

# 果聚糖對於點帶石斑成長之影響

黃美瑩、朱惠真、劉旭展、曾亮偉、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*) 及鯪 (*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 cooides*) 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 °C 乾燥 12 hr 後，利用不透氣 pp 夾鍊袋保持乾燥密封，保存在 4°C 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  $7.0 \pm 0.5 \text{ ppm}$ ，鹽度為  $31.2 \pm 1.0 \text{ g/L}$ ，pH 值為  $7.8 \pm 0.3$ 。

#### (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)。

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

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

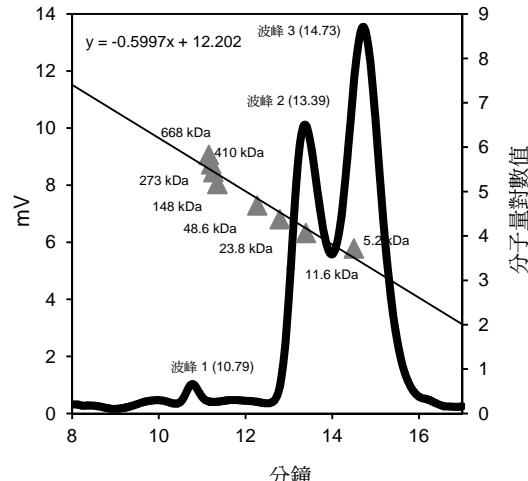
### 三、統計分析方法

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。寡糖是益生元，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，鯪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鯪 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)	$7.96 \pm 0.30^{\text{a}*}$	$7.92 \pm 0.43^{\text{a}}$	$8.16 \pm 0.59^{\text{a}}$	$8.26 \pm 0.54^{\text{a}}$	$7.61 \pm 0.97^{\text{a}}$
最終體重 (g)	$47.74 \pm 5.06^{\text{ab}}$	$48.48 \pm 3.81^{\text{ab}}$	$57.16 \pm 6.76^{\text{bc}}$	$61.30 \pm 8.01^{\text{c}}$	$44.83 \pm 1.08^{\text{a}}$
增重率 (%)	$499.02 \pm 44.95^{\text{a}}$	$512.21 \pm 81.11^{\text{a}}$	$600.74 \pm 43.88^{\text{ab}}$	$649.66 \pm 84.11^{\text{b}}$	$494.51 \pm 67.31^{\text{a}}$
飼料效率	$0.75 \pm 0.08^{\text{abc}}$	$0.70 \pm 0.05^{\text{ab}}$	$0.81 \pm 0.07^{\text{bc}}$	$0.84 \pm 0.11^{\text{c}}$	$0.66 \pm 0.03^{\text{a}}$

\* 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、鯉魚及鯪的成長與本研究所得結果一致。

*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 maxima*) 仔魚之成長影響，結果顯示，比目魚餵食含寡果糖組飼料 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) 於飼料中餵食吳郭魚 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*) 及鱘魚 (*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，餵食牙鯽 (*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，大黃魚分別餵食含有 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% 果寡糖餵食大西洋鮭魚 (*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% 果寡糖於飼料中餵食吳郭魚 58 天後，試驗組魚隻的生長率與對照組亦無差異 ( $p > 0.05$ )。

益生素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

點帶石斑經餵食不同含量 *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，增重率以餵食含 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。

