財團法人中正農業科技社會公益基金會
110 年農業科技研究計畫成果研討會議程

一、研討會時間：中華民國 110 年 10 月 28 日(星期四)

二、研討會地點：國立中興大學生物產業機電工程大樓一樓演講廳

三、議程：

09:30~10:00　報　　到

10:00~10:30　開幕典禮：朱建偉董事長、詹富智院長

10:30~12:00　專題報告

13:00~17:30　成果報告

時 間	題　　目	演 講 人
第一節	**專題報告**	主持人： 李健全顧問
10:30~11:00	植物工廠養液栽培技術的發展及應用	邱相文副研究員 行政院農業委員會農業試驗所
11:00~11:30	植物工廠的經營與產品銷售模式	蘇招德總經理 樂佳光電股份有限公司
11:30~12:00	植物工廠未來的發展趨勢及展望	蔡致榮副所長 行政院農業委員會農業試驗所
12:00~13:30	**午　　餐**	
第二節	**成果報告**	主持人： 黃裕益教授
13:30~14:00	巴西蘑菇功效之科學驗證	楊啟裕組長 財團法人農業科技研究院動物科技研究所
14:00~14:30	有機農業物聯網發展產銷計畫	洪巍晉助理研究員 行政院農業委員會桃園區農業改良場
14:30~15:00	應用 SOR 模式探討休閒農業區遊戲化影響研究	劉瓊如教授 國立嘉義大學行銷與觀光管理學系
15:00~15:30	**茶　　會**	
第三節	**成果報告**	主持人：謝廣文主任
15:30~16:00	玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素對豬卵母細胞體外成熟暨隨後發育之影響	林育安副教授 國立宜蘭大學生物技術與動物科學系
16:00~16:30	富含抗菌脂肽之枯草芽孢桿菌發酵產物對白肉雞腸道菌相、免疫調節、生長性能及預防產氣莢膜梭菌之影響	游玉祥副教授 國立宜蘭大學生物技術與動物科學系
16:30~17:00	小葉蕨藻加值利用之製程開發	李孟洲副教授 國立臺灣海洋大學水產養殖學系
綜合討論 17:00~17:30	主持人：朱建偉董事長、劉易昇執行長、李健全顧問、黃裕益教授、謝廣文主任	

植物工廠養液栽培技術的發展及應用

農業試驗所

邱相文

1

植物工廠發展背景

- 異常極端氣候現象的發生
- 傳統農耕對環境的過度負荷
- 糧食危機與糧食安全問題
- 農工技術的整合運用
- 發展時機的成熟

發展背景—人口增加

5

6

目　錄

專題報告

植物工廠養液栽培技術的發展及應用	邱相文	1
植物工廠的經營與產品銷售模式	蘇招德	15
受控環境農業發展的趨勢及展望	蔡致榮	24

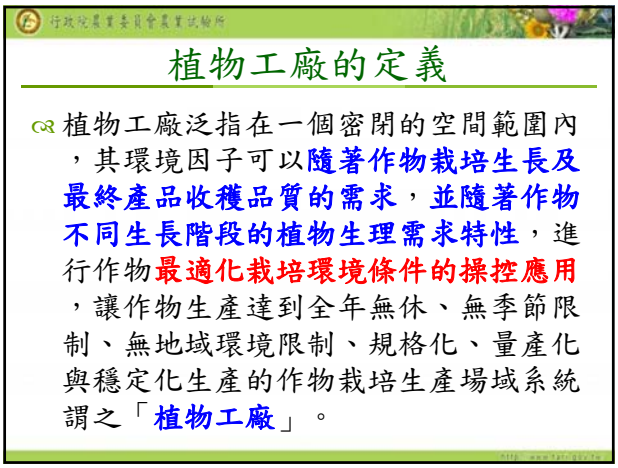
成果報告

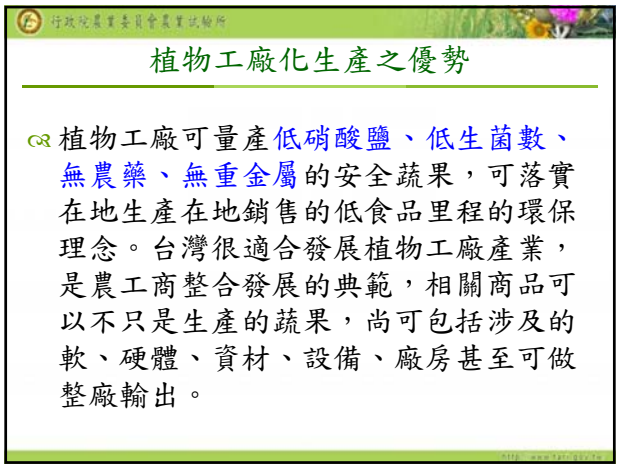
巴西蘑菇功效之科學驗證	楊啟裕	50
有機農業物聯網發展產銷計畫	洪巍晉	63
應用 SOR 模式探討休閒農業區遊戲化影響研究	劉瓊如	77
玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素對豬卵母細胞體外成熟暨隨後發育之影響	林育安	96
富含抗菌脂肽之枯草芽孢桿菌發酵產物對白肉雞腸道菌相、免疫調節、生長性能及預防產氣莢膜梭菌之影響	游玉祥	122
小葉蕨藻加值利用之製程開發	李孟洲	127

台灣糧食自給率
%
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
43.4
40.2
37.1
34.8
30.5
32
1990
1993
1997
2001
2005
2009
年
7

你吃的蔬菜健康、安全嗎?
何謂安全健康的蔬菜?
1. 無農藥殘留
2. 無重金屬汙染
3. 低生菌數
4. 低硝酸鹽
5. 高營養價值
8

屏蔽(保護)型農業發展過程
露天栽培
簡易網室
塑膠布溫室
精密環控溫室
植物工廠


植物工廠的定義
植物工廠泛指在一個密閉的空間範圍內，其環境因子可以隨著作物栽培生長及最終產品收穫品質的需求，並隨著作物不同生長階段的植物生理需求特性，進行作物最適化栽培環境條件的操控應用，讓作物生產達到全年無休、無季節限制、無地域環境限制、規格化、量產化與穩定化生產的作物栽培生產場域系統謂之「植物工廠」。

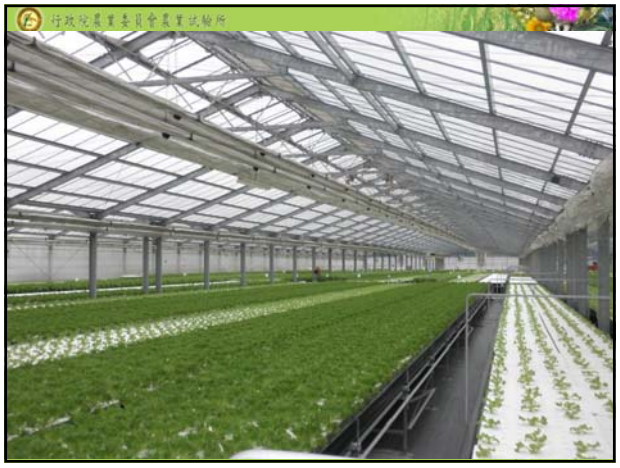

植物工廠化生產之優勢
植物工廠可量產低硝酸鹽、低生菌數、無農藥、無重金屬的安全蔬果，可落實在地生產在地銷售的低食品里程的環保理念。台灣很適合發展植物工廠產業，是農工商整合發展的典範，相關商品可以不只是生產的蔬果，尚可包括涉及的軟、硬體、資材、設備、廠房甚至可做整廠輸出。

