

蠶蛹抗菌胜肽於動物飼料添加物之 研發與商品化

廖久薰^{1*}、吳姿嫻¹

摘要

為振興國內蠶桑產業，本研究團隊開發蠶蛹於貓咪食品之研究，建立家蠶誘導產生抗菌胜肽，經體外抑菌試驗證實家蠶體液可抑制格蘭氏陽性菌生長。添加於動物飼糧比較試驗顯示添加 0.5 及 1% 蠶蛹粉可提升肉雞體增重及改善腸道結構與菌相，促進營養吸收及健康。添加於小鼠飼糧食結果顯示含蠶蛹飼糧餵食 4 週後，腸道產氣莢膜梭菌數量減少 15%。進行本研究誘導之蠶蛹添加於家貓食品之研發，商品化產品熱量 132.8 kcal/100g，水分 78.2%，粗蛋白 10.5%，鈣磷比 1.5:1，符合美國及歐洲公告之建議量，且經檢驗無重金屬殘留。採問卷調查方式進行適口性試驗，採雙碗測試，結果顯示受試家貓無取食方向性干擾，對本產品低於 60 秒試探時間占 82%，平均試探時間低於對照的市售罐頭，市售罐頭僅 67% 低於 60 秒。75% 受試家貓對本產品總取食量多過於市售罐頭。本技術產品適口性優於對照組市售罐頭。本技術已移轉給廠商生產販售，並轉介製作蠶農生產蠶蛹原料，增加蠶蛹多元增值利用與廠商營收，促進國內蠶桑產業發展。

關鍵字：蠶蛹、抗菌胜肽、動物飼料添加物、商品化

¹ 行政院農業委員會苗栗區農業改良場。苗栗縣。臺灣。

* 論文聯繫人E-mail：jsliaw@mdais.gov.tw

緒言

在聯合國 One Health 全體健康、減抗飼養及淨零碳排等全球倡議與趨勢下，動物保健品在其中扮演重要角色。透過「動物保健產業及安全防護科技創新開發」計畫，行政院農業委員會匯聚國內農業試驗改良場、所與產學研跨界合作，開發安全、天然具功效實證的動物保健品，應用於經濟動物飼料添加物與伴侶動物保健食品，實質健全國內動物保健品產業價值鏈、深化產品之創新及獨特性。

過去農民栽種桑樹養蠶主要目的是生產蠶繭繅絲製綢，近 30 年已逐漸從傳統農業轉型為生技產業，現代生物技術與醫學研究利用蠶絲輕柔、高度親和性及透氣性，作為美容保養品、傷口縫合線與人工皮膚等生物醫學用的素材。然而蠶蛹多被視為蠶桑生產之副產物，多作為田間堆肥或飼養家禽，尚無有效地經濟利用。蠶蛹是桑蠶變態過程的一個階段，無毒且含有多種營養成分，蠶蛹粉含 55-65% 粗蛋白、30-34% 粗脂肪及多種礦物質等，表列於「可供給家畜、家禽、水產動物之飼料參考物質」之一；不僅如此，Sadat *et al.*(2022) 蠶蛹含有脂肪酸、胜肽、酚類化合物等生物活性物質，於人體實驗中證實蠶蛹對人體具有抗氧化、抗菌、抗腫瘤及保肝的功效，在泰國及韓國等地將之視為優質蛋白質來源及機能保健食品，供人食用的相關產品已流通多年。

家蠶為體液免疫反應感受性高之昆蟲，受環境或外來物刺激後可自體產生多種具有抗菌作用的小分子肽。本研究建立友善飼養家蠶流程，刺激家蠶化蛹時自發性產生抗菌胜肽，同時利用蠶蛹本身營養物質，開發抗菌機能性蠶蛹添加於家貓食品，期可改善寵物貓咪腸道健康，提升飼主與貓咪生活品質。創造蠶蛹多元利用與蠶桑產品多樣性，有助於增加農民的收入及蠶桑產業再加值。

