

徐財生，蕭錫延

國立臺灣海洋大學 食品科學系

(1997年6月15日接受)



草蝦飼料中抗壞血酸及其衍生物安定性之探討

摘要

本實驗的目的為探討草蝦飼料中抗壞血酸 (L-ascorbic acid, C1) 及其衍生物，單磷酸鎂抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg, C2MP-Mg) 與硫酸態抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-sulfate, C2S)，在飼料乾燥與貯藏過程的安定性以及在水中的流失率。飼料中加入 C1、C2MP-Mg 及 C2S 各 2000 mg/kg diet，分別在 25、35、50、75 及 100°C 乾燥至水分含量平均在 7.87% 時，C2MP-Mg 及 C2S 在飼料中的殘留量均高於 C1 ($P < 0.05$)；而且在 50°C (55 min)、75°C (32 min) 或 100°C (19 min) 之下乾燥的飼料，其 C1、C2MP-Mg 或 C2S 之殘留量均顯著高於 25°C (660 min) 或 35°C (330 min) 下乾燥之飼料。比較含 C1、C2MP-Mg 及 C2S 之飼料在不同貯藏條件下的安定性結果顯示：冷凍貯藏 (-20°C) > 低溫貯藏 (4°C) > 室溫 (25°C) 不透光袋裝 > 室溫 (25°C) 之透光袋裝貯藏。在 25°C (透光袋或不透光袋裝) 貯藏八週之後，C2MP-Mg 及 C2S 的殘留率分別為 89.66% 及 90.20%，而 C1 卻無法檢驗出維生素 C 活性。飼料中之 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在 20 ppt 海水中的流失率均隨浸水時間的延長而增加。實驗結果顯示，C2MP-Mg 及 C2S 在飼料乾燥加工及貯藏過程中的安定性均高於 C1；而飼料中的 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在 20 ppt 海水中的流失率並無顯著之差異 ($P > 0.05$)。

關鍵詞： 飼料，抗壞血酸，安定性

維生素 C 為水產飼料之必需營養素⁽¹⁾。大多數的水產動物，包括甲殼類，對維生素 C 的缺乏均非常敏感⁽²⁻⁷⁾。傳統上，在水產飼料中的維生素 C 來源為抗壞血酸 (L-ascorbic acid, C1)，但是由於它是水溶性而且為熱不安定性，本身很容易在飼料製造過程及貯藏期間被氧化形成不活性之型態--Diketogulonic acid⁽⁸⁻¹⁰⁾。Shiau 與 Hsu⁽¹¹⁾ 發現，在室溫 (25°C) 下製造草蝦飼料的過程中，C1 約損失了 75%。

因此，近數年來，研究者藉由分子構造上的化學修飾法，將抗壞血酸六碳環上不安定的第二碳分子上的結合物以其他化學分子取代形成抗壞血酸衍生物^(12,13)，例如：硫酸態抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-sulfate, C2S)，單磷酸鎂抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg, C2MP-Mg) 以及多磷酸態抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-polyphosphate, C2PP)，由於其安定性均高於傳統上所使用之抗壞血酸 (L-ascorbic

acid, C1)^(11,14)，同時，對鯰魚^(14,15)、草蝦⁽⁷⁾ 及吳郭魚⁽¹⁶⁾都具有維生素 C 的活性。然而這些抗壞血酸衍生物與傳統使用之抗壞血酸，在水產飼料中的安定性仍未加以研究比較。本實驗之目的，即探討 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在草蝦飼料進行乾燥與貯藏期間之安定性，以及浸漬在 20 ppt 海水中之流失率。

材料與方法

一、基礎飼料

本實驗之基礎飼料組成 (Table 1)，依據 Shiau 與 Hsu⁽¹¹⁾之配方。蛋白質來源為不含維生素之酪蛋白 (Casein, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)，蛋白質來源為 45.7%；維生素組成係依據 Shiau 與 Hsu⁽¹¹⁾ 所使用之成分 (不含維生素 C)，含量為 2.7%；礦物質含量為 8.6%；脂質的來源為鱈魚肝油

徐財生，蕭錫延 (1997) 草蝦飼料中抗壞血酸及其衍生物安定性之探討。水產研究, 5(1): 81-88.