植物工廠是將高經濟作物栽種在與外部隔離的潔淨空間，在可控制環境裡以養液(人工介質)生產，取代傳統露地或設施的栽培模式，並試著找出最佳生長環境進行超高產能生產，配合生產預測，使植物可一年四季進計畫性、規格化及異地性作物的工廠化生產。

植物工廠的生產特色

- 穩定生產與穩定供應
- 高單位面積產能
- 高速生產
- 廢污排放極少
- 可節約用水與土地空間
- **產品安全性高無食安疑慮**
- 無季節性及地域限制

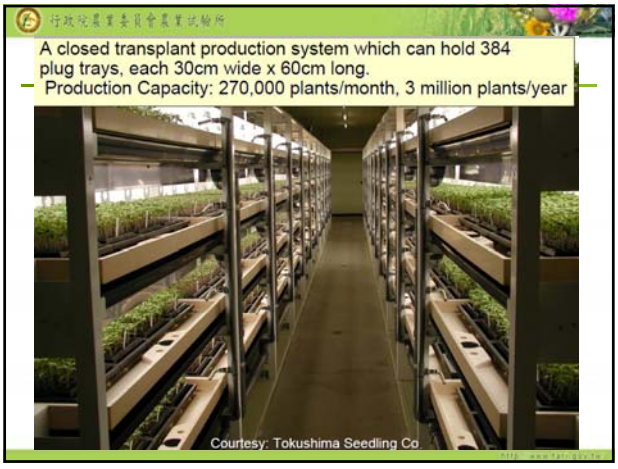
14



立體化完全人工光源型植物工廠

Packaging Room in a plant factory where handicapped persons can work under barrier-free environments.

Photo taken by T. Maruo at Cosmo Plant Inc., Iwamizawa city, Japan



日本植物工廠的主要作物

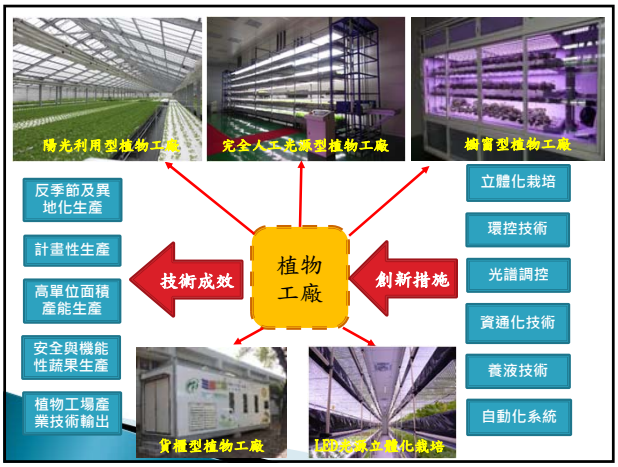
- 現在，**以葉菜、小型果菜為主**，特別是
  - 沙拉菜類 (baby leaf 等)
  - 葉萵苣、半結球萵苣類
  - 大葉紫蘇等紫蘇類
  - 羅勒、薄荷等香草類
  - 水菜、荷蘭芹(parsley)、菠菜、青蔥、芝麻菜(rucola)
  - 小蕪菁、小蘿蔔及山葵等小型根菜類
  - 草莓、單果串番茄等果菜類

- 後續考慮種植
  - 大黃、日本當藥(Swertia japonica)、藥用小型鐵皮石斛(dendrobium officinale)、高麗人參(ginseng panax)、當歸、甘草、金絲桃草(hypericum perforatum或名貫葉連翹)等**藥用植物**
  - 番紅花(saffron)及丹桂(Osmanthus fragrans var. aurantiacus)不僅為藥用植物，也可以做為**食品添加物、香料、化妝品等原料**

Nice Green植物工廠 / 庭茂農技

- 台北植物工廠展示中心(60坪)：四層

桃園觀音廠-量產型植物工廠(1000坪)：七層



植物工廠之技術範疇

- 智慧化環境控制
- 人工光源
- 立體化栽培
- 養液循環及養分品質調控
- 自動化作業
- AI與大數據分析管理

養液技術介紹

養液(nutrient solution)又可稱營養液、栽培液或培養液，是將植物生長發育過程中所需的元素中溶入水中，取代傳統固態肥料，溶於水中的營養元素以離子的型態予植物吸收。

碳	氫	氧	氮	磷	鉀	鈣	鎂	硫
C	H	O	N	P	K	Ca	Mg	S

巨量元素

鐵	硼	錳	鋅	銅	鉬	氯
Fe	B	Mn	Zn	Cu	Mo	Cl

微量元素

32

養液發展歷史

- 此技術最早是用來研究植物對各種無機養分的需求，但後來美軍在二次世界大戰時為了要解決清潔蔬菜生產不易的問題，利用礫耕的方式，開始大規模的發展養液栽培，並逐漸進入商業化的栽培。
- 而隨著科學技術的不斷發展，逐漸發展出溫室的介質栽培、溫室的水耕養液栽培，乃至於目前的植物工廠養液栽培。

33

植物工廠養液栽培應用

- 於植物工廠內進行養液栽培，**不僅可隔絕外界的病蟲害，更可有效防止土壤連作病害及土壤鹽分積累造成的生理障礙，並建立充分提供作物對碳物質營養、水分、氣體等環境條件的需要**，此外，栽培用的基本材料又可以循環利用，因此具有省水、省肥、省工、高產優質等特點。

綜整目前植物工廠及溫室設施所適用之水耕養液配方

配方 / 元素 (ppm)	Hoagland and Arnon[1]	Cooper[2]	Modified Steiner[3]	Resh[4]	日本園試場[5]
N	210	200	170	185	224
P	31	60	50	50	41
K	234	300	320	210	312
Ca	160	170	183	200	160
Mg	48	50	48	50	48
Fe	5	12	3	5	3
Mn	0.5	2	1	0.5	0.5
Zn	0.05	0.1	0.2	0.15	0.05
Cu	0.02	0.1	0.1	0.15	0.02
B	0.5	1.5	1	0.3	0.5
Mo	0.01	0.2	0.1	0.05	0.01

35

養液配方的選擇

- 養液配方的選擇，首先考慮的是作物種類，作物間的收穫部位不同，因此在葉菜、食用花和果菜在選擇配上也不同，其次是同一作物在不同生長階段的養份需求也不同。

養液配方的選擇

- 葉菜可能從定植到採收都用同一個配方，使用遞增的方式調整濃度，逐漸提高EC值，從0.5 ms/cm開始，中期維1.0 ms/cm，最後為2.0 ms/cm，可分為三段；也可以初期1.0 ms/cm，後期2.0 ms/cm，分為兩段，若是苗期就直接以2.0 ms/cm的養液濃度栽培，這會對作物的根造成傷害，所以栽培出期建議使用較低濃度的養液，等生長至一定大小，在增加濃度，具體如何調整和分段，則需考量栽培者的設備和實際現況。

37

- 果菜以胡瓜(小黃瓜)為例，採收部位以果實為主，養液需要有較高比例的磷和鉀肥，才能使胡瓜能有較多的產量和開花，和前面葉萵苣的例子相同，根據植物的大小和生長階段，在只使用1種養液配方的情況下，去漸進式調整養液濃度，逐漸提高EC值。
- 於苗期過小的階段時，就使用高EC值的養液栽培，會導致根部生只受到抑制，作物生長發育不佳。