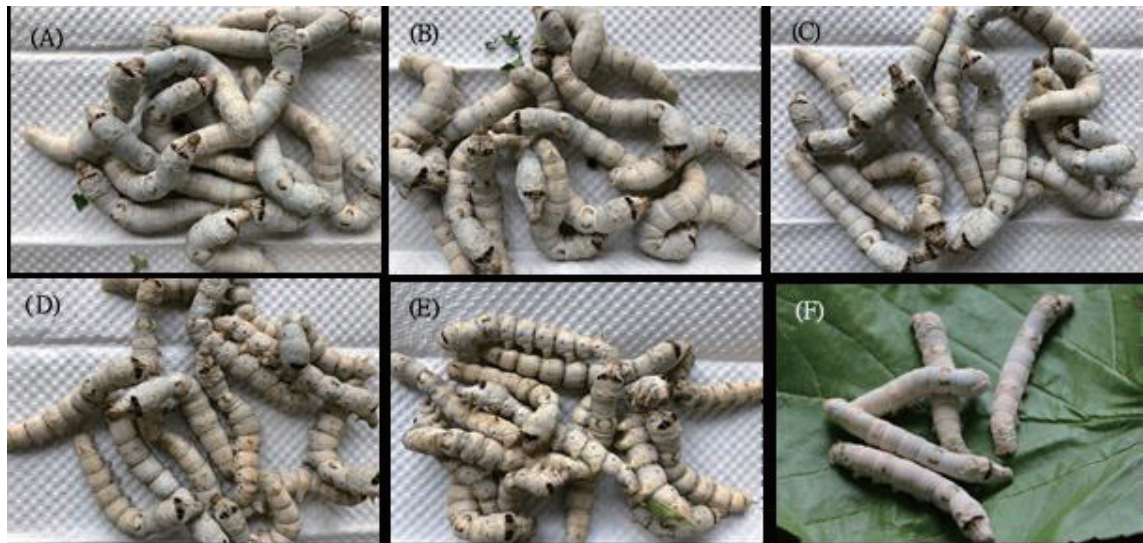
蠶蛹抗菌胜肽在動物飼料添加物之研究

抗菌胜肽 (Antimicrobial peptides, AMPs) 又稱宿主防禦肽，泛指存在於生物體內具抵禦外界微生物侵害，消除體內突變細胞的一群小分子肽，是天然免疫防禦系統的重要成分。這類的抗菌胜肽分子量小，由 6~120 個胺基酸組成；多呈正電，且同時具親水與疏水端的雙性分子；對熱及酸鹼耐性穩定；無抗原性；抗菌範圍廣；對健康的真核細胞幾

乎沒有毒性，對大腸桿菌、金黃葡萄球菌等有不同程度的殺害作用(范等，2009)。Xiao *et al.* (2015) 利用酵母菌增殖的抗菌乳鐵蛋白是最普遍用於離乳仔豬生長的抗菌肽，可增加仔豬最終體重及日增重 13.3 及 29.3%。

昆蟲不似哺乳類動物的免疫機制，當病原菌侵入昆蟲體內，細胞產生非專一免疫的抗菌物質，造成細菌細胞破裂而死亡(Nesa *et al.*, 2020)。1974 年發現經由細菌感染的惜古比天蠶 (*Hyalophora cecroia*) 蛹體內存在一種具抗菌活性的天蠶素 (cecropin)；家蠶在面臨生存危機時，體內也會自主性產生天蠶素及其它類似的胜肽群，以抵禦外來微生物侵擾而避免死亡(范等，2009)。Nesa *et al.* (2020) 依據不同的胜肽分子結構及殺菌特性，發現在家蠶體內有天蠶素、defensin、moricians、gloverins、attacin 及 lebecins 等 6 種抗菌胜肽，此類胜肽的抗菌範圍廣，不僅具有廣效抗細菌的活性，並具抗真菌、抗腫瘤、抗病毒等活性，非基因工程之天然產物，是一種新型應用於飼料科學，可取代抗生素且無公害的天然素材。

Nesa *et al.* (2020) 當病原菌侵入昆蟲體內，體液細胞進行瘤結及吞噬病原菌，再者會引起黑化反應，產生非專一免疫的活性氧及抗菌物質，造成細菌細胞破裂而死亡。家蠶幼蟲末齡施以刺激或緊迫處理，處理後的家蠶幼蟲體表呈現黑化，隨著處理程度愈高，黑化程度愈明顯(圖一)。蠶體黑化表示家蠶受到逆境刺激，體內已經開始出現自體抵禦



