

開發蠶蛹做為動物機能性飼料 添加物之研究

廖久薰^{1*}、吳姿嫻¹

摘要

為振興國內蠶桑產業，本研究以各種方式誘發蠶蛹產生抗菌胜肽，作為機能性飼料添加物於動物之應用，改善動物腸道菌叢與腸道結構，以期提升動物體增重及育成率之目標。結果顯示，以中、高劑量 UV 及饑餓處理可誘發蠶蛹產生抗菌物質，有效抑制金黃葡萄球菌生長。蠶蛹粉肉雞飼糧試驗結果：添加蠶蛹粉較無添加之對照組有顯著之體增重、改變肉雞盲腸內容物菌叢數目，提高有益菌與降低有害菌群數。飼糧添加 0.5% 及 1.0% 蠶蛹粉對白肉雞之腸道絨毛型態較對照組有顯著較佳之絨毛高度與腺窩深度比值，可促進肉雞營養吸收能力。綜合上述結果，具有抗菌物質的蠶蛹可改善腸道菌相及型態，並具促進生長之潛力。

關鍵詞：蠶蛹、抗菌胜肽、機能性添加物、動物

前言

世界糧農組織預估 2050 年全球人口數可能破百億，預估要增加至少 50% 植物及動物性食糧方能滿足全球每日每人的需求量。傳統畜牧業以大豆及玉米等穀物為飼料，水產養殖業則以捕撈下雜魚等副產物餵食。近年來受制於氣候變遷、耕地面積不足及全球性限捕魚獲等壓力，難以滿足未來養殖業需求，必須開發新的永續性蛋白質來源，於是，昆蟲將被考量作為替代品成為新興蛋白質來源（蕭，2014）。以大型商業養殖模式管理並養殖產食性經濟動物，密集飼養及運輸造成動物產生緊迫，提高病原菌傳染及死亡的風險。

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

養殖業者在飼料中添加殺菌劑等生長促進劑，以減少病原菌在密集飼養環境下大爆發的作法已為常態，長期使用不僅造成病原菌產生抗藥性，且容易在肉品殘留，對人體健康有不良影響。歐盟國家在 2006 年起已全面禁止在動物飼料中添加殺菌劑，改以其它可以改善動物腸道菌叢與健康的作法。近來國內逐步跟進，尋求天然抗菌物質取代抗生素，以減抗及無抗飼養改善動物免疫調節與育成率，達到動物健康及國人消費安全雙贏的目標。

抗菌勝肽之應用研究

抗菌勝肽 (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。這類的抗菌勝肽具有以下特性：分子量小，由 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勝肽群，以抵禦外來微生物侵擾而避免死亡 (范等，2009)。Nesa *et al.* (2020) 依抗菌勝肽的結構及殺菌特性不同，在家蠶體內有天蠶素、defensin、moricins、gloverins、attacin 及 lebocins 等 6 種抗菌勝肽，此類勝肽的抗菌範圍廣，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。

單等 (2012) 抗菌勝肽研究主要集中在分離純化、鑑定及抗微生物活性等，直接用於動物生長性能影響研究較少。飼糧中添加由枯草芽孢桿菌表達的天蠶素抗菌肽應用於肉雞生長性能，其日增重、飼料轉換效率及存活率與無添加對照組表現無異，肉雞販售後的毛利優於對照組 (李等 2010; 單等，2012)。李等 (2017) 肉雞食入天蠶素的試驗組整體精神狀態良好，羽毛光亮柔順、飼料報酬低，說明抗菌肽具有綜合提高雞群免疫力的

功效。若以直接誘發蠶蛹產生天然抗菌胜肽之新技術，開發機能性動物飼料添加物，提供優質動物性營養，將可望提升動物健康，減少飼養所用之抗生素。

蠶蛹應用現況

一、蠶蛹的營養組成

蠶蛹（silkworm pupa）是蠶蛾科昆蟲家蠶（*Bombyx mori* L.）的蛹，栽桑養蠶、繅製絲綢之外的另一項產出，根據統計，每生產 1 噸生絲，可同時獲得 1 噸的乾蠶蛹副產物。蠶蛹一般化學組成，蛋白質占 59~66%，脂肪含量為 29~33%，且富含多種維生素、礦物質、甲殼素及多醣等（王等，2006；施等，2009）。蠶蛹蛋白是一種完全蛋白質，含有人類無法自行合成的必需胺基酸：離胺酸、甲硫胺酸、白胺酸、纈胺酸、異白胺酸、蘇胺酸及苯丙胺酸等及其他共 18 種胺基酸，蠶蛹乾重的總胺基酸占 42.2%（Tomotake et al., 2010）。蠶蛹富含 ω -3 脂肪酸，尤其是 α -亞麻酸（ α -linolenic acid）是主要組成成分，約占蠶蛹脂肪酸 36.3%。