38

- 養液配方可以根據作物的需求和實際栽培情形去調整，果菜類栽培可以在已經開始開花結果後，以同一個配方去調高磷、鉀和鈣肥的比例，並降低氮肥的比例。

39

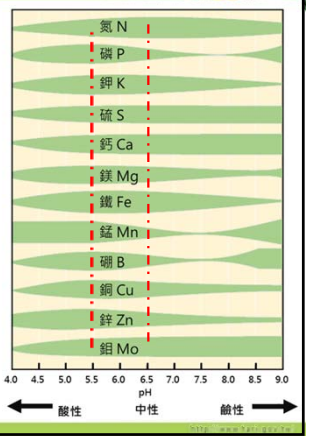
養液栽培的管理

- 栽培過程中pH和EC值需定期監控及調整，一般都是使用利用手提式pH計和電導度計來測定數值，在購置儀器後，需要進行校正，儀器才能夠開始使用，栽培過程中，儀器需要定期校正，以1個月1次為佳，儀器在使用完最好使用RO水清洗，並使用拭鏡紙加以擦拭晾乾後，並放置回原處。

40

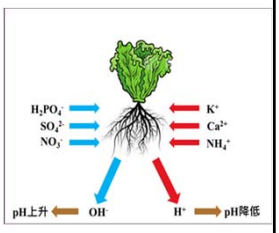
養液pH值的管理應用

- 營養元素會隨著pH的改變，而對於作物有不同的有效性(右圖)。pH降至5.5 以下時，氮、鈣、硫和鉬等之吸收及有效性不良。pH上升至6.5以上時磷、鐵、錳、硼和鋅等之吸收及有效性不良。



41

- pH每周量測一次，再將pH調整至5.5～6.5之間為佳，在農業試驗所植物工廠的皆是調整至6.0±1。養液pH會上升或是下降，是因為離子的吸收導致H^+或OH^-從根部釋放所造成的，根在吸收K^+、Ca^{2+}和NH_4^+等陽離子時，為了保持電荷的平衡，在吸收的同時也會從根部釋出H^+；而在吸收$H_2PO_4^-$、SO_4^{2-}和NO_3^-等陽離子時，釋出OH^-。



根部吸收離子時的陰陽離子交換原則

42

pH值對肥料利用效率(%)的影響

土壤酸度	pH	氮	磷	鉀
極端酸	4.5	30	23	33
強酸	5.0	53	34	52
酸	5.5	77	46	77
弱酸	6.0	89	52	100
中	7.0	100	100	100

資料來源：國立中興大學 土壤環境科學系吳正宗講義

養液EC值的管理

- EC值，即電導度，養液之濃度與電導度成正比，因此電導度可反映植株吸收的狀況。養液濃度之變化若超過配方量之20%，即進行調整，原始EC值為2.0，栽培過程中下降至1.6時，則加入新的養液和水補充即可。
- 皺葉萵苣的育苗期為14天，定植後的栽培時間為28天，故從播種到採收共42天。定植的栽培槽之水體共100 L，今以Hoagland 1X 進行作物栽培，水源為自來水，EC值為0.3 ms/cm，養液調配完成後的最終EC值為2.3 ms/cm(2.0+0.3)。

44

農試所的栽培經驗是種植一輪的皺葉萵苣，從定植開始的第0天開始，EC值在每周的測量時會逐漸下降，pH逐漸上升(如右表)，而到了採收期時，EC才會剛好降至為初始的8成，具體的計算並不是2.3x0.8=1.84，而是2.0x0.8+0.3=1.9，要先以配方上的EC值為主來計算，最後才加上水源的EC，而後面EC的調整計算時，也是依據此原則。

農業試驗所植物工廠皺葉萵苣栽培之EC和pH記錄

定植後天數	EC(ms/cm)	pH值
第0天	2.30	6.02
第7天	2..28	6.05
第14天	2.20	6.11
第21天	2.15	6.19
第28天	1.90	6.28

45

- 當栽培進行一段時間後，養液的EC，在經過28天的栽培後，從初始的2.3降至1.9 ms/cm，此時採收第一批皺葉萵苣後，新的皺葉萵苣苗株緊接著要定植上去，進行第二輪的栽培。此時有2個選擇:①將舊的養液排出，更換新的養液，②加水至養液槽至初始水量100 L後，測量EC，並計算需加入的濃縮液體積。
- 收穫一輪就換一次新的養液，不僅容易造成藥品的浪費，更是造成環境的汙染，所以添加新的養液進舊有的養液便成為了我們的選擇。

46

EC值迷思

- 電導度(Electrical Conductivity, EC)的量測值是量測溶液中離子的導電能力。
- 一般認為，EC值是一種重要指標，可用以代表水質，泥土或其他介質的相關性質。
- EC值僅能代表溶液在一定體積內溶液內離子的導電能力，但是無法告知是那些離子。
- 由EC值也無法得知溶液中含氮、磷、鉀…的濃度。
- EC可以用來管理與控制營養液的環境

碳酸鈉和硝酸鈣混合溶液的導電度

Na_2CO_3的體積(mL)	$Ca(NO_3)_2$的體積(mL)	混合溶液導電度
100	0	0.165
90	10	0.165
80	20	0.166
70	30	0.168
60	40	0.171
50	50	0.178
40	60	0.179
30	70	0.183
20	80	0.186
10	90	0.190
0	100	0.195

植物工廠養液調配

49

養液配方－巨量元素

	元素	分子式	需求元素	ppm	1000公升	50公升	10公升
A液	硫酸鎂	MgSO4 x 7H2O	Mg	48	492g	24.6g	4.92g
			S	64			
	磷酸一鉀	KH2PO4	P	19	83.35g	4.168g	0.834g
			K	23.9			
	磷酸一銨	NH4H2PO3	N(NH4)	5.4	44.52g	2.226g	0.445g
			P	11.96			
B液	硝酸鉀	KNO3	N(NO3)	75	543.96g	27.198g	5.44g
			K	210			
	硝酸銨	NH4NO3	N(NO3)	8.6	49.14g	2.457g	0.491g
			N(NH4)	8.6			
	硝酸鈣	Ca(NO3)2x4H2O	Ca	160	944.6g	47.23g	9.446g
			N(NO3)	112			

50

養液配方－微量元素

元素	分子式	需求元素	ppm	1000公升	50公升	10公升
EDTA鐵	EDTA	Fe	5	37.59g	1.879g	0.376g

元素	分子式	需求元素	ppm	溶於1L的水（濃縮10000倍）
硼酸	H3BO3	B	0.5	28.182g
硫酸錳	MnSO4x4H2O	Mn	0.5	10.229g
硫酸鋅	ZnSO4x7H2O	Zn	0.05	2.208g
硫酸銅	CuSO4	Cu	0.02	0.368g
鉬酸銨	(NH4)6Mo7O24x 4H2O	Mo	0.01	0.42g

51

各元素最後取得ppm

	養液調配各元素ppm												
元素	N	N(NO3)	N(NH4)	P	K	Ca	Fe	Mg	B	Mn	Zn	Cu	Mo
ppm	210	196	14	31	235	160	5	48	0.5	0.5	0.05	0.02	0.01

52

養液配製步驟1

- 估計所需的總養液量，並秤取所需的大量元素，先完全溶於適量的水中，不可有沉澱物。其中硫酸鎂、磷酸一鉀、磷酸一銨可溶解於同一桶為A液；硝酸鉀、硝酸銨、硝酸鈣溶解於同一桶為B液。
- 若總養液量為1000L，依照配方所表示的比例，則需要硫酸鎂492 g、磷酸一鉀83.35 g、磷酸一銨44.36 g、硝酸鉀543.96 g、硝酸銨49.14 g、硝酸鈣994.6 g。