圖一、處理後對家蠶幼蟲體表的影響。(A) 至 (E)，低至高劑量，(F) 對照組。

的表現。體外抑菌確效結果顯示利用物理性刺激後的蠶蛹萃取液可抑制金黃葡萄球菌及木糖葡萄球菌等格蘭氏陽性菌，抑菌效果等用 Ampicillin 抗生素抑菌作用。本試驗調查發現經物理性處理家蠶幼蟲對蠶絲生產影響不明顯。因家蠶對農藥敏感，桑葉生產及養蠶過程不使用農藥，因此蠶蛹粉經 374 項農藥品項及重金屬砷、鉛、汞及鎘等劇毒重金屬檢測結果皆未檢出，作為飼料添加物安全無虞；添加 1% 蠶蛹粉可提升肉雞增長期體增重 4.6%(表一)，且肉雞血液生化分析結果，顯示肉雞食下含蠶蛹粉飼糧對生長無不良影響。肉雞飼糧添加 0.5~1% 蠶蛹粉可提高盲腸中乳酸菌菌數及降低大腸桿菌數目(表二)；可增加迴腸絨毛高度 / 腺窩深度，促進肉雞腸道吸收營養及生長。

添加蠶蛹飼糧於小鼠飼糧，對 ICR 小鼠體重及血液生化值沒有不良影響。添加蠶蛹處理組與無蠶蛹對照組在 14 天糞便菌相比較，結果顯示添加蠶蛹處理組之糞便含乳酸桿菌在第 14 日之菌數達 1.3×10^8 CFU/ g，高於無蠶蛹對照組之 1.0×10^8 CFU/ g，產氣莢膜梭菌數為 1.6×10^6 CFU/ g，低於對照組之 2.0×10^6 CFU/ g (圖二)。動物腸道菌數目會隨著機能性蠶蛹添加量增加而提高抑制有害細菌滋生之潛力。

表一、蠶蛹飼糧對肉雞生長性能之影響

Item	Treatment			
	control	0.5%PM	1.0%PM	1.5%PM
1-21 d				
Weight gain, g/bird	919.9±4.6 ab ^z	904.9±4.5 b	900.3±4.0 b	935.2±4.6 a
Feed consumption, kg/bird	1.3±0.0 a	1.2±0.1 c	1.2±0.2 bc	1.2±0.0 ab
FCR (kg/kg)	1.4±0.1 a	1.3±0.0 b	1.3±0.0 b	1.3±0.1 b
22-35 d				
Weight gain, g/bird	1423.7±10.0 b	1454.9±10.4 ab	1489.5±9.8 a	1403.4±9.5 b
Feed consumption, kg/bird	2.1±0.0 a	2.2±0.1 a	2.2±0.0 a	2.1±0.1 a
FCR (kg/kg)	1.5±0.0 a	1.5±0.0 a	1.5±0.1 a	1.5±0.0 a

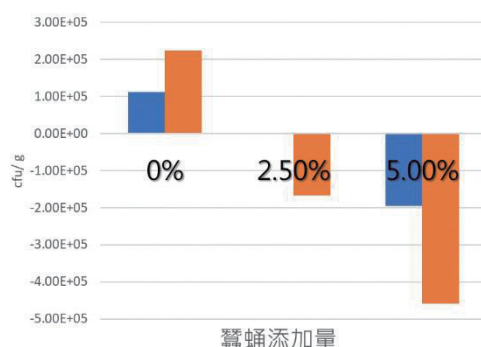
z : means ± standard error (n=3) within each row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

FCR: Feed conversion rate; PM: pupae meal.

表二、蠶蛹飼糧對肉雞腸道菌落之影響

Microbial parameter, log cfu/g	Treatment			
	Control	0.5% PM	1.0% PM	1.5% PM
<i>Lactobacillus sp.</i>				
Ileum	7.3±0.2 a ^z	8.1±0.2 a	7.1±0.1 a	6.8±0.2 a
Caecum	7.5±0.1 b	9.0±0.1 a	8.1±0.1 b	7.6±0.0 b
Coliform				
Ileum	7.2±0.1 a	7.5±0.1 a	7.0±0.1 a	6.5±0.0 a
Caecum	8.8±0.1 ab	9.3±0.1 a	8.1±0.2 c	8.7±0.1 bc

z: means ± standard error (n=6) within each row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test. PM: pupae meal