蠶蛹富含多種營養物質，卻鮮少被人有效利用，養蠶業者每年大量產出的蠶蛹若應用於動物養殖，可望取代現行魚粉及大豆粕的蛋白質來源，提高養殖業經濟收益（Dutta et al., 2012；Sheikh et al., 2018）。

二、蠶蛹作為食用昆蟲的現況與潛力

作為食用昆蟲種類，除了考量其營養價值外，材料取得及製程便利性是產品開發的關鍵因素；家蠶可完全規模化批次飼養，相當適合作為飼料添加物的原料。Khatun et al. (2005) 蠶蛹可取代現行家禽飼糧的蛋白質來源，增加生產利潤。蕭 (2014) 含 6% 蠶蛹飼料添加餵食肉雞，肉雞食物攝取、體重獲得、飼料轉換率或蛋白質效率及仔雞存活率表現優於完全以魚粉餵食，且養殖成本明顯降低。Karthick et al. (2019) 認為以 30~50% 蠶蛹用於鯉魚飼養，5~15% 用於鱒魚養殖，觀賞魚飼料添加 30~40% 蠶蛹粉取代魚粉，生長性能更好。Raffiullah et al. (2020) 蠶蛹粉可部分取代現行大豆粕製作白亨雞飼糧，對蛋雞生長性能及產蛋能力皆與無添加的對照組無異，蠶蛹生產成本較大豆粕低廉反而更具發展潛力（圖一）。張等 (2013) 蠶蛹除富含優質蛋白質及脂肪外，可自發性產生抗菌勝肽，是兼具營養及機能性的昆蟲。

蠶蛹抗菌勝肽在動物飼料添加物之研究

家蠶幼蟲末齡施以刺激或緊迫處理，包括饑餓、紫外線照射及高溫處理。處理後的家蠶幼蟲呈現黑化，隨著劑量愈高，黑化情形愈明顯（圖二）。黑化表示家蠶受到逆境

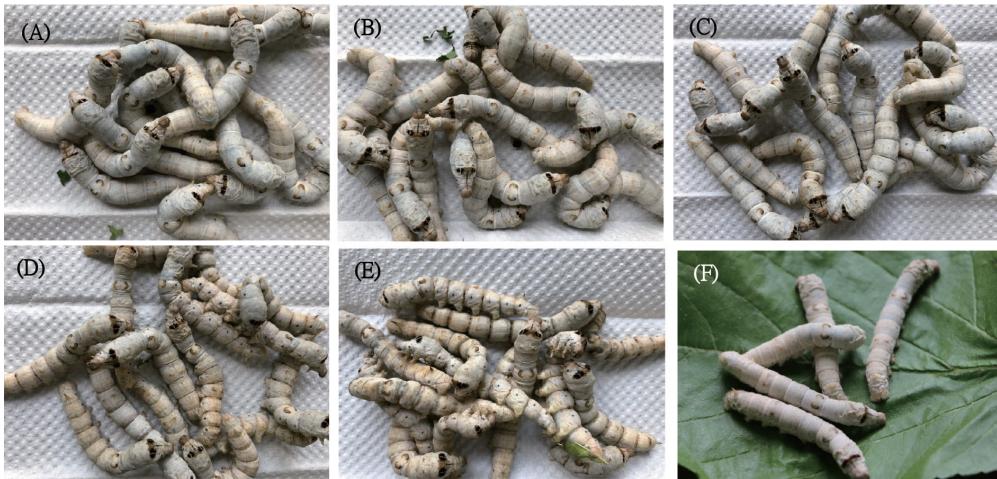


圖一、蠶蛹富含優質營養，作為動物飼糧極具潛力

Fig. 1. Silkworm pupae are rich in high-quality nutrients and have great potential as animal feed.

