

果聚糖對於點帶石斑成長之影響

黃美瑩、朱惠真、劉旭展、曾亮璋、張錦宜
水產試驗所水產養殖組

前言

石斑魚 (*Epinephelus* spp.) 具有肉質細嫩、味道鮮美、成長快速、飼料效率佳及經濟價值高等特性，為世界重要的養殖魚種之一 (Heemstra and Randall, 1993)。石斑魚在臺灣養殖相當普遍，2014 年石斑魚產量達 26,224 公噸，產值高達 86.22 億元 (漁業統計年報)。

果聚糖 (levan) 是一種果糖聚合物 (fructan)，大部分聚合度 (degree of polymerization) 為 20 以上，分子量通常大於 3.5 kDa。果糖聚合物主要有 2 種，除了果糖之間的鍵結以 $\beta(2-6)$ 為主的果聚糖外，另一為菊糖 (inulin)，主要由 $\beta(2-1)$ 鍵結，二者均可能有支鏈，而前者的水溶性高於後者。許多植物組織中有小分子量的果聚糖及菊糖 (分子量通常 < 5 kDa) 存在，此外，已知有多種微生物可以產生果聚糖，包括 *Aerobacter aerogenes*、*Bacillus subtilis*、*Erwinia herbicola* 及 *Zymomonas mobilis* (Han 1990; Keith et al., 1991)。

果聚糖在食物加工、化妝品及製藥上都有其應用的重要性 (Belghith et al., 2012; Calazans et al., 1997; Dahech et al., 2012; Han

1990; Kang et al., 2009; Mishra and Jha, 2013; No et al., 2007; Oner, 2013; Yoon et al., 2004)。在醫藥方面，果聚糖可作為血漿填充劑 (分子量為 25–250 kDa 者) (Kang et al., 2009; Mishra and Jha, 2013)，具有抗腫瘤 (分子量為 10–710 kDa 者) (Calazans et al., 1997; Yoon et al., 2004)、降低膽固醇 (分子量為 4–6,000 kDa 者) (Kang et al., 2006; No et al., 2007)、控制糖尿病 (Dahech et al., 2011a)、降低氧化壓力 (Dahech et al., 2011b) 及提升免疫能力 (Liu et al., 2010; Yoo et al., 2004) 等保健功效，並具益生菌 (prebiotic) 功能 (Huang et al., 2013; Semjonovs and Zikmanis, 2007)。另，合併食用果聚糖及黑豆 (*Rhynchosia molubilis*) 則有助於增加骨質密度 (Kang et al., 2004)。

在水產養殖應用上，果聚糖對於鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 及鰱 (*Labeo rohita*) 稚魚均具有免疫調節的效果，並可提升其對病原菌 *Aeromonas hydrophila* 之抵抗能力 (Gupta et al., 2008, 2010; Rairakhwada et al., 2007)。因此，Gupta 等 (2011) 認為，微生物所產的果聚糖在水產養殖上是很理想的免疫激活物。

本所自海水吳郭魚養殖池中分離出果聚

糖產量較高的菌株 T1，經生化特性及 16S rRNA 分析鑑定為 *Bacillus licheniformis*，遂將其命名為 *B. licheniformis* FRI MY-55 (Huang et al., 2013)。本研究係利用 *B. licheniformis* FRI MY-55 於含蔗糖培養基中進行發酵合成果聚糖，而後以不同比例添加於飼料中，探討其對點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 魚隻成長之影響，以作為將來水產養殖應用之參考。

材料與方法

一、飼料製備

(一) 果聚糖製備

用以產生果聚糖之含有 20% 蔗糖培養基配方係參考 Park 等 (2001) 的方法。*B. licheniformis* FRI MY-55 果聚糖的生產參照 Bekers 等 (2002) 的方法。

高產量果聚糖生產菌所產果聚糖經酸熱水解測定單糖成分 (Euzenat et al., 1997)，並使用膠體過濾層析 (gel permeation chromatography, GPC) 分析果聚糖的分子量後，用以添加於飼料中進行試驗。

(二) 飼料製作

以幼鰻配合飼料 (福壽牌，福壽實業股份有限公司，臺中，臺灣) 為原料，果聚糖添加劑量分別為 0、0.5、1.0、2.5 及 5.0 g/100 g 飼料。用定量水分與幼鰻配合飼料及果聚糖攪拌均勻，揉製成麵團狀以擠壓機擠壓成條狀，直徑為 3 mm，擠出後的飼料經過 45℃ 乾燥 12 hr 後，利用不透氣 pp 夾鍊袋保持乾燥密封，保存在 4℃ 冰箱備用。飼料配方及組成如表 1。