(Scott and Browne Limited, London, UK)，其含量為 5%。

Table 1. Composition of the experimental diet for *Penaeus monodon*.

<i>Ingredients</i>	<i>Percent dry weight</i>
Casein ¹	45.7
Dextrin	20.0
Amino acid mix ²	3.0
Glucosamine-HCl	0.8
Sodium citrate	0.3
Sodium succinate	0.3
Sodium hexametaphosphate	1.0
CMC ³	2.5
Cholesterol	0.5
Fish oil	5.0
Mineral mix ⁴	8.6
Vitamin mix ⁵	2.7
Alpha-Cellulose	9.6

¹ Vitamin-free, protein content 85.32%

² Amino acid mix: according to Shiau and Jan (1992)

³ CMC: carboxymethylcellulose

⁴ Mineral mix: according to Shiau and Chou (1991)

⁵ Vitamin mix: according to Shiau and Hsu (1993)

二、乾燥溫度對抗壞血酸及其衍生物之影響

基礎飼料中分別添加抗壞血酸 (L-ascorbic acid, C1, 100% vitamin C activity, Merck Co., Germany)、單磷酸鎂抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg, C2MP-Mg, 46.46% vitamin C activity, Showa Denko K. K., Japan) 以及硫酸態抗壞血酸 (L-ascorbyl-2-sulfate, 48% vitamin C activity, C2S, Pfizer Inc., New York, NY, USA) 各 2000 mg/kg diet, 充分混合均勻。此飼料加水約 50%，攪拌並揉成糰狀之後成型。秤取此飼料 5 組，每組為 100 公克，分別在 25、35、50、75 及 100°C 之下乾燥 (平均水分含量：7.87%)。

飼料乾燥後，每組飼料各秤取 5 公克，加入 100 ml 之 5% 偏磷酸 (Metaphosphoric acid) 分別萃取 5 分鐘 (Shaker model SA-31, Yamato Scientific Co.,

Ltd., Tokyo, Japan) 並於 3000 x g 之轉速下離心 10 分鐘 (IEC HN-S Centrifuge, International Equipment Co., USA)，飼料離心之後，上層液以 0.45 μm 之濾膜 (Gelman, Acrodisc LC 13, PVDF, USA) 過濾，然後取 10 μl 之濾液注入逆相高效率液相層析儀 (HPLC)。

三、飼料中抗壞血酸及其衍生物在水中之流失率

草蝦基礎飼料分別添加 C1、C2MP-Mg 及 C2S 各 2000 mg/kg diet，攪拌均勻之後，分別加入水分約 50%，再充分混合並成型。飼料經成型之後，在恆溫箱中以 50 °C 乾燥 (平均水分含量：7.35%)。精秤 5 公克飼料置於紗袋中，投入 300 ml 之 20 ppt 海水中，分別浸漬 3、5 及 7 分鐘。取出飼料，分析此飼料在不同浸漬時間之下，C1、C2MP-Mg 及 C2S 的流失情形。首先將浸漬後之飼料加入 100 ml 之 5% 偏磷酸 (Metaphosphoric acid) 分別萃取 5 分鐘，並於 3000 x g 之轉速下離心 10 分鐘，將飼料離心後之上層液以 0.45 μm 之濾膜過率，最後取 10 μl 之濾液注入 HPLC。

四、貯藏條件對草蝦飼料中抗壞血酸及其衍生物之影響

經過成型與乾燥之草蝦基礎飼料 (平均水分含量：7.35%) 分成四組，每組 100 公克，分別貯藏於 25°C (透光袋裝)、25°C (不透光袋裝)、4°C 及 -20°C 之下貯藏 8 週，並分別在 1、3、5 及 8 週時，測定飼料中 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在不同貯藏條件下之殘留量。