53

54

養液配製方法

- 使用硫酸、磷酸或硝酸將pH值調整至5.8到6.0之間。

- 最後於養液貯存桶中加入螯合鐵EDTA，充分混合後即完成養液配置。

55

- 水中含有過多之氯離子及鈉離子而降低了肥效，當用水之酸檢度超過7.5以上時，在調配養液過程會發生沉澱現象。
- 在用水之酸鹼度超過7.5 時，宜以每1000公升用水量置入20 毫生之95% 濃硫酸為準，將用水之酸鹼度下降至7.0 以下。
- 總之，用於調配養液之用水其電導度需在0.5 mS/cm以下及酸鹼度在5.5-7.5 間。

- 每個禮拜定時檢測pH及EC值

  過酸調鹼使用NaOH;過鹼調酸使用H_3PO_4

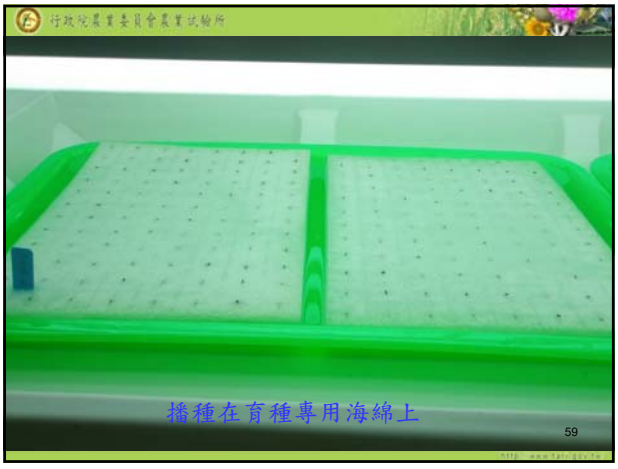
  EC值過低需補充養液；過高加水使其降低
- 養液桶需定期檢視養液量，低於80%以下需補充新養液至原量
- EDTA-Fe每個禮拜定時補充2~3ppm

57

植物工廠育苗之養液管理方法

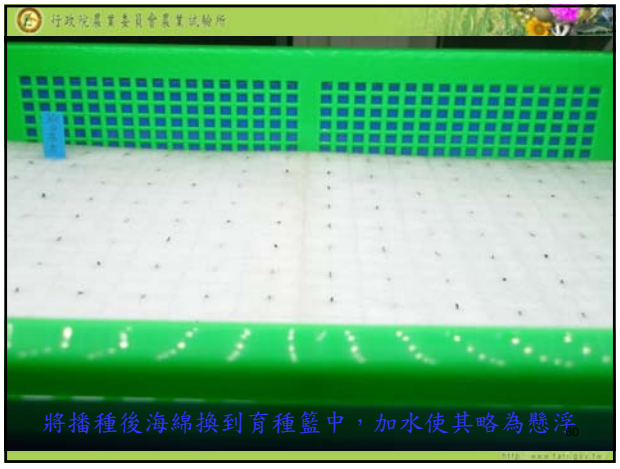
- 一開始育苗播種時，僅需添加水使其漂浮即可。
- 等第一片子葉長出來後，即可將水換掉，改添加養液提供養分繼續生長。
- 養液須定時補充，避免養分不足影響苗的生長。
- 待根到達一定長度後，即可定植到植物工廠。
- 依據育苗需求不同，可配置不同養液做育苗用途，一般同種植時養液即可。

58



播種在育種專用海綿上

59



將播種後海綿換到育種籃中，加水使其略為懸浮

子葉生長出來後，即可將育種一開始添加的水換成養液

61

在生長過程中須定時補充養液，
生長到適合大小後，即可定植

62

將育種完成的苗移到定植用保麗龍板上，定植到植物工廠內

63

植物工廠水耕栽培養液之循環系統

- 為植物工廠相當重要之一環
- 養液須定時循環，避免其濃度藉由蒸散及植物吸收造成改變，影響後續生長
- 養液可能會經由不同植物生長根的分泌物質造成pH值、EC值改變，故監控系統也非常重要
- 由於不同植物生長代謝物都不同，故為了避免累積過多不利生長之代謝物，通常半年需將養液全部換新

64

- 由於「智慧農業」的發展，植物工廠已結合跨領域之資通訊技術 (ICTs)、物聯網 (IoTs)、大數據 (Big Data) 分析及人工智慧(AI)等前瞻技術導入，智慧化養液監控系統的應用在植物工廠栽培操作及營運管理更顯出其重要性。因此，自動化或智慧化之養液栽培設備監控系統至少應能控制以下大部分或全部項目的參數：

65

農業試驗所植物工廠養液循環系統介紹

66

養液輸送方向
回水槽抽出
67

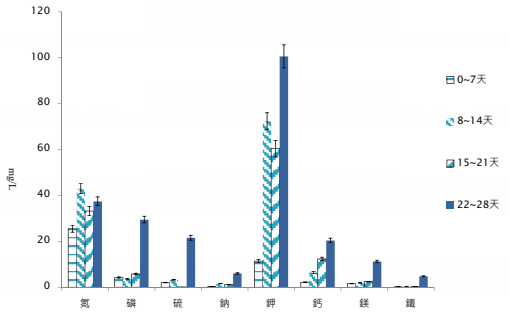
EC值監測與紀錄
pH值監測與紀錄
68

養液pH值與EC值自動化調整系統
69

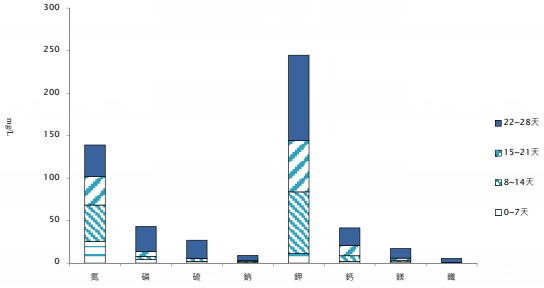
植物工場不同植栽系統進行養液栽培試驗

植物工場內不同架構之養液栽培系統

Hoagland養液皺葉萵苣生長各階段元素離子消耗



Hoagland養液皺葉萵苣生長總元素消耗量

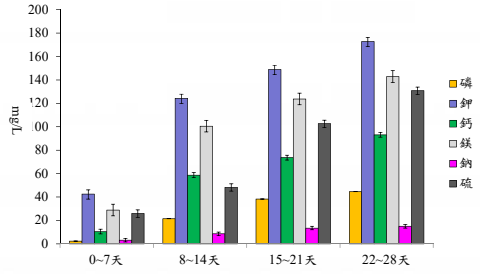


Hoagland養液萵苣植株性狀測定

定植天數	上部鮮重	下部鮮重	上部乾重	下部乾重
第0天	0.264	1.11	0.032	0.281
第7天	3.243	1.518	0.212	0.296
第14天	23.711	5.115	0.826	0.444
第21天	61.635	10.045	2.114	0.672
第28天	105.666	11.337	4.354	0.942