刺激，蠶體已經開始出現自體抵禦的表現。Nesa *et al.* (2020) 當病原菌侵入昆蟲體內，體液細胞進行結節及吞噬病原菌，再者會引起黑化反應，產生活性氧及非專一免疫的抗菌物質，造成細菌細胞破裂而死亡。

吐絲後的蠶蛹組織液以沸水隔水加熱 5 分鐘，進行抑菌功能確效。試驗結果：饑餓及紫外線處理後的蠶蛹萃取液與細菌液共培養，細菌生長情形與添加 Ampicillin 抗生素無顯著差異，表示其抑菌效果是等同的（表一）。本試驗的抗菌物質具有耐熱效果。饑餓處理後恢復家蠶取食及吐絲，對蠶絲減產影響不明顯；蠶蛹粉在 374 項農藥品項及重金屬砷、鉛、汞及鎘等 4 種劇毒重金屬皆未檢出，作為飼料添加物安全無虞；蠶蛹可產生抗菌物質且有抑菌效果，提供作為肉雞飼糧的原料。



圖二、家蠶幼蟲照射UV後對體表的影響。(A)至(E)，低至高劑量，(F)，無照射UV。

Fig. 2. Appearance of silkworm larvae after UV irradiating. (A)-(E), light to strength levels; (F), no UV irradiating.

表一、不同處理的蠶蛹萃取液對細菌生長之影響

Table 1. Effects of bacterial growth with different treatment of silkworm pupae extracts.

| 處理 | <i>S. aureus</i> CCRC12652 | <i>S. aureus</i> CCRC15211 | <i>S. xylosus</i> | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. choleraesuis</i> |
|----------------|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------|----------------|--------------------------|----------------------------|
| 低劑量UV | 1.5±0.0 ^x a ^y | 0.7±0.0 a | 0.7±0.1 a | 1.15±0.0 a | 1.5±0.0 a | 0.79±0.0 cd |
| 低中劑量UV | 1.3±0.0 ab | 0.6±0.1 ab | 0.5±0.0 b | 0.87±0.0 cd | 1.2±0.0 c | 0.89±0.0 ab |
| 中劑量UV | 1.3±0.0 ab | 0.2±0.0 cd | 0.3±0.0 d | 0.89±0.0 bcd | 1.2±0.0 c | 0.85±0.0 abc |
| 中高劑量UV | 0.6±0.0 d | 0.2±0.0 cd | 0.3±0.0 d | 0.92±0.0 b | 1.3±0.0 b | 0.82±0.1 bcd |
| 高劑量UV | 0.6±0.0 d | 0.4±0.2 bc | 0.3±0.0 d | 0.88±0.0 bcd | 1.2±0.0 c | 0.90±0.0 a |
| 饑餓 | 0.6±0.1 d | 0.2±0.0 cd | 0.3±0.0 d | 0.85±0.0 b | 1.1±0.0 d | 0.82±0.0 bcd |
| 高溫 | 1.2±0.1 b | 0.6±0.0 ab | 0.5±0.0 c | 0.90±0.0 cd | 1.2±0.0 c | 0.69±0.0 e |
| Ampicillin (+) | 0.5±0.0 d | 0.1±0.0 d | 0.2±0.0 de | 0.14±0.0 f | 0.7±0.0 f | 0.29±0.0 f |
| 菌液 (-) | 1.0±0.1 c | 0.5±0.1 b | 0.4±0.0 c | 0.80±0.0 e | 0.8±0.0 e | 0.76±0.0 de |

^x: OD600

^y: means ± standard error (n=4) within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

蠶蛹作為肉雞飼糧試驗結果，添加 1% 蠶蛹粉可提升肉雞增長期體增重 4.6% (表二)，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 (表三)。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 (表四)；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 (表五)。

表二、蠶蛹飼糧對肉雞生長性能之影響

Table 2. Effects of pupae meal supplemented in diet on growth performance of broilers.

| 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.