五、抗壞血酸及其衍生物之分析系統與條件

(一) 逆相高效率液相層析儀之分析系統

1. 主機體：Waters model 510 pump
2. 層析管柱：Shodex ODS-pak, F411A
3. 檢測器：Waters associate model 441, UV 254 nm
4. 積分儀電腦軟體：Shiunn Hwa Co. Ltd., Taiwan, ROC

(二) 逆相高效率液相層析儀之分析條件

1. 流動相：0.05 M KH_2PO_4 ; 0.7 M H_3PO_4 , pH 2.8
2. 流率：1.0 ml/min
3. 注入體積：10 μl
4. 管注溫度：25 °C
5. 管注壓力：1000 psi

六、統計分析

實驗數據以變異數分析 (Ananalysis of variance) 檢測實驗組之間是否有差異，若有差異再以鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's new multiple range test)⁽¹⁷⁾作進一步分析。各項統計分析均以 SAS 套裝軟體進行分析。

結果

一、乾燥溫度對抗壞血酸及其衍生物之影響

草蝦飼料以不同的溫度乾燥時，對 C1、C2MP-Mg 及 C2S 安定性之影響，如 Table 2。在 C1 方面，當草蝦飼料以 25 及 35°C 之下乾燥後 (平均水分含量為

7.87%)，C1 的損失最為嚴重，含量分別剩下 15.84% 及 14.58%。而在 50、75 及 100°C 的溫度下乾燥後的飼料，其 C1 含量分別為 25.64、24.62 及 24.50%。此結果顯示，草蝦飼料在 50、75 及 100°C 之下，因乾燥時間較短 (每 100 公克分別約需 55、32 及 19 分鐘)，使飼料中 C1 的殘留量高於在 25 及 35°C 之下長時間 (每 100 公克分別約 11 及 5.5 小時) 乾燥之草蝦飼料。兩者之間具有顯著之差異 ($P < 0.05$)。在 C2MP-Mg 方面，草蝦飼料在 25、35、50、75 及 100°C 之下乾燥時，其變化情形與 C1 類似。以 50、75 及 100°C 之下乾燥之草蝦飼料。其 C2MP-Mg 的殘留率 (分別為 82.54、83.58 及 83.91%) 均顯著高於在 25 及 35°C (分別為 77.95、77.66%) 乾燥者。在 C2S 方面，飼料在 25、35、50、75 及 100°C 之下乾燥時，其流失率之變化趨近於 C1 及 C2MP-Mg。實驗中，飼料在 50、75 及 100°C 之下乾燥後，C2S 之殘留率分別為 81.06、82.17 及 82.85% 均明顯高於在 25 及 35°C (殘留率分別為 77.43 及 76.19%) 之下乾燥之飼料。此外，草蝦飼料無論在 25、35、50、75 或 100°C 下乾燥，其 C2MP-Mg 及 C2S 的殘留率均顯著高於 C1。

Table 2. Retention (mg/kg diet) of C1, C2MP-Mg and C2S after drying at different temperature^{1,2}.

Vitamins of Supplementation	ascorbate (mg/kg diet)	Drying temperature (°C)				
		25 (660 min)	35 (330 min)	50 (55 min)	75 (32 min)	100 (19 min)
C1	2000	316.89±31.27 ^{ax}	291.59±17.36 ^{ax}	512.86±21.99 ^{ay}	492.33±16.77 ^{ay}	489.92±20.23 ^{ay}
C2MP-Mg	2000	1558.92±21.62 ^{bx}	1553.21±29.73 ^{bx}	1650.76±42.48 ^{by}	1671.56±39.12 ^{by}	1678.16±44.30 ^{by}
C2S	2000	1548.62±25.12 ^{bx}	1523.79±31.10 ^{bx}	1621.17±37.19 ^{by}	1643.41±37.02 ^{by}	1657.08±28.13 ^{by}

¹ The final average moisture in diet was 7.87%.

