

## 建立益健飼料益生菌功能驗證平台

楊順德<sup>1</sup>、劉佩玟<sup>1</sup>、孫于琰<sup>2</sup>、孫玉苓<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 淡水養殖研究中心、<sup>2</sup> 財團法人農業科技研究院

本計畫委由財團法人農業科技研究院協助執行，本 (112) 年度目標為配合「水產益健飼料之製程與最適應用研究」計畫之子項計畫中所開發之 *Bacillus pumilus* D5 益健飼料進行益生菌種類確認、有效含菌量、儲存時效菌數變化、儲存溫度菌數變化及對養殖生物效能之分析，並建立前述檢測技術平台及標準操作程序，以確立相關驗證項目，作為未來相關驗證服務平台驗證標準一致化建立基礎。

益健飼料益生菌有效含量檢測：針對本所提供含 *B. pumilus* D5 之白蝦益健飼料進行分析，*B. pumilus* D5 平均菌量為  $3.0 \times 10^6$  CFU/g，與飼料初始添加量  $1.5 \times 10^7$  CFU/g 差異不大；而在飼料中可純化出三種外觀不同之菌株進行菌種鑑定，結果顯示分別為 *B. pumilus* D5、*B. paramycooides* 及 *B. velezensis*，其中以 *B. pumilus* D5 為最主要菌種。

益健飼料益生菌之耐高溫能力檢測：將含 *B. pumilus* D5 之白蝦益健飼料在 95°C 下維持 20 秒，並以乾浴槽作為加熱器材以此條件進行耐高溫測試，飼料降溫後進行菌株活化及塗盤，計算有效菌量，結果顯示 *B. pumilus* D5 平均菌量為  $6.5 \times 10^5$  CFU/g，較未加熱組有略微減少約一個對數值。

益健飼料益生菌儲架能力檢測：以 4°C 及 40°C 作為儲藏溫度，持續 90 天，每 30 天進行 1 次採樣及活性測試。結果顯示，在 30 天 4°C 及 40°C 之平均菌量分別為  $7.1 \times 10^5$  及  $7.4 \times 10^5$  CFU/g，在第 60 天平均菌量分別為  $8.2 \times 10^5$  及  $9.3 \times 10^5$  CFU/g，在 90 天後平均菌量分別為  $1.4 \times 10^6$  及  $8.3 \times 10^5$  CFU/g，與初始菌量  $3.0 \times 10^6$  CFU/g 相比各組都只出現少量菌量下降 (圖 1)。

益健飼料益生菌效能檢測：將已投餵 2 週 *B. pumilus* D5 益健飼料之白蝦，以造成白蝦早死病之腸炎弧菌 VP<sub>AHPND</sub> 進行浸泡感染，感染

後 24 小時對照組及 D5 組活存率分別為 86.7 及 96.7%，明顯可見對照組蝦隻活動力與食慾差，D5 組多數蝦隻仍正常活動及攝食，感染後 48 小時的活存率分別為 78.7 及 91.3%，對照組活力仍然不佳，感染後 72 小時活存率分別為 65.3 及 84.7%，以上兩組間活存率雖無顯著差異 ( $p = 0.1096$ )，但有食用益健飼料的白蝦活動力與食慾皆較對照組佳 (圖 2)。

標準作業程序建立：完成建置益生菌有效含菌量、益生菌耐高溫能力、益生菌效能 (腸道菌相)、益生菌儲架能力之標準作業程序共 4 件。

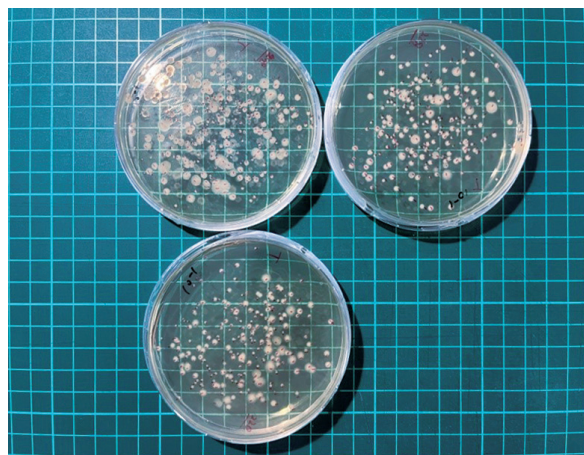


圖 1 益健飼料益生菌儲架能力檢測

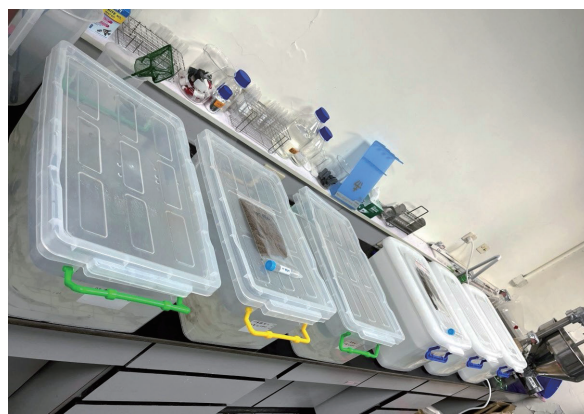


圖 2 白蝦浸泡感染試驗建置