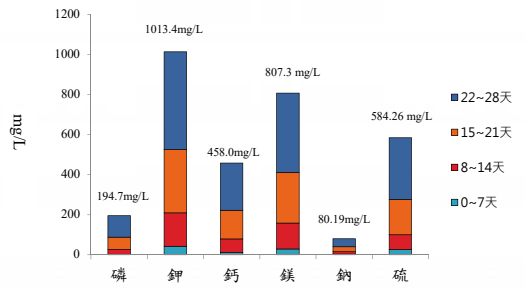
皺葉萵苣生長外觀

Hoagland養液茼蒿生長各階段元素離子消耗情形

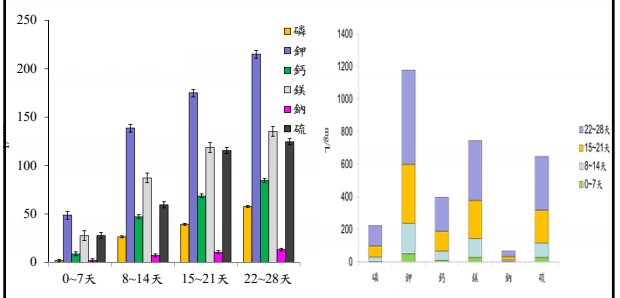


完成養液消耗模式之試驗，精準數位化作物養液成份利用模式，建立養液專家系統資料庫。

Hoagland養液茼蒿生長總元素消耗量

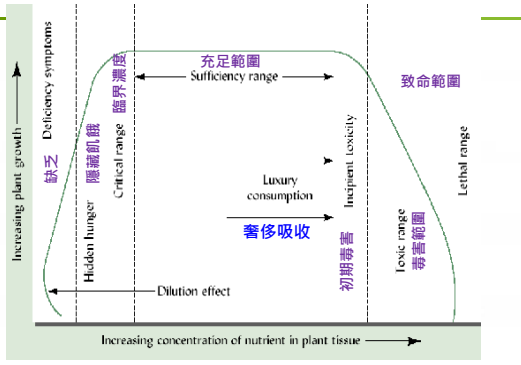


山崎養液筒蒿生長各階段與總元素消耗量消耗



- Hoagland養液在初期(0~7天)消耗**磷**濃度較山崎養液高，之後到試驗結束皆是山崎養液吸收大於Hoagland養液。
- **鉀**則是在28天試驗中皆是山崎養液中消耗量215.2mg/L大於Hoagland養液172.7mg/L中之消耗量，然而在總吸收量上二者吸收量都高，**為好鉀作物。**
- **鈣、鎂、鈉**等元素之消耗量則是Hoagland養液中消耗量大於山崎養液中消耗量。
- **硫**則是在初期(0~7天)在山崎養液中消耗量較高，在中後期(8~28天)之間皆是HoagLand養液中消耗較多。

植體分析



筒蒿植物工廠化反季節生產情形

筒蒿生長外觀

Hoagland養液

山崎養液

財團法人中正農業科技社會公益基金會
110年農業科技研究計畫成果研討會
專題報告

植物工廠的經營與產品銷售模式

樂佳光能(股)公司總經理
蘇招德

植物工廠的經營

以台灣導入商業量產型植物工廠目前還是以葉菜類(萵苣)為主體生產,其經營的方針大略為三大項:

1.設備的生產效率及產能提升(降低生產成本)。

2.新作物的開發(多樣性及價值)。

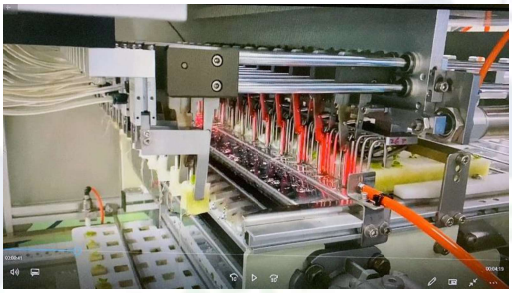
3.作物的後加工產品(增加壽命期與附加價值)。

植物工廠的經營

＊設備的生產效率及產能提升

自動化相關設備的投入

自動撥種機



自動移植機

＊自動採收機
＊自動包裝機
＊自動栽培板清洗機...等

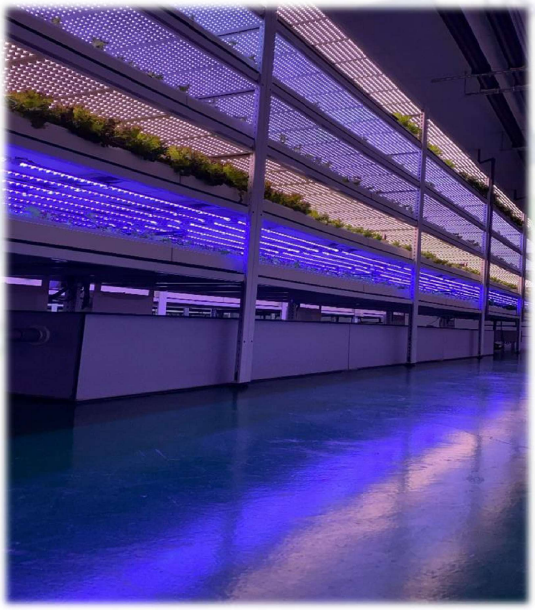
＊影像判別系統
＊數據導入AI

植物工廠的經營

＊設備的生產效率及產能提升

植物燈應用提升

*不同的光週期及光譜



植物工廠的經營

＊設備的生產效率及產能提升

環控應用提升

溫控參數設定

*作物不是恆溫條件最佳

植物工廠的經營

＊新作物的開發

（食用花）

（浮萍）

（人蔘）

（黃花蜜菜）

（山葵）

（草莓）

（茶樹）

植物工廠的經營

＊作物的後加工產品

一般植物工廠常見到萵苣的栽培生產，由於操作生鮮總受限於作物的保存及運輸條件，故開始發展出加工商品，例如冷凍乾燥萵苣粉. 羽衣甘藍粉或添加酵素、乳酸菌及蔬果飲品瓶裝、蔬菜饅頭等產品。

冷凍乾燥蔬菜粉

植物工廠的經營

＊作物的後加工產品

植物工廠的經營

＊作物的後加工產品

植物工廠栽培食用花除了新鮮裝盒銷售外,也可開發出相關延展商品,如食用花釀蜜、食用花冰棒、乾燥食用花等等商品。

植物工廠的經營

*植物工廠的營運成本分析

分析植物工廠成本可分為以下大類:
廠房,如租賃使用將租金及建置設備費用納入攤體(攤體最長可分為5-8年)。
電費,依據每月電費單計算(空調約佔20%,光源約佔50-60%,其他20%)。
水費。
雜項(種子、營養液、包材、CO2)。
人事費用。

依據以上大項作出成本分析表,須加上產能。

植物工廠的經營

*植物工廠的營運成本分析

項目	重量(KG)	備註
規劃月產出	1300	每單位之規劃理想產出重量(平均每株 60g計)
耗損(一)	0	
耗損(二)	-65	
實際月產出	1235	
新廠I實際月產出	1235	以5單位栽培區月產能23000株計

項目	細項	費用(NT)	備註
電費	植物燈		5單位植物工廠&1區育苗
	冷氣與冷藏庫		植物工廠冷氣&冷藏庫
	馬達	120,000	養液循環馬達
消耗品	養液	1,875	
	二氧化碳	2,700	每瓶660，每月4瓶，每單位每週消耗1瓶
	海綿	3,000	
	種子	6,000	
廠房租金	按比例租金	76,000	廠房總面積520坪，平均租金7.8萬(前2年7萬後3年8萬)
人力	植物工廠	60,000	配置2人，平均薪資3萬
	包裝室(含品管)	22,000	配置1人(含約聘工讀)，平均薪資2萬
	設備攤提	95,238	800萬分84期攤提
	廠房攤提	0	
	包材	11,500	
	運費		
每月營運支出(一)	含攤提	398,313	
每月營運支出(二)	不含攤提	303,075	
每公斤成本(一)	含攤提	323	每公斤**含折舊攤提**之蔬菜成本
每公斤成本(二)	不含攤提	245	每公斤**不含折舊攤提**之蔬菜成本
平均單價		350	
收支平衡出貨量-月		1138	92%
收支平衡出貨量-週		285	
產能滿載總營業額		$432,250	僅以生產萬苣估算