² Data are expressed as mean±SD (n=3). ^{ab}Significant ($P < 0.05$) differences among ascorbate sources within drying temperature; ^{xy}significant ($P < 0.05$) differences between various drying temperature within ascorbate source.

二、飼料中抗壞血酸及其衍生物在水中之流失率

草蝦飼料在 20 ppt 海水中，分別浸漬 0、3、5 及 7 分鐘時，其 C1、C2MP-Mg 及 C2S 之流失率如

Table 3。C1、C2MP-Mg 及 C2S 在飼料中的添加量均為 2000 mg/kg diet，在 50°C 下乾燥後 (平均水分含量為 7.35%)，其殘留量分別為 512.86、1650.76 及 1621.17 mg/kg diet。此值為飼料浸水之前 (0 分鐘) 的含量。當飼料在 20 ppt 海水中浸漬

3、5 及 7 分鐘時，C1 的殘留量分別為 375.60、281.42、208.25 mg/kg diet，流失率為 26.81、45.15 及 59.41%；C2MP-Mg 的殘留量分別為 1222.97、953.72 及 706.60 mg/kg diet，流失率為 25.88、42.20 及 57.17%；C2S 的殘留量分別為 1206.23、941.98 及 683.12 mg/kg diet，流失率分

別為 25.62、41.87 及 57.82%。此結果顯示，C1、C2MP-Mg 及 C2S 在 20 ppt 海水中浸漬時的流失率均會隨著浸漬時間的延長而增加，當浸漬 3、5 及 7 分鐘時，其流失率具有顯著之差異 ($P < 0.05$)；而在同一時間浸漬內，三者之間的流失率並無顯著差異 ($P > 0.05$)。

Table 3. Percent decrease of ascorbate in shrimp diets after being immersed in 20 ppt sea water at different periods^{1,2}

Vitamins of ascorbate	Supplementation (mg/kg diet)	Immersion time (min)		
		3	5	7
C1	2000	26.81±1.87 ^a	45.15±2.72 ^b	59.41±2.70 ^c
C2MP-Mg	2000	25.88±3.23 ^a	42.20±3.31 ^b	57.17±3.36 ^c
C2S	2000	25.62±3.20 ^a	41.87±1.86 ^b	57.82±2.59 ^c

¹ The diet was dried at 50 °C and the final average moisture in diet was 7.35%. The concentrations of C1, C2MP-Mg and C2S in diet before storage to represent 0 min.

² Data are expressed as mean±SD (n=3). Values in a row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

三、貯藏條件對草蝦飼料中抗壞血酸及其衍生物之影響

草蝦飼料在不同的貯藏條件之下，C1、C2MP-Mg 及 C2S 的安定性依序為：冷凍貯藏 (-20°C)、低溫貯藏 (4°C)、室溫 (25°C) 不透光袋貯藏，而最差者為室溫 (25°C) 下以透光袋貯藏之飼料。然而，無論在冷凍、低溫或室溫之下貯藏，C1、C2MP-Mg 及 C2S 在飼料中的殘留率均隨著貯藏時間的延長而減少 (Table 4)。在 C1 方面，飼料於 25°C (透光袋或不透光袋裝) 之下貯藏一、三及五週時，其殘留率均顯著降低，而貯藏至第八週時，即無法檢測出維生素 C 之活性。飼料在 4 及 -20°C 下貯藏至一、三及五週時，飼料中的 C1 殘留率顯著高於 25°C 下 (不透光或透光袋裝) 貯藏之飼料；當在 4 與 -20°C 之下貯藏至第三週時，飼料中 C1 的殘留率並無顯著差異；而貯藏至第八週時，兩飼料中 C1 的殘留率均顯著低於貯藏至第三週之飼料。此外，飼料在 -20 °C 之下貯藏至第八週時，C1 的殘留率顯著高於在 4 °C 之下貯藏之飼料。