表 1 試驗飼料之配方及組成分析

| | 果聚糖添加量 (%) | | | | |
|----------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 0.5 | 1.0 | 2.5 | 5.0 |
| 飼料配方 (g) | | | | | |
| 幼鰻配合飼料 | 570.0 | 570.0 | 570.0 | 570.0 | 570.0 |
| 纖維素 | 30.0 | 27.0 | 24.0 | 15.0 | 0 |
| 果聚糖 | 0 | 3.0 | 6.0 | 15.0 | 30.0 |
| 水分 | 360.0 | 360.0 | 360.0 | 360.0 | 360.0 |
| 組成分析 (%) | | | | | |
| 粗蛋白 | 44.2 | 44.5 | 43.8 | 44.2 | 44.9 |
| 粗脂質 | 2.9 | 2.9 | 2.6 | 2.8 | 3.0 |
| 粗灰分 | 14.5 | 14.2 | 14.7 | 14.1 | 14.9 |
| 粗纖維 | 3.4 | 3.3 | 3.5 | 3.5 | 3.3 |
| 無氮抽出物 | 25.5 | 25.3 | 25.8 | 26.1 | 24.0 |
| 水分 | 9.5 | 9.8 | 9.6 | 9.3 | 9.9 |

二、點帶石斑成長試驗

(一) 供試魚隻

實驗所用之點帶石斑 (約 6 g) 購自民間養殖場，蓄養於水產試驗所基隆總所內 500 L 循環 FRP 桶中 2 wk，每天換水 50%，水溫維持在 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ，溶氧維持在 7.0 ± 0.5 ppm，鹽度為 31.2 ± 1.0 g/L，pH 值為 7.8 ± 0.3 。

(二) 試驗方法

實驗共有 5 組含不同果聚糖濃度之飼料，取體型大小約 8 g 的魚 150 隻進行實驗，每缸 10 尾魚 3 重複，隨機選取魚隻並放置於 15 座 82 L 大的玻璃缸。於每日上午 9 點及下午 5 點投餵飼料，投餵量為魚隻體重的 2.5%，每 2 wk 量測魚隻體重一次，調整投餵量，每次餵食 30 min 後撈除未攝食的殘餌，自投餵量中扣除，試驗共進行 12 wk。

(三) 成長分析

成長實驗期間每 2 wk 量測魚隻體重一

次，測量當天不予餵食。分析增重率 (percent weight gain, PWG) 及飼料效率 (feed efficiency, FE)。

$$\text{PWG (\%)} = [(\text{最後體重}) - (\text{最初體重}) / (\text{最初體重})] \times 100\%$$

$$\text{FE} = [(\text{最後體重}) - (\text{最初體重})] / \text{飼料總攝取量}$$

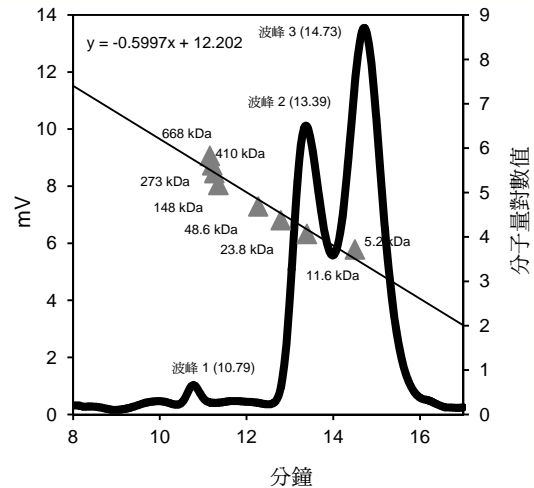
三、統計分析方法

試驗數據以 SAS (Statistical Analysis System) 套裝 GLM (General Linear Model Procedure) (SAS, 1988) 軟體作單向變異數分析 (one-way analysis of variance)，並以鄧肯式多變域測驗 (Duncan's multiple range test) 測定各處理組間的差異，顯著水準定在 0.05。

結果

一、*B. licheniformis* FRI MY-55 菌株所產果聚糖平均分子量分析

B. licheniformis FRI MY-55 生產之果聚糖產物經 GPC 分析後，發現主要有 3 個波峰 (如圖)，其分子量的組成有 2.34 kDa (61.92%)、14.88 kDa (36.66%) 及 540.80 kDa (1.42 %) (表 2)，以 2.34 kDa 所佔的比例最高，該分子量的果聚糖接近果寡糖 (fructooligosaccharide) (一般為 0.5—1.8 kDa) 大小。寡糖是益生素，可以選擇性的刺激腸道中一種或特定的細菌成長 (或活性)，提昇動物的健康狀態及飼料利用 (Gibson and Roberfroid, 1995)。一般而言，要從培養液中純化寡糖需要以高壓液相層析方式，而果聚糖的純化則以反覆的酒精沉澱即可達成，是比較簡單的純化方式。



