.ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, รศ. สุชานา วิเศษสังข์, 115 หน้า. ISBN 974-633-889-7

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตแอสทาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* NIES144 และเพื่อเปรียบเทียบผลของแอสทาแซนทินจากสาหร่าย และแอสทาแซนทินสังเคราะห์ ที่มีต่อการเติบโต, อัตราการรอด และความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างเฉียบพลันของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* NIES144 ที่ระดับความเข้มแสง 1.5-3 กิโลลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มแสงเป็น 10 กิโลลักซ์ สาหร่ายจะสะสมสารแอสทาแซนทิน เมื่อทำแห้งจะได้น้ำหนักสาหร่ายประมาณ 0.2 กรัม/ลิตร มีแอสทาแซนทินสะสมอยู่ 1.44 % เมื่อทดลองกระตุ้นให้สาหร่ายสะสมแอสทาแซนทิน โดยใช้โซเดียมคลอไรด์ 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.125, 0.5, 1, 3 และ 5 กรัม/ลิตร แล้วนำไปเลี้ยงเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มแสงสูง และความเข้มแสงปกติ พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงที่ระดับความเข้มแสงสูงเท่านั้น สาหร่ายจะสะสมแอสทาแซนทินในทุกระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณใกล้เคียงกัน ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มีการสะสมน้อยกว่า

ศึกษาผลของแอสทาแซนทินที่มีต่อกุ้งกุลาดำวัยอ่อน โดยเลี้ยงกุ้งด้วยอาหาร 4 ชนิดคือ อาหารที่เติมแอสทาแซนทินจากสาหร่าย, อาหารที่เติมแอสทาแซนทินสังเคราะห์, อาหารธรรมชาติ และอาหารไม่เติมแอสทาแซนทิน (กลุ่มควบคุม) พบว่า กุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมแอสทาแซนทินจากสาหร่ายมีอัตราการรอดสูงกว่าทุกกลุ่มและยังมีอัตราการเจริญเติบโตเทียบเท่าอาหารธรรมชาติ และดีกว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมแอสทาแซนทินสังเคราะห์ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และยังพบว่าลูกกุ้งสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ดีกว่ากุ้งกลุ่มอื่นๆ ปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สะสมในกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติ, อาหารที่เติมแอสทาแซนทินจากสาหร่าย, อาหารที่เติมแอสทาแซนทินสังเคราะห์ และกลุ่มควบคุม เท่ากับ 179.54 ± 0.65 , 122.57 ± 5.62 , 109.67 ± 0.47 และ 97.33 ± 3.42 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ

ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2538

ลายมือชื่อนิสิต จินตนา ดาราราย
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my honest gratitude to Asst. Prof. Somkiat Piyatiratitivorakul, advisor, Prof. Piamsak Menasveta and Assoc. Prof. Suchana Wisessang, co-advisor for their helpful suggestions and supports throughout this research and also to Dr. Prasat Kittakoop and Dr. Sumate Tantratian for kindly serving on my committee and second reader of this thesis.

I wish to express my sincere thanks to Mr. Sorawit Powtongsook for giving a consultation on the algal cultivation, Miss Nittaya Chaiyanate, Miss Raweewan Suvanich, Mr. Wiroj Hirunchaiyapuck, Mr. Somnuk Satitsoonthorn, Mr. Saree Donnua and friends for their contributions and supports to this work.

This research was supported by a grant from the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Ministry of Science, Technology and Environment.

Lastly, the greatest, to my parents and brothers for their supports, understanding, patience and just being.

TABLE OF CONTENTS

	Page
English Abstract	IV
Thai Abstract	V
Acknowledgement	VI
List of Tables	VIII
List of Figures	IX
 Chapters	
I. Introduction.....	1
II. Literature Review	4
III. Materials and Methods	24
IV. Results	39
V. Discussions	64
VI. Summary and Recommendations	75
References	78
Appendix	87
Biography	115

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Proposed carotenoid functions in cruataceas	14
2	Fraction of carotenoids produced by <i>H. pluvialis</i>	20
3	Composition of experimental diet	31
4	Proximate analysis of cyst of <i>H. pluvialis</i> NIES144	47
5	Number of cysts at 1.5 klux and 10 klux light intensity ..	48
6	Astaxanthin concentration in cyst of <i>H. pluvialis</i> NIES144 and in synthetic astaxanthin	49
7	Proximate analysis of diets	53
8	Astaxanthin concentration in diets	53
9	Percentage survival of larval stage fed different diets	55
10	Length of postlarva15 fed different diets	57
11	Cumulative mortality of postlarva15 fed different diets ...	59
12	Time 50% cumulative mortality of larvae fed different diets in low salinity stress	61
13	Water quality of the rearing	62
14	Astaxanthin concentration in postlarva15 fed different diets	63

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1 Larval stages of <u>Penaeus monodon</u>	5
2 Three configurations of astaxanthin	12
3 Metabolic pathway of carotenoids in prawn, crab and lobster	15
4 Life cycle of <u>H. pluvialis</u>	21
5 Culture of <u>H. pluvialis</u> NIES144 at 25 °C with 1.5 klux light intensity	25
6 Experimental unit for rearing <u>P. monodon</u> larvae	29
7 Growth curve of <u>H. pluvialis</u> NIES144 at 25 °C with 1.5 klux light intensity	40
8 Chlorophyll and total carotenoids content of <u>H. pluvialis</u> NIES144 at different cell concentration	41
9 Dry weight and ash free dry weight of <u>H. pluvialis</u> NIES144 at different cell concentration	42
10 Growth curve of <u>H. pluvialis</u> NIES144 at 10 klux light intensity	44
11 Astaxanthin accumulation in <u>H. pluvialis</u> NIES144	45
12 Comparison of culture in vegetative stage and cyst stage ...	46
13 Microparticulated diets for shrimp larvae	50
14 Characteristics of control diet dissolved in water	51

Figure		Page
15	Characteristics of algal astaxanthin-added diet dissolved in water	51
16	Characteristics of synthetic astaxanthin-added diet dissolved in water	52
17	Survival rate of zoea, mysis and postlarvae fed different diets	56
18	Cumulative mortality of postlarva15 fed different diets	60