在 C2MP-Mg 方面，飼料在 25°C (透光袋裝) 下貯藏，在三週之內，飼料中 C2MP-Mg 的殘留率顯著低於在 25 °C (不透光袋裝)、4 或 -20°C 下貯藏的飼料。飼料在 4 及 -20°C 下貯藏至第五及第八週時，飼料中 C2MP-Mg 之殘留率均顯著高於在 25 °C (透光袋裝) 下貯藏的飼料。然而，當飼料分別在 25°C (透光或不透光袋裝)、4 或 -20°C 之下貯藏超過第八週時，其 C2MP-Mg 之殘留率均顯著低於貯藏至第一或第三週之飼料。

在 C2S 方面，飼料在 25°C (透光或不透光袋裝) 及 4 °C 下貯藏至第三週時，飼料中 C2S 的殘留率並無顯著差異，而飼料在 25°C (透光袋裝) 下貯藏至第三週時，其 C2S 的殘留率顯著低於在 -20°C 貯藏之飼料。當飼料於 4 或 -20°C 之下貯藏，在第五或第八週時，其 C2S 的殘留率顯著高於在 25°C (透光或不透光袋裝) 之下貯藏之飼料。同時，無論飼料在 25 °C (透光或不透光袋裝)、4 或 -20°C 之下貯藏在第八週時，其 C2S 的殘留率都顯著低於貯藏至第一、三或第五週時之飼料。

Table 4. Percent decrease of C1, C2MP-Mg or C2S sampled after varying time intervals^{1,2}

Vitamins	Storage periods (wk)	Storage temperature (°C)			
		25 (clear bag)	25 (black bag)	4	-20
C1	1	83.21±4.52 ^{az}	89.25±0.78 ^{az}	96.12±0.59 ^{bz}	97.32±1.61 ^{hz}
	3	56.39±3.38 ^{ay}	60.87±5.01 ^{ay}	90.59±4.93 ^{bz}	92.63±3.61 ^{hyz}
	5	30.94±4.86 ^{ax}	32.48±3.73 ^{ax}	81.37±1.69 ^{by}	88.41±5.96 ^{hxy}
	8	ND ³	ND ³	70.75±3.03 ^{ax}	83.02±1.78 ^{bx}
C2MP-Mg	1	97.85±0.78 ^{ay}	99.21±0.51 ^{by}	99.49±0.38 ^{by}	99.37±0.43 ^{by}
	3	95.27±1.51 ^{ay}	98.42±0.73 ^{by}	98.47±0.69 ^{by}	98.96±0.74 ^{by}
	5	92.69±3.85 ^{axy}	95.63±1.65 ^{aby}	98.09±0.76 ^{by}	98.39±1.02 ^{hxy}
	8	88.70±3.43 ^{ax±}	3.67 ^{ahx} ±90.61	95.18±1.87 ^{bx}	95.84±2.74 ^{bx}
C2S	1	98.25±0.76 ^{az}	98.77±0.46 ^{abz}	99.07±0.37 ^{aby}	99.35±0.49 ^{by}
	3	95.79±1.53 ^{ay}	97.68±1.21 ^{abyz}	98.74±0.95 ^{aby}	98.64±1.23 ^{by}
	5	93.86±2.06 ^{ay}	95.36±1.57 ^{ay}	97.75±1.43 ^{by}	98.24±0.89 ^{by}
	8	89.80±2.37 ^{ax}	90.60±1.89 ^{ax}	94.57±2.15 ^{bx}	94.78±1.78 ^{bx}

¹ The diet was dried at 50 °C and the final average moisture was 7.35%.

² Values are expressed as meansymbol ±SD (n=3). ^{ab}Significant (P<0.05) differences between various storage temperatures at same time within ascorbate source; ^{xyz}significant (P<0.05) differences between the storage periods within ascorbate source.

³ ND: not detected.