Bacillus licheniformis FRI MY-55 菌株生產之果聚糖 GPC 圖。以 Dextran 標準品建立標準曲線 (分子量分別為 5.2、11.6、23.8、48.6、148、273、410 及 668 kDa)

表 2 利用膠體過濾層析分析以估算 *Bacillus licheniformis* FRI MY-55 所產果聚糖之分子量及產率

| 波峰 | 溶析時間 (min) | 分子量 (kDa) | 產率(相對比例) (%) |
|----|------------|-----------|--------------|
| 1* | 10.79 | 540.80 | 1.42 |
| 2 | 13.39 | 14.88 | 36.66 |
| 3 | 14.73 | 2.34 | 61.92 |

* 參照上圖之波峰

二、點帶石斑成長情形

點帶石斑經餵食不同含量的果聚糖 12 週後，餵食含 0% (對照組)、0.5%、1.0%、2.5% 及 5.0% 果聚糖之各組魚隻的平均體重自 7.61—8.26 g 分別增加為 47.74 g、48.48 g、57.16 g、61.30 g 及 44.83 g (表 3)，其中以添加 2.5% 果聚糖組之魚隻的平均體重最高，在統計上與對照組有顯著差異 ($p < 0.05$)。其餘依次為含 1.0%、0.5% 及未含果聚糖組，含 5.0% 果聚糖組反而有抑制成長

的現象，推測高量果聚糖可能類似纖維素的作用，會包覆營養物質，使其不易被腸道吸收，以致造成抑制成長的現象。而各組之平均增重率分別為 499.02% (0% 果聚糖組)、512.26% (0.5% 果聚糖組)、600.74% (1.0% 果聚糖組)、649.66% (2.5% 果聚糖組) 及 494.51% (5.0% 果聚糖組)，其增重率的高低次序與平均體重一致，以含 2.5% 果聚糖組最高，且與對照組有明顯差異 ($p < 0.05$)。

討論

本研究顯示，飼料中添加 2.5% 果聚糖可以有效促進點帶石斑的成長。Li and Kim (2013) 研究指出，以添加 0% (對照組)、0.05–0.2% 果聚糖的飼料分別餵食豬隻 42 天後，試驗組豬隻的成長顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，且試驗組豬隻的成長依果聚糖添加量提高而上升。Zhang and Kim (2014) 研究指出，添加 0.1% 果聚糖於飼料中餵食豬隻 28 天後，試驗組豬隻的增重率顯著高於對照組

($p < 0.05$)，且試驗組腸道中食物的消化能力較對照組強。Zhao 等 (2013) 報導，雞攝食含 0% (對照組)、0.25% 及 0.50% 果聚糖飼料 31 天後，試驗組雞隻的生長率明顯較對照組高 ($p < 0.05$)。Gupta 等 (2013) 研究顯示，鯉魚飼料中添加次死劑量 (sublethal dosage) 的殺蟲劑 (fipronil)，再分別添加 0% (對照組)、0.25%、0.50% 及 0.75% 果聚糖於飼料中餵食鯉魚 60 天後，試驗組魚隻的成長高於對照組，魚隻之成長依果聚糖添加量的提高而上升，且 0.50% 及 0.75% 果聚糖組魚隻之成長顯著高於對照組 ($p < 0.05$)，同時試驗組魚隻受到殺蟲劑不良影響之程度也較對照組低。Gupta 等 (2015) 研究指出，鰻稚魚飼料中分別添加 0% (對照組)、0.25%、0.50%、0.75%、1.0% 及 1.25% 果聚糖於飼料中餵食鰻 60 天後，試驗組魚隻的成長高於對照組，魚隻的成長依果聚糖添加量提高而上升，且 1.0% 及 1.25% 果聚糖組魚隻之成長顯著高於對照組 ($p < 0.05$)；Gupta 等 (2015) 分析魚隻腸道中消化酵素顯示，1.0%