輔助說明:
如含攤提每月盈餘33,937元(此為每公斤1000克350元售價)
如每公斤500元售價則含攤體每月盈餘為219,187故售價是盈餘的一大關鍵。

產品銷售模式

植物工廠相關產品的銷售模式與市場推展

台灣植物工廠產業大多面臨銷售問題,畢竟作物成本及售價都無法與市場上的一般蔬菜或有機蔬菜相比,加上栽培與行銷又是不同領域,相對任何的行銷都是需要時間與經費的。

目前台灣植物工廠銷售的模式與市場推展有以下幾種方式:

一.B-B市場

1. 大通路商合作上架,如好市多(Costco),傑生超市(Jasons),家樂福等等。
2. 中大型飯店、餐廳。
3. 代理經銷商。

好市多(Costco)

傑生超市(Jasons)

產品銷售模式

植物工廠相關產品的銷售模式與市場推展

二. B-C市場

1. 百貨公司或自營(門市)
2. 網路平台(電商)

自營門市

網路電商平台

產品銷售模式

植物工廠相關產品的銷售模式與市場推展

三. 參展

目前國內有許多展覽平台可以進行相關植物工廠所生產的農產品及其所衍生產品的展示及銷售平台，其中以中華民國對外貿易發展協會每年在台北南港展覽館所舉辦的「台北國際食品展覽會」為最大的食品產業界的展覽盛會，每年均吸引大量的國內外企業業者與一般消費大眾前往參觀，如圖所示透過參加國內重要展覽會之行銷方式。

國內相關農產品及食品展

產品銷售模式

植物工廠相關產品市場推展

整體產品行銷策略以公司核心技術所開發的全方位產品切入植物工廠產業上、下游市場，由完整的應用產品建立專業的經銷通路並與客戶建立高度信任。拓展行銷策略佈局如下：

表 1 週期與策略

	導入期	成長期	成熟期
行銷目標	國內市場開發及佈局	國外市場開發佈局	提高產能目標
產品	建立核心技術與殺手產品	挑戰市場需求	創新應用
價格	跟隨市場價格	產品差異創造超額利潤	價格制訂者
通路	1.B-B 通路 2.經銷機制建立 3.B-C 品牌建立	品牌門市拓展及網購平台建立	連鎖品牌價值深植消費者
策略	各種展覽	善用媒體與網路	消費者病毒式傳播宣傳

產品銷售模式

植物工廠相關產品市場推展

一般在行銷與推廣上，大多都是介紹植物工廠作物的優點及特色，如何提高產品附加價值-核心差異於以下表示。

特色	優勢	經營管理的益處
無農藥、重金屬殘留	嚴選優質食材	深植消費者心中高品質賣場形象
低硝酸鹽、低生菌數、高營養價值	安心食用身體無負擔	提高消費意願增加營業收入
	較長的蔬菜保鮮期	降低蔬菜損耗
安全潔淨環境生產	無蟲卵及菜蟲，不需清洗可直接食用	減少備餐時間,降低人力成本
定質、定量、定價	品質穩定(萵苣類每株50~70克)	蔬菜數量容易掌控,減少不良品損耗
	全年供貨量正常,不受氣候、季節影響	減少採購作業時間， 降低供應商管理成本
	可每週出貨2~3次	降低庫存，減少冷藏設備成本支出
可依需求計畫性生產	配合新餐點研發需求生產蔬菜	不需擔心供應商貨源問題
蔬菜脆嫩水份飽滿	搭配烤肉不搶味,提升口感	食材搭配性佳,增加點餐量

Thank you for your attention

Q & A

受控環境農業發展的趨勢及展望

行政院農委會農業試驗所　蔡致榮

摘要

室內無土栽培農場沒有唯一的定義，這名詞可涵蓋不同的技術，包括水耕栽培、氣霧耕（使用霧而不是採用水的另類水耕栽培法）和魚菜共生（水產養殖和水耕栽培法的組合，在與植物共生的系統中養殖水生生物）。可以在溫室中進行種植，主要是利用陽光，但通常仍須輔以人工光源，或在垂直層架的系統中使用生長光照系統。這些農場可以在城市或農村地區，規模各異，面臨著不同的挑戰和商業模式。由於地域性，類似室內無土栽培農場的操作在亞洲通常跟隨日本稱為人工光植物工廠(Plant Factories with Artificial Lighting, PFAL，因植物工廠緣起於日本)，在歐洲則常見使用城市農場(city farm)、城市農業(urban agriculture)與垂直農場(vertical farm)，而在北美除稱作垂直農場外，更常見使用室內農業(indoor agriculture)，總括來說，可被整合統稱為受控環境農業(Controlled Environment Agriculture, CEA)。

受控環境農業是一個新興的利基產業，旨在減少傳統農業的許多環境影響。從規模上講，這種耕作方法可以減輕土地、生物多樣性、棲息保育和氣候的壓力。受控環境農業亦面臨著重大的障礙，尤其是在能源和勞動力方面，但在當地食品、安全食品和供應鏈彈性方面也提供獨特的機會。這是一個年輕的產業，將不斷改進技術、降低成本並開闢新的可能性。

目前，在溫室或垂直農場中種植的萵苣仍比傳統栽種萵苣更為昂貴，儘管在過去十年中，前者的成本已大幅降低。CEA 的成本主要來自於勞動力和能源的使用，對於某些關鍵指標，CEA 農耕有很大的環境足跡。傳統農業對氣候變遷的影響要低於 CEA，這主要是因為其較低的電足跡與清潔的電力來源。

受控環境農業正吸引人們的注意力和資金，其發展迅速，但它仍然是一個新興、分散的產業，在實現規模之前必須解決一些風險。有許多開發中的創新可能會影響產業分析，包括光照、光纖、人工智慧和機器學習、基因編輯、再生能源、同地協作(colocation)和熱電聯產(co-generation)、廢棄物和回收利用、垂直農場最有希望的機會與最危險的威脅、經濟模式、降低成本、贏得成功途徑、智能植物工廠採用先進技術，以及室內植物環境加熱、通風、空調與除濕等方面的進展。儘管其中一些創新或許無法實現，但許多創新可能會顯著改變成本和環境足跡，進而大幅增加 CEA 產業中長期的生存能力。例如，水耕農場可以透過從太陽能或風能等再生能源獲得電力，而實現比傳統農業更低的環境影響。

該產業令人興奮和吸引資金還有其他關鍵原因，消費者對於食物的來源越來越重視，全年都需要新鮮、當地生產和有機的農產品。公司對保護供應鏈感興趣，否則由於天氣多變性和氣候變遷的影響，供應鏈可能會面臨風險。而且，食品安

全越來越受到關注。個別嚴格控制農場確保食品安全的能力可能是該產業的關鍵區別。

經濟可行性、準則、法規以及缺乏專業知識仍然是實施垂直農場的障礙，需要更多的研發以擴大計畫規模，以便以最佳速度提供經濟與商業可行性以及投資回報（return on investment, ROI）。一個垂直農場可行的商業計畫必須依靠對植物生長過程的充分了解，以及對行銷前景的現實分析。因此，需要進行研究以準確評估各種類型與規模垂直農場的投資回報，也有必要調查全生命週期分析及達到與傳統農場平價的年數。