討論

研究結果顯示，飼料中抗壞血酸衍生物，C2MP-Mg 及 C2S，在飼料加工及貯藏過程中，其安定性高於傳統上作為維生素 C 來源之 C1。在浸水之流失率方面，飼料中的 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在 20 ppt 海水中的流失率均隨著浸水時間之延長而增加，而且三者之間的流失率並無顯著之差異。

水產飼料在乾燥加工及貯藏過程中，其抗壞血酸很容易流失。研究者指出，飼料在乾燥加工及在室溫中短期貯藏 (Short-term storage) 時，抗壞血酸 (C1) 會損失 80 至 100% (8,10,18-20)。雖然低溫的環境中有利於抗壞血酸活性之保存，不過，影響抗壞血酸安定性的因子不僅是溫度而已，飼料在乾燥加工及貯藏期間與空氣中氧氣之接觸時間，仍是造成抗壞血酸失去活性的重要因素⁽⁸⁾。本研究中，當飼料 (100 g) 乾燥至平均水分含量為 7.87% 時，在 50、75 及 100°C 的溫度下乾燥所需的時間 (55、32 及 19 分鐘) 短於

在 25 及 35°C 之下乾燥之時間 (11 及 5.5 小時)。此結果顯示，在 25 及 35°C 之下乾燥之飼料，其 C1、C2MP-Mg 及 C2S 均顯著低於在 50、75 及 100°C 之下乾燥的飼料 (Table 2)。Brandt 等人⁽¹⁴⁾指出，大氣中氧氣之氧化作用為飼料加工過程中最大的問題。因此，有效控制加工場所中的溫度，以縮短乾燥加工時與氧接觸之時間，將有利於抗壞血酸之保存，以增進飼料之品質。

在飼料貯藏方面，飼料中的 C1、C2MP-Mg 及 C2S 在不同的貯藏條件下，其安定性以冷凍貯藏 (-20°C) 最佳，其次依序為低溫貯藏 (4 °C) 及室溫 (25°C) 以不透光袋裝之下貯藏，而最差者為室溫 (25°C) 以透光袋裝下貯藏之飼料。其中 C1 在室溫 (25°C) 下貯藏至第八週之後便失去抗壞血酸的活性。Sandnes 與 Utne⁽²¹⁾研究指出，水產飼料於 20°C 之下貯藏十六週之後，飼料中的抗壞血酸 (C1) 幾乎失去活性。此外，Herreid 等人⁽²²⁾曾指出，以透明容器貯藏之抗壞血酸易受到光線照射而降低活性。本研

究結果顯示，當飼料在 4 或 -20 °C 貯藏至第五或第八週時，飼料中 C1、C2MP-Mg 或 C2S 的殘留率均顯著高於在室溫 (25 °C) 下以透光袋裝貯藏之飼料。Kulikov⁽²³⁾指出，飼料必須在低溫之下貯藏，而且貯藏條件應適當控制，以降低氧化速率。同時，Hardy⁽²⁴⁾也指出，低溫及控制貯藏場所中的含氧量，為降低氧化速率最有效的貯藏方法。

另一方面，Bauernfeind 與 Pinkert⁽²⁵⁾指出，L-ascorbic acid oxidase 會催化 Ascorbic acid 氧化形成 Dehydro-ascorbic acid，而此化合物很容易再氧化形成不可逆之 Diketogulonic acid。因此，認為飼料中抗壞血酸在飼料加工或貯藏期間的破壞，不僅是受到氧氣與熱之影響，酵素 (L-ascorbic acid oxidase) 之作用亦為氧化的因素之一，而 C2S 並非 L-ascorbic acid oxidase 的受質。本實驗發現 C2MP-Mg 及 C2S 之安定性高於 C1，可能因為 C2MP-Mg 衍生物亦非 L-ascorbic acid oxidase 的受質。

在浸水時間對飼料中抗壞血酸之影響方面，由於 C1、C2MP-Mg 及 C2S 均係水溶性化合物⁽¹³⁻²⁷⁾。Hilton 等⁽¹⁹⁾曾研究抗壞血酸的流失情形，發現飼料浸於水中 10 秒鐘之後，其抗壞血酸 (C1) 即流失約 10%。Yamamoto⁽²⁶⁾亦指出，飼料浸水 5 分鐘後，其維生素 C (C1) 的流失率高達 99%。本實驗中，將含有 C1、C2MP-Mg 及 C2S 之飼料投入 20 ppt 的海水中，結果發現此三種不同型態之抗壞血酸的流失率均隨著浸水時間的延長而增加，而且其流失率並無顯著之差異。由此得知，抗壞血酸及其衍生物 (C2MP-Mg 及 C2S) 在水中的流失情形，將是水產飼料不可忽視的問題之一，這也是今後必須面對的課題。若能研究改進此流失的問題，將有助於抗壞血酸之利用率，以提高水產飼料的品質。