表 3 點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 餵飼不同含量果聚糖飼料 12 週後之成長表現 ($n = 30$)

| | 果聚糖添加比例 (%) | | | | |
|----------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 0 | 0.5 | 1.0 | 2.5 | 5.0 |
| 初始體重 (g) | 7.96 ± 0.30 ^{a*} | 7.92 ± 0.43 ^a | 8.16 ± 0.59 ^a | 8.26 ± 0.54 ^a | 7.61 ± 0.97 ^a |
| 最終體重 (g) | 47.74 ± 5.06 ^{ab} | 48.48 ± 3.81 ^{ab} | 57.16 ± 6.76 ^{bc} | 61.30 ± 8.01 ^c | 44.83 ± 1.08 ^a |
| 增重率 (%) | 499.02 ± 44.95 ^a | 512.21 ± 81.11 ^a | 600.74 ± 43.88 ^{ab} | 649.66 ± 84.11 ^b | 494.51 ± 67.31 ^a |
| 飼料效率 | 0.75 ± 0.08 ^{abc} | 0.70 ± 0.05 ^{ab} | 0.81 ± 0.07 ^{bc} | 0.84 ± 0.11 ^c | 0.66 ± 0.03 ^a |

* 數據標示不同字母 (a、b 及 c) 者，表示有顯著差異 ($p < 0.05$)

及 1.25% 果聚糖組魚隻之蛋白酶、澱粉酶及脂肪酶顯示，均顯著高於對照組 ($p < 0.05$)。綜上可知，飼料中適量添加果聚糖可以增進豬、雞、鯉魚及鰻的成長與本研所得結果一致。

B. licheniformis FRI MY-55 生產之果聚糖產物以 2.34 kDa 所佔的比例 (61.92%) 最高，該分子量的果聚糖接近果寡糖大小（一般為 0.5–1.8 kDa），因此推測 *B. licheniformis* FRI MY-55 生產之果聚糖也具有果寡糖特性。Mahious 等 (2006) 探討飼料中分別添加 2% 菊糖 (Raftiline ST)、果寡糖 (oligofructose, Raftilose P95) 及乳果糖 (lactosucrose) 對於海水比目魚 (*Psetta maxma*) 仔魚之成長影響，結果顯示，比目魚飼食含寡果糖組飼料 28 天後，魚隻的成長顯著高於其他各組 ($p < 0.05$)。Lv 等 (2007) 研究指出，添加 0.08% 及 0.12% 短鏈果寡糖 (short-chain fructooligosaccharides) 於飼料中飼食吳郭魚 8 週後，試驗組魚隻的生長率明顯較對照組高。Zhou 等 (2007) 報導，白蝦 (*Litopenaeus vannamei*) 攝食含有 0.04–0.16% 短鏈果寡糖飼料 8 週後，試驗組白蝦的生長率明顯較對照組高。以添加果寡糖飼料投餵虹鱒 (*Oncorhynchus mykiss*)、海參 (*Apostichopus japonicas*) 及鱒魚 (*Acipenser stellatus*) 亦均有促進成長的效果 (Akrami et al., 2013; Ortiz et al., 2013; Zhang et al., 2010)。

Ye 等 (2011) 研究顯示，飼食牙鯧 (*Paralichthys olivaceus*) 含有 0.5% 果寡糖飼料 8 週後，試驗組與對照組在最終體重及體重增加率無顯著性差異 ($p > 0.05$)。Ai 等

(2011) 探討果寡糖對大黃魚 (*Larimichthys crocea*) 之成長效益研究顯示，大黃魚分別飼食含有 0.2% 及 0.4% 果寡糖飼料 10 週後，試驗組魚隻之比生長率與對照組並無明顯差異 ($p > 0.05$)。Grisdale-Helland 等 (2008) 報導，於飼料中添加 1% 果寡糖飼食大西洋鮭魚 (*Salmo salar*) 4 個月後，試驗組的成長與對照組無差異 ($p > 0.05$)。何等 (2003) 研究指出，分別添加 0.2% 及 0.6% 果寡糖於飼料中飼食吳郭魚 58 天後，試驗組魚隻的生長率與對照組亦無差異 ($p > 0.05$)。

益生菌對於魚隻成長有正面效益，可能與強化消化酵素進而提升營養素的消化力，促使宿主能分解更多營養素，增進飼料消化及吸收。Gupta 等 (2015) 研究指出，魚隻攝食添加果聚糖的飼料顯著提高腸道消化酵素的活性。果聚糖對於點帶石斑成長有正面效果，可能與提升消化酵素活性有關，使得營養成分在腸道的消化及吸收更佳。

結語

點帶石斑經飼食不同含量 *B. licheniformis* FRI MY-55 所產果聚糖 (0%、0.5%、1.0%、2.5% 及 5.0%) 飼料 12 週後，增重率以飼食含 2.5% 果聚糖組最高，且與對照組 (0%) 有明顯差異 ($p < 0.05$)，顯示飼料中添加 2.5% 果聚糖可以有效促進點帶石斑的成長。