表三、蠶蛹飼糧對35天肉雞血液生化分析之影響

Table 3. Effects of pupae meal supplementation on serum parameter of 35d-old broilers

| Items | Feeding mode | | | | P value |
|-----------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| | CK | 0.5% PM | 1.0% PM | 1.5% PM | |
| -----mg/dL----- | | | | | |
| GLU | 203.3±0.3 ^z | 203.2±0.3 | 203.3±0.2 | 203.3±0.3 | 0.98 |
| BUN | 1.9±0.2 | 1.8±0.2 | 1.9±0.3 | 1.8±0.2 | 0.99 |
| UA | 2.4±0.0 | 2.50.0 | 2.5±0.1 | 2.5±0.0 | 0.27 |
| -----U/L----- | | | | | |
| SGOT | 317.0±3.2 | 315.4±3.2 | 311.8±3.3 | 318.5±3.2 | 0.28 |
| SGPT | 6.4±0.4 | 6.5±0.3 | 6.7±0.4 | 6.8±0.4 | 0.21 |
| -----g/dL----- | | | | | |
| T-P | 3.6±0.3 | 3.6±0.3 | 3.5±0.2 | 3.2±0.2 | 0.17 |
| ALB | 1.6±0.0 | 1.70.1 | 1.6±0.0 | 1.60.0 | 0.93 |
| GLO | 1.9±0.2 | 1.9±0.1 | 1.9±0.1 | 1.9±0.2 | 0.33 |
| -----mg/dL----- | | | | | |
| CHOL | 145.6±1.2 | 147.8±1.1 | 143.0±1.0 | 146.0±1.2 | 0.97 |
| TG | 33.0±3.5 | 33.7±3.6 | 39.3±3.6 | 40.2±3.5 | 0.61 |
| HDL-C | 72.0±2.4 | 73.6±2.2 | 75.4±2.3 | 75.0±2.4 | 0.91 |
| LDL-C | 69.6±1.2 | 65.9±1.2 | 65.7±1.1 | 65.7±1.2 | 0.74 |

^z : means ± standard error (n=6)

GLU: glucose; BUN: urea nitrogen; CREA: creatinine; UA uric acid; SGOT glutamic oxaloacetic transaminase; SGPT: serum glutamic-pyruvate transaminase; TP: total protein; ALB: albumin; GLO: globulin; Alk-P: alkaline phosphate; CHO: cholesterol; TG: triglyceride; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; PM: pupae meal

表四、蠶蛹飼糧對肉雞腸道菌落之影響

Table 4. Effects of pupae meal supplemented in diet on microbial parameter in intestinal content of broilers.

| Microbial parameter, log cfu/g | Treatment | | | |
|-----------------------------------|------------------------|-----------|-----------|------------|
| | Control | 0.5% PM | 1.0% PM | 1.5% PM |
| Lactobacillus | | | | |
| 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

表五、蠶蛹飼糧對35天肉雞腸道型態之影響

Table 5. Effects of pupae meal supplemented in diet on intestinal morphology of 35 d-old broilers

| Item | Treatments | | | |
|---------------------|---------------------------|---------------|---------------|---------------|
| | control | 0.5% PM | 1.0% PM | 1.5% PM |
| Jejunum | | | | |
| villus hight (μ m) | 1112.9±9.6 a ^z | 1112.3±9.7 a | 1117.7±9.6 a | 1112.0±9.5 a |
| crept depth (μ m) | 214.8±3.2 a | 173.5±3.3 b | 180.1±3.3 b | 185.8±3.3 b |
| Villi:crypt ratio | 5.6±0.1 a | 6.3±0.1 a | 6.2±0.0 a | 6.2±0.1 a |
| Ileum | | | | |
| villus hight (μ m) | 1147.4±10.1 a | 1191.2±10.0 a | 1183.8±10.0 a | 1176.0±10.1 a |
| crept depth (μ m) | 206.2±3.93.9 a | 215.0±3.9 a | 245.3±3.8 a | 223.6±3.9 a |
| Villi:crypt ratio | 5.4±0.1 b | 6.2±0.0 a | 6.2±0.1 a | 6.0±0.1 ab |

^z: means ± standard error (n=4) within each row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