謝辭

本研究之完成，感謝經濟部商品檢驗局基隆分局提供完整的儀器設備，並給予充分的時間進行各項實驗。

參考文獻

- FFI (Fish Farming International) (1984) Vitamin C has high place in feeds for farm fish. *Fish Farming Int.*, **11**(6): 18.
- Deshimaru, O. and K. Kuroki (1976) Adequate dietary levels of ascorbic acid for prawn-VII. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **42**: 571-576.
- Lightner, D. V., L. B. Colvin, C. Brand and D. A. Danald (1977) "Black death" a disease syndrome related to a dietary deficiency of ascorbic acid. *Proceedings of the World Mariculture Society*, **8**: 611-624.
- Magarelli, P. C. Jr., B. Hunter, D. V. Lightner and L. B. Colvin (1979) Black death: an ascorbic acid deficiency disease in penaeid shrimp. *Comp. Biochem. Physiol.*, **63A**: 103-108.
- Catacutan, M. R. and M. Dela Cruz (1989) Growth and mid-gut cells profile of *Penaeus monodon* juvenile fed water-soluble vitamin deficient diets. *Aquaculture*, **81**: 137-144.
- Shiau, S. Y. and F. L. Jan (1992) Ascorbic acid requirements of grass shrimp *Penaeus monodon*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**: 73.
- Shiau, S. Y. and T. S. Hsu (1994) Vitamin C requirement of grass shrimp *Penaeus monodon*, as determined with L-ascorbyl-2-monophosphate. *Aquaculture*, **122**: 347-357.
- Lovell, R. T. and C. Lim (1978) Vitamin C in pound diets for channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107**: 321-325.
- Hilton, J. W., Brown, R. G. and S. J. Slinger (1979) The half-life and uptake of ¹⁴C-L-ascorbic acid in selected organs rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **62A**: 427-432.
- Soliman, A. K., K. Jauncey and R. J. Roberts (1987) Stability of ascorbic acid and its forms in fish feed during processing, storage and leaching. *Aquaculture*, **60**: 73-83.
- Shiau, S. Y. and T. S. Hsu (1993) Stability of ascorbic acid in shrimp feed during the analysis. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**: 1535-1537.
- Seib, P. A., Y. Y. Liang, C. H. Lee, R. C. Hosney and C. W. Deyoe (1974) Synthesis and stability of L-ascorbate-2-sulfate. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **11**: 1220.
- Tolbert, B. M., M. Downing, R. W. Carlson, M. K. Knight and E. M. Baker (1975) Chemistry and metabolism of ascorbic acid and ascorbate sulfate. *Am. N. Y. Acad. Sci.*, **258**: 48-69.
- Brandt, T. M., C. W. Deyoe and P. A. Seib (1985) Alternate sources of vitamin C for channel catfish. *Prog.*