消費者和企業對 CEA 食品的興趣與日俱增，滿足需求的技術正快速發展。但是，除了技術問題、創新和市場變化之外，也必須考慮可能影響這些系統功效的一系列其他可能性。如果氣候變遷比預期更快地影響生產、再生能源成為常態、社區重視當地的糧食生產、消除糧食荒漠和創造就業機會，或如果新的業務模式支持不同於當前生產系統所強調的價值觀，則 CEA 當地生產的系統可能會變得更具吸引力。

受控環境農業已在世界紮根。尤其在當今仍處於適應“新常態”的世界中投資者可能會於再承諾投入更多資金之前尋求回收自己的綠金。

中正農業科技社會公益基金會
110年農業科技研究計畫成果研討會

受控環境農業發展的趨勢及展望

行政院農委會農業試驗所
蔡致榮副所長
jrtsay@tari.gov.tw
110年10月28日

行政院農業委員會農業試驗所

內容大綱

- 前言
- 發展背景
- 受控環境農業產業概觀
- 台灣PFAL研究（詳全文）
- 趨勢-資源管理、環境足跡、生命週期分析、受控環境農業的未來
- 展望-垂直農場最有希望的機會與最危險的威脅、經濟模式與加速策略、降低垂直農場成本的訣竅、室內農業成功的途徑、智能植物工廠將採用的先進技術（詳全文）、室內植物環境的HVACD
- 結語

前言

- 室內無土栽培農場沒有唯一定義，可涵蓋不同技術
  - 水耕栽培
  - 氣霧耕（使用霧而不是採用水的另類水耕栽培法）
  - 魚菜共生（水產養殖和水耕栽培法的組合，在與植物共生的系統中養殖水生生物）。
- 可以在溫室中進行種植，主要是利用陽光，但通常仍須輔以人工光源，或在垂直層架的系統中使用生長光照系統。
- 這些農場可以在城市或農村地區，規模各異，面臨著不同的挑戰和商業模式。

行政院農業委員會農業試驗所

受控環境農業

- 一個新興的利基產業，旨在減少傳統農業的許多環境影響。
- 從規模上講，這種耕作方法可以減輕土地、生物多樣性、棲息保育和氣候的壓力。
- 受控環境農業亦面臨著重大的障礙，尤其是在能源和勞動力方面，但在當地食品、安全食品和供應鏈彈性方面也提供獨特的機會。
- 這個年輕的產業，將不斷改進技術、降低成本並開闢新的可能性。

發展背景-植物工廠的優勢
（Stanghellini et al., 2019）

- 一年中每天都可恆定、高質量地生產農產品
- 無農藥使用，非常高的土地、水與養分利用效率（封閉系統）
- 可在任何地方設置，因為無需太陽光與[合適]土壤
- 讓物流鏈縮短成為可能：新鮮與更廣泛品種選擇（因為櫥架壽命與耐運輸變得不那麼相關）
- 由於品質均勻、無泥土、高收穫指數，可減少食物廢棄，且食物里程較短

但是植物工廠的投資比裝備精良的高科技溫室高4至10倍(Rabobank, 2018)，並且需要電力以提供光照

行政院農業委員會農業試驗所

適合植物工廠商業生產作物的必要條件
（Stanghellini et al., 2019）

- 經濟價值高，例如種苗與藥用植物和/或由於種植系統而達到的較高市場價值（無農藥、新鮮度、清潔、口味等）
- 體積小：株高矮（30公分或以下），株型緊密
- 不需要昆蟲授粉
- 收穫指數高
- 在相對低的光強度下生長良好

受控環境農業實況

- 事實上，植物工廠中大都種植藥用植物、葉菜類與芽菜類(microgreens)，垂直農場也成功生產種苗（萵苣與番茄）、觀賞植物與草莓
- 全球垂直農耕計畫專案的總數量估計介於200與300間，總種植面積大概不超過30公頃，但溫室的種植面積為50萬公頃，而田間種植面積約為5,000萬公頃(Rabobank, 2018)

行政院農業委員會農業試驗所

受控環境農業產業概觀 (1/8)

- 受控環境農業產業正吸引注意力和資金因而迅速發展，其中水耕栽培將近五成（49%）、魚菜共生（15%）、氣霧耕（6%）和混合系統（6%）(Agrilyst, 2017)，儘管是在封閉系統中控制環境，但仍有近四分之一（24%）採用土耕。
- 農場正朝各個方向發展，當所有人嘗試發明自己的方法時，擴展最佳實踐將面臨競爭挑戰。
- 能源是該產業面臨最大的障礙之一，約占垂直農場營運成本的25%（但溫室農場僅占8%）(Agrilyst, 2017)。

受控環境農業產業概觀 (2/8)

- 隨著LED植物燈的興起，垂直農耕才變得流行和可行
- 植物工廠在光照打開時需進行降溫。此外，也需進行相對濕度的管理
- 在每種室內園藝類別中，LED燈可將單位面積的電耗降低24%至30% (HortiBiz, 2020)，但是，仍然不夠精進。能源成本仍然是CEA農場（尤其是垂直農場）的主要障礙
- 若無創新或合作夥伴關係，在CEA系統中種植的農產品價格比採傳統方法種植的產品更高，雖然運輸費用占比相對較低

行政院農業委員會農業試驗所

受控環境農業產業概觀 (3/8)

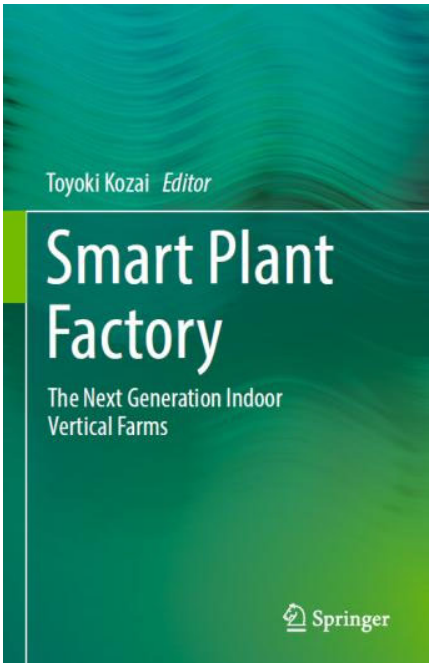
- 垂直農耕的成長速度甚至超過水耕栽培的總和，預計在2018-2024年期間，年複合增長率將超過24%，到2024年全球收入達到30億美元(IBISWorld Industry Report, 2017)。
- AgFunder估計，自2017年以來，僅垂直農場的投資就近6億美元 (Tasgal, 2019)。
- 這個產業正令人興奮和吸引資金的原因很多，消費者對他們食物的敏銳度日益增強，追求新鮮、當地和有機產品，且全年的飲食習慣幾乎沒有改變。企業對保護可能因氣候變遷而面臨風險的供應鏈感興趣，而且食品安全正成為人們日益關注的議題。

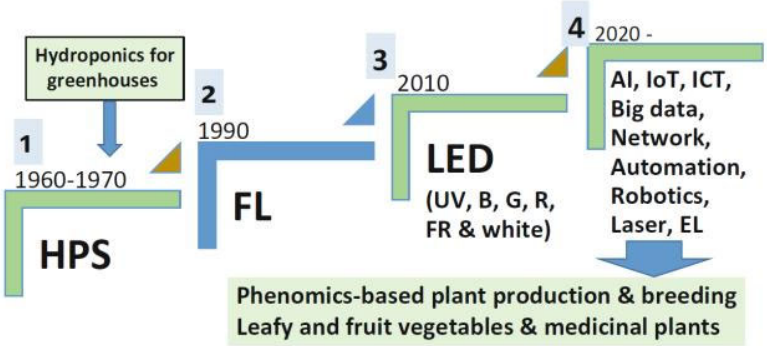
受控環境農業產業概觀 (4/8)