圖二、食後 2 及 4 週蠶蛹飼糧對小鼠腸道產氣芽孢桿菌菌落數影響

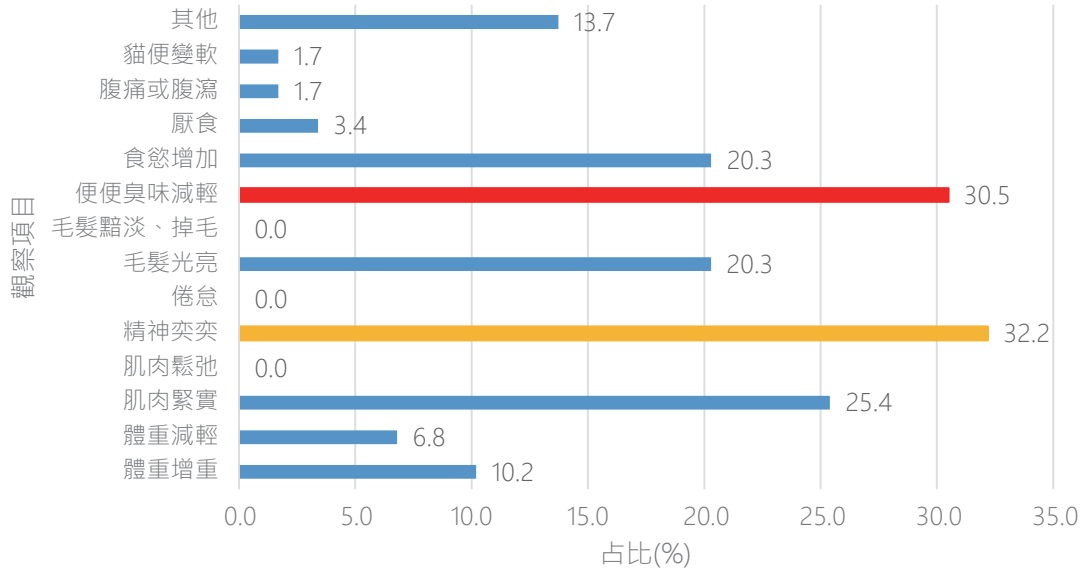
蠶蛹於家貓食品創新研發與商品化

隨著社會型態改變，新生兒出生數目銳減，許多家庭以飼養寵物慰藉心靈。根據台灣經濟研究院調查，2020 年國內寵物飼養隻數已超過 15 歲以下青少年人口數，少子化趨勢下，養毛小孩的現象逐漸普遍，對寵物食品與用品需求大增，全球寵物市場規模以每年超過 10.9% 速度成長，其中寵物保健食品的年成長率高達 72.9%，遠超過整體寵物食品平均年成長率，同時也開啟相關產品商機（李等，2021）。飼主將寵物視為家人及伴侶，關注其身心健康議題，更注重寵物食物是否天然有機，不僅吃得飽，更要吃得好、吃得

健康。本團隊開發之蠶蛹貓咪主食罐熱量 132.8 kcal/ 100g，水分 78.2%，粗蛋白 10.5%，粗脂肪 10%，碳水化合物 0.2%，灰分 1.1%，鈉 0.1%，鈣磷比 1.5:1(表三)，符合美國及歐洲公告之建議量，且經檢驗無重金屬殘留，安全無虞。募集 72 隻家貓進行本產品試吃問卷調查，結果顯示 93.2% 飼主願意給家貓含昆蟲成分的罐頭。試用 2 週後，75% 家貓接受並喜愛本產品，90% 飼主認為家貓試用本產品對其牠的外觀及健康有正面效果，其中 32.2% 認為貓咪神采奕奕，30.5% 貓咪便臭情形改善，25.4% 肌肉緊實度增加(圖三)。另募集 15 隻受試家貓進行產品適口性試驗，有效回收率 80%(12 隻)，採雙碗測試，受試家貓取食沒有方向性干擾，受試期間優先試探左碗的次數是 42 次，優先試探右碗的次數也是 42 次，比例為 1:1(表四)。貓咪對本技術產品(A 罐)有 82% 試探時間低於 60 秒，對照的市售罐頭(B 罐)試探時間有 67% 低於 60 秒。12 隻受試貓對 A、B 罐總取食量分別為 3613.5 克及 2868 克(0.56:0.44)，當中有 9 隻對 A 罐取食量多過 B 罐(圖四)，整體而言，本技術產品適口性優於對照組 B 罐。本技術已成功移轉給國內廠商生產販售，並轉介契作蠶農生產原料，市場反應良好，已成功增加蠶蛹多元加值利用與產業營收，促進國內蠶桑產業發展。