- Fish Cult., **47**: 55-59.
15. Wilson, R. P., W. E. Poe and E. H. Robinson (1989) Evaluation of L-ascorbyl- 2-polyphosphate (AsPP) as a dietary ascorbic acid source for channel catfish. *Aquaculture*, **81**: 129-136.
 16. Shiau, S. Y. and T. S. Hsu (1995) L-Ascorbyl-2-sulfate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbyl-2-monophosphate for tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, **133**: 147-157.
 17. Puri, S. C. and K. Mullen. (1980) Multiple comparisons in: applied statistics for food and agricultural scientists. G. K. Hall Medical Publishers, Boston, M. A., 146-162.
 18. Eva, J. K., R. Fified and M. Rickett (1976) Decomposition of supplementary vitamin C in diets compounded for laboratory animals. *Lab. Anim.*, **10**: 157-159.
 19. Hilton, J. W., C. Y. Cho and S. L. Slinger (1977) Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *J. Fish. Res. Board Can.*, **34**: 683-687.
 20. Grant, B. F., P. A. Seib, M. Liao and K. E. Corpron (1989) Polyphosphorylated L-ascorbic Acid: a stable form of vitamin C for aquaculture feeds. *J. World Aquacult. Soc.*, **20**: 143-155.
 21. Sandnes, K. and F. Utne (1982) Processing loss and storage stability of ascorbic acid in dry fish feed. *Fisheridir Skr. Ser. Ernaring*, **11**(2): 39-44.
 22. Herreid, E. O., B. Ruskin, C. L. Clark and T. B. Parks (1952) Ascorbic acid and riboflavin destruction and flavor development in mille exposed to the sun in amber, clear, paper and ruby bottles. *J. Dairy Sci.*, **35**: 772-778.
 23. Kulikov, P. I. (1978) Production of meal, oil protein-vitamin preparation in the fishing industry. American Publishing Co. PVT. Ltd., Bombay, Calcutta, New York, NY, 253 pp.
 24. Hardy, R. (1980) Fish lipid. *In Advances in Fish Science and Tecnology*, (J. J. Connel and Stuff of Torry Research station eds.), Torry Research station, 103-111.
 25. Bauernfeind, J. C. and D. M. Pinkert (1970) *Advances in Food Resourch: Food processing with added ascorbic acid*. Academic Press Inc., New York, **18**: 219.
 26. Yamamoto, S. (1982) Examination concerning some synthetic diets for the larvae of ayu fish *Plecoglossus altivelis*: the stability of a supplemental vitamin C in the diets and its effects for the larvae. *Can. Transl. Fish. Aquat. Sci.*, **4850**: 12 pp.
 27. Shigueno, K. and S. Itoh (1988) Use of Mg-L-ascorbyl-2-phosphate as a vitamin C source in shrimp diets. *J. World Aquacult. Soc.*, **19**: 168-174.

Tsai-Shen Hsu and Shi-Yen Shiau
Department of Food Science, National Taiwan
Ocean University, Keelung 202, Taiwan.
(Accepted 6 June 1997)



Stability of Ascorbic Acid and Its Derivatives in Shrimp Diets

Abstract

The experiment was conducted to investigate the stability of two of ascorbic acid derivatives, L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg (C2MP-Mg) and L-ascorbyl-2-sulfate (C2S), in shrimp diets during dry-processing, storage and leaching. Regular L-ascorbic acid (C1) was also included for comparison. Laboratory-made purified shrimp diets were supplemented with 2000 mg/kg diet of either C1, C2MP-Mg or C2S. After drying, the analyzed-concentrations of C2MP-Mg and C2S were higher than C1 in the diet ($P < 0.05$) irrespective of the dried temperature (average moisture content of diet: 7.87%); and the concentrations of C1, C2MP-Mg or C2S were significantly higher for diets dried at 50 °C (55 min), 75 °C (32 min) or 100 °C (19 min) than the diets dried at 25 °C (660 min) or 35 °C (330 min). The stability of C1, C2MP-Mg and C2S under different storage conditions was, freezer (-20 °C) > refrigerator (4 °C) > room temperature (25 °C) in black bags > room temperature (25 °C) in clear bags regardless of the ascorbic acid source. After 8-week storage at room temperature, the remaining C2MP-Mg and C2S were about 89.66% and 90.20%, respectively, whereas, C1 could not be detected. The amount of leaching from either C1, C2MP-Mg or C2S increased with increasing the immersion time. This study suggests that C2MP-Mg and C2S were more stable than C1 in shrimp diet during processing and storage. However, the stability of the three forms of ascorbic acids was similar when immersed in 20 ppt of sea water.

Key words: Diets, Ascorbic acid, Stability