PM: pupae meal

結論與展望

本研究以蠶蛹作為飼料添加物是蠶桑產業開創的多元產物再利用，以饑餓及紫外

線處理蠶蛹可自發產生天然的抗菌胜肽，有效改善家禽體內菌叢生態，減少腸道壞菌滋生，提高經濟動物腸道吸收能力及促進健康。

過去養蠶事業主要為繅絲製綢，蠶蛹僅能算是蠶桑產業副產物。以蠶蛹作為機能性動物飼料添加物，目的是為了提高蠶的利用價值與動物健康。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」。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。

引用文獻

- 王偉、何國慶、金英哲、陳啓和、劉彩琴。2006。蠶蛹蛋白的綜合利用現狀和開發前景展望。食品與發酵工業32：112~115。
- 李波、郭強、楊利、譙仕彥。2010。飼糧中添加天蠶素抗菌肽對肉雞生長性能的影響。中國家禽32：55~56。
- 李春明、任麗平、辛虹雲。2017。天蠶素抗菌?對肉雞生產性能的研究。畜牧獸醫科學2：6。
- 范濤、代君君、周業奉、魏國清、范后文、肖玲珍、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。
- 單達聰、季海峰、魏元彬、賈民雨、優懷東、聶忠磊、王會堂。2012。飲水飼餵天蠶素抗菌肽對肉雞生產性能的影響。飼料研究6：59~60。
- 張丘、魏榮榮、邢智華。2013。抗菌肽用作飼料添加劑代替抗生素的優勢和效果。養殖與飼料營養11：34~37。
- 施自倫、李朝品、劉群虹。2009。蠶蛹蛋白的現代研究概況。安徽農業科學 37：3051~3052。
- 蕭文鳳。2014。飼料用昆蟲。嘉義大學農業推廣簡訊06:10~14。
- Dutta, A., S. Dutta, and S. Kumari. 2012. Growth of poultry chicks fed on formulated feed containing silkworm pupae meal as protein supplement and commercial diet. Online J.

Animal and Feed Research 2:303~307.

- Karthick, R. P., S. Aanand, S. J. Stephen and P. Padmavathy. 2019. Silkworm pupae meal as alternative source of protein in fish feed. *J. Entomology and Zoology Studies* 7:78~85.
- Khatun, R., S. A. Azmal, M. S. K. Sarker, M. A. Rashid, M. A. Hussain and M. Y. Miah. 2005. Effect of silkworm pupae on the growth and egg production performance of Rhode Island Red (RIR) pure line. *International J. of Poultry Sci.* 4:718~720.
- 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.
- Rafiullah, S. Khan, R. U. Khan and Q. Ullah. 2020. Does the gradual replacement of spent silkworm (*Bombyx mori*) pupae affect the performance, blood metabolites and gut functions in White Leghorn laying hens? *Res. in Veterinary Sci.* 132:574~577.
- Sheikh, I. U., M. T. Banday, I. A. Baba, S. Adil, S. S. Nissa, B. Zaffer and K. H. Bulbul. 2018. Utilization of silkworm pupae meal as an alternative source of protein in the diet of livestock and poultry: a review. *J. Entomology and Zoology Studies* 6:1010~1016.
- Tomotake, H., M. Katagiri and M. Yamato. 2010. Silkworm pupae (*Bombyx mori*) are new sources of high quality protein and lipid. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 56:446~448.
- 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.*

Research on the Development of Silkworm Pupae as Animal Functional Feed Additives

Liao, Chiu-Hsun^{1*} and Wu, Tzu-Hsien¹

Abstract

To revitalize the domestic sericulture industry, we progressed on silkworm pupae to produce antibacterial peptides in various ways, and was to investigate the effects of dietary supplementation of pupa on growth performance and morphology of intestinal villi in broilers. The results showed that medium and high strength of UV and starvation treatments could induce silkworm pupae to produce antibacterial substances and effectively inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*. The results of dietary pupae powder (PM) supplementation showed that feeds with PM had better body weight gain in broilers relative to the control group. The flora contents of the 0.5% PM group had significantly higher lactic acid bacteria counts and significantly lower *E. coli* populations. The effect of dietary supplemented PM on the intestinal villi of Ross308 broiler showed that the 0.5% and 1.0% PM groups had significantly better villus height and gland than the control group. In summary, the addition of silkworm pupa powder to broiler diets can improve the intestinal flora and morphology and have the potential to promote growth.

Keywords: silkworm pupae, antibacterial peptide, functional additive, animals

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