表三、蠶蛹貓咪罐頭營養成分表

代謝能:122 kcal/ kg		
成分	營養分析(%)	營養分析(乾物比%)
粗蛋白	10.5	48.2
粗脂肪	10	45.9
碳水化合物	0.2	0.9
灰分	1.1	5.0
鈉	0.1	0.5
水分	78.2	
	含量(%)	mg/ 100 kcal
磷	0.22	165.7
鈣	0.32	241.0
鈣磷比		1.5:1

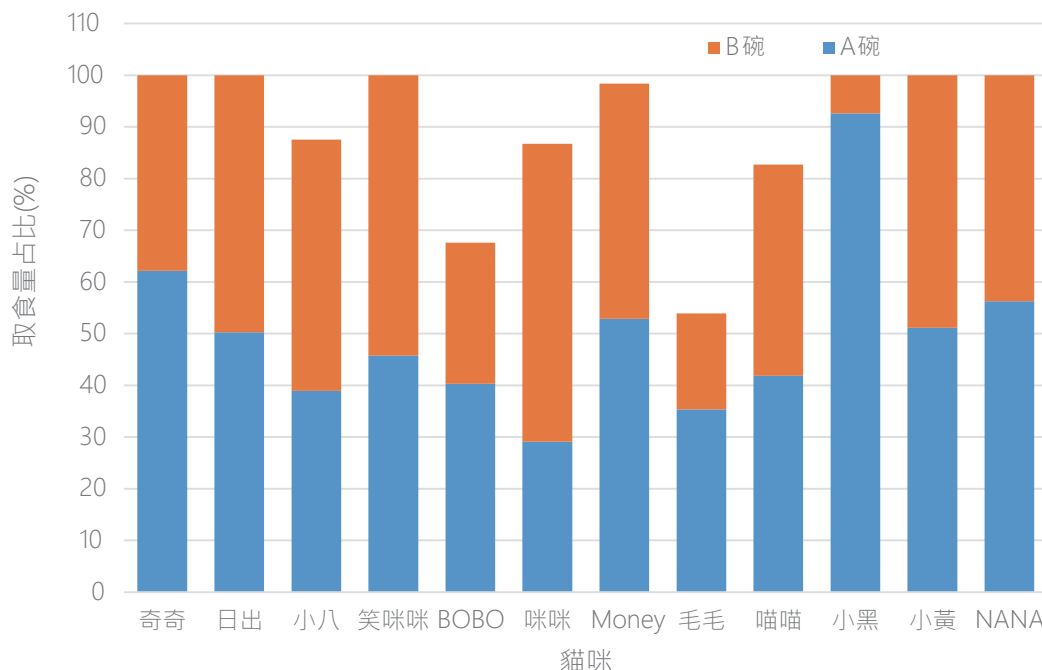


圖三、貓咪試用蠶蛹配方罐頭 2 週後的健康情形

表四、蠶蛹貓咪罐頭適口性測試及每日取食情形

貓咪	第1日		第2日		第3日		第4日		第5日		第6日		第7日	
	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B
奇奇	25*	24	44	32*	64	70*	13*	80	78.5	80*	26	80*	70	78*
日出	30*	25	38	43*	44*	58	68*	67	47	35*	51	34*	47	52*
小八	40*	40	40*	30	50	20*	50	20*	30*	0	30	30*	40	40*
笑咪咪	40*	65	40	65*	75	50	75	50*	75*	50	75*	40	70	60*
BOBO	0	30*	15	30*	5*	0	5	0	70*	0	65*	10	75*	0
咪咪	60*	10	70*	10	70*	0	40*	0	50	50*	50*	50	50*	60
Money	80	10*	50	20*	40	60*	60	60*	70*	20	25	50*	45*	40
毛毛	0	30*	0	60*	0	60*	45*	0	45*	0	0	50*	40*	0
喵喵	3	100*	100*	0	70*	10	12	20*	70*	10	50*	30	40*	20
小黑	30*	30	50*	10	12	80*	5	70*	70	5*	8	68*	80*	0
小黃	30	28*	45*	20	45*	10	30*	25	45*	10	40*	10	45*	5
NANA	35	32*	38*	34	29	40*	38	43*	33	51*	25	37*	43	34*
取食量 (小計)	373	424	530	354	504	458	441	435	683.5	311	445	489	645	389
優先試探 (小計)	6	6	6	6	5	7	6	6	7	5	5	7	7	5

*優先試探



圖四、受試家貓對 A、B 兩種貓罐頭總取食占比，A 罐為本試驗產品，B 罐為市售家貓罐頭

討論與展望

過去養蠶事業主要為繅絲製網，蠶蛹僅能算是蠶桑產業副產物。家蠶本身富含優質蛋白質與脂質，當作飼料是很好的營養來源，若又能善加利用昆蟲本身產生抗菌物質的特性，減低動物受有害微生物的侵害，可謂「一兼二顧」。本研究以蠶蛹作為飼料添加物，以無毒友善方式飼育家蠶，利用物理方式刺激家蠶幼蟲，使家蠶在化蛹時，體內產生天然抗菌胜肽，進一步應用於家貓飼料添加物，同時可提供蠶蛹營養與改善動物腸道健康。目前本技術產品已於國內販售，飼主可以直接上網選購及餵食，有助於提升寵物健康及寵物與飼主生活品質。

蠶桑事業全程無毒栽培管理，生產過程無排放有害物質；蠶蛹沒有農藥及重金屬殘留疑慮，作為動物飼料添加物是兼顧農業生產安全及環境永續發展最佳典範。本技術已成功增加國內蠶蛹增值利用，提高農民收入，未來應可視市場需求增加栽桑面積及養蠶農戶數以提高蠶絲及蠶蛹之原料生產，落實活化蠶業之願景。

參考文獻

- 李春芳、林義福、林恒夫、李盼、余祁暉。2021。「動物保健產業及安全防護科技創新開發」計畫簡介與執行效益。農業生技產業季刊 67：6~12。
- 范濤、代君君、周業奉、魏國清、范后文、尚玲珍、吳偉華、王儲炎、田善富。2009。家蠶抗菌肽的誘導及其抑菌作用的研究。中國農學通報 25：30-32。
- Nesa, J., A. Sadat, D. F. Banieli, A. Kati, A. K. Mandal and O. L. Franco. 2020. Antimicrobial peptides from *Bombyx mori*: a splendid immune defense response in silkworm. RSC Adv. 10:512-523.
- Sadat, A., T. Biswas, M. H. Cardoso, R. Mondal, A. Ghosh, P. Dam, J. Nesa, J. Chakraborty, D. Bhattacharjya, O. L. Franco, D. Gangopadhyay and A. K. Mandal. 2022. Silkworm pupae as a future food with nutritional and medicinal benefits. Curr. Opinion in Food Sci. 44 DOI:10.1016/j.cofs.2022.100818
- Xiao, H., M. Wu, F. Shao and W. Ren. 2015. The application of antimicrobial peptides as growth and health promoters for swine. J. Animals Sci. and Biotechnology DOI: 10.1186/s40104-015-0018-z

Development and commercialization of silkworm pupae antimicrobial peptides in animal feed additives

Chiu-Hsun Liao^{1*} and Tzu-Hsien Wu¹

Abstract

In order to develop the sericulture in Taiwan, we study the dry silkworm (*Bombyx mori* L.) pupa powder as a cat food additive for improving the pets' health. We establish the procedure of the inducing antimicrobial peptides (AMPs) in silkworm pupa. The hemolymph of AMPs-inducing silkworm pupa shows the ability of gram-positive bacteria inhibition. Both adding 0.5% or 0.1% AMPs-inducing silkworm pupa powder within feed could not only strengthen poultry' s digest system but also increase body weight and improve nutrition intake. Also, we find that after 4-week AMP-inducing silkworm pupa feed trial, *Clostridium perfringens* in the mice' s intestine decrease 15 percent. According to above reason, the research team come up with the idea of adding AMPs-inducing silkworm pupa powder within cat food, as a functional pet food. To comply with U.S. FDA and European' s recommendations of pet food, this AMPs-inducing silkworm pupa-added can product' s mineral ratio of Calcium/ Phosphorus is 1.5 and is without heavy metal residue. The nutrition content is 132.8 kcal/100g with 78.2 % moisture and 10.5% crude protein. To understand the palatability of AMPs-inducing silkworm pupa feed, we conduct the two-bowl test and it shows no preference difference between control group and experiment group. The food intake rate in 60 seconds feeding trial of the functional cat food

¹ Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan, R. O.C.

*Corresponding author, E-mail : jsliaw@mdais.gov.tw

is 82 percent, 15 percent higher than control group. We have technical transfer with biotech industry and there are several AMPs-inducing silkworm pupa adding cat food products in the market now. The popular of silkworm pupa cat food will also drive up the sericulture industry in Taiwan.

Keywords : silkworm pupae, antibacterial peptides (AMPs), functional additive, commercialization