- 一生推動植物工廠的日本Kozai (2018) 教授在其「智能植物工廠 (Smart Plant Factory- The Next Generation Indoor Vertical Farms)」一書中，闡述並促進更進一步的智能人工光植物工廠 (smart Plant Factory with Artificial Lighting, smart PFAL)，表示其係智能或擁有認知計算功能的PFAL，具有無需人工指導即可做出幾乎所有決定並解決幾乎所有問題的能力。
- 智能PFAL必須（1）根據經驗調適其行為（學習）；（2）不能完全依賴於人的指示（自己學習）；以及（3）能夠應對意外事件。

行政院農業委員會農業試驗所

受控環境農業產業概觀 (5/8)-智能人工光植物工廠





PFAL的前三波分別使用HPS高壓鈉燈、FL螢光燈與LED發光二極管燈(UV紫外光、B藍光、G綠光、R紅光、FR遠紅外光與白光)。第四波研發與業務在2020年左右開始，主要使用AI人工智慧、IoT物聯網、ICT資訊、大數據、網絡通信技術、自動化、機器人技術與雷射光，並朝向基於物候學(植物性狀量測方法及其應用)的植物生產與育種。

受控環境農業產業概觀 (6/8)

行政院農業委員會農業試驗所

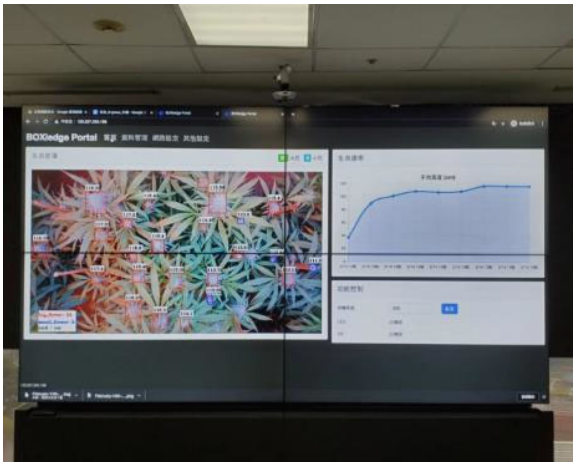
受控環境農業產業概觀 (7/8)

- 在丹麥首都哥本哈根14層垂直農場是台灣YesHealth集團(源鮮智慧農場)與丹麥農業科技新創公司Nordic Harvest合作的結果，採用台灣的專利技術藍圖建造。占地7,000平方公尺，擁有超過2萬個具有強力電池的智能LED燈，據稱是歐洲最大，效率最高的垂直農場之一。
- 最特別的部分是該設施將完全依靠風力發電(100%認證)，從而實現極低的碳足跡。
- 此新垂直農場定於2021年開始，到年底預計將增加至每天約3,000公斤的葉菜類，相當於每年約1,000噸的葉菜類，足以滿足該國對葉菜類的需求。

受控環境農業產業概觀 (8/8) -

台灣Agromeans公司將LED與AI相結合以提高能源效率

- 透過專有芯片組，該公司已修改所有LED產品，以利用奈秒頻閃 (nano-strobing) 技術。透過以奈秒間隔進行頻閃，LED能夠以小部分能量展現相同的性能，因而節省多達50%的能源。
- 該公司的Hyperion AI利用從最先進的深度與紅外線鏡頭測得的指標，由其內部開發的AI EDGE處理這些數據。然後將這些指標計算為植物生長的精確預測。
- Angromeans的核心技術稱為SAVE，代表太陽模擬(Solar simulation)、AI控制(AI control)、視覺分析(Visual analysis)和高效的LED (Efficient LEDs)。這些核心原則結合在一起，共同創造最終的光照解決方案。



行政院農業委員會農業試驗所

台灣PFAL研究

- PFAL所生產蔬菜的成本比較
- PFAL安裝LED的定量評估
- PFAL中的WSN
- 用於營養檢測的離子選擇性感測器 (ion-selective sensors)
- 非破壞性植物生長量測系統
- 可調光譜和強度的LED燈管
- UV和FR用於植物化學 (phytochemical) 生產和形態發生 (morphogenesis)的研究
- 晚期腎病患者低鉀萵苣生產

趨勢-資源管理-植物工廠與溫室中萵苣生產的資源利用效率 (Graamans et al, 2018)

- 就（整體）能源效率而言，植物工廠（0.71 g dry weight MJ^{-1}）甚至比效率最高的溫室（瑞典具輔助光照；0.59 g dry weight MJ^{-1}）還要好。
- 植物工廠生產乾物重1公斤的萵苣需要投入247 kWhe（“ e”表示電力），相較之下，在荷蘭、阿拉伯聯合大公國及瑞典具有與不具有輔助光照溫室中分別為70、111、182與211 kWhe。
- 植物工廠在所有其他資源（水、二氧化碳及土地）上都實現更高的生產力。

行政院農業委員會農業試驗所

趨勢-資源管理-營運成本

- 據荷蘭Rabobank (2018) 估計，垂直農場的營運成本是荷蘭高科技溫室的2.5至5倍。
- 總體（包括資本成本）而言，在考慮較高的生產力下，估計每單位垂直農場農產品的成本約為高效溫室的2倍。
- 因此，若要讓一家植物工廠獲利，可能就必須有很大的市場收益，或其他[稀缺]資源（土地、水）的價值必須抵消光照所需的電費。

趨勢-資源管理-環境足跡 (1/2)-
電力消耗如何永續

- 植物工廠總共使用0.125 kWh以產生1 mol PAR，固定5 g二氧化碳。如果電力是透過二氧化碳排放強度低於40 g kWh^{-1}的過程產生的，則植物工廠的零碳足跡電力使用是可能的
- 在28個歐盟國家 (European Environmental Agency, 2017) 中，2014年只有瑞典（10.5 g kWh^{-1}）與法國（34.8 g kWh^{-1}）處於此CO_2排放強度範圍內，這要歸功於核電廠發電的大比例（法國占78%，瑞典占43%）
- 歐盟（包括法國與瑞典在內的28個國家）2014年平均發電碳足跡為276 g kWh^{-1}
- 只有再生能源（或核能）占至少95%的電力組合才能支持植物工廠永續性的主張

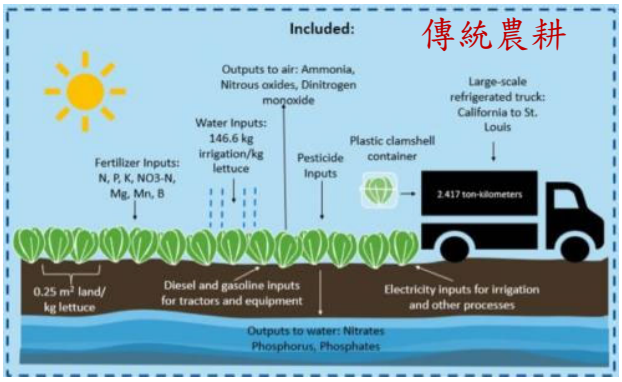
趨勢-資源管理-環境足跡 (2/2)-
碳足跡

- Nicholson et al. (2020) 研究透過田間農業與CEA（例如溫室和垂直農場）供應鏈將萵苣帶入美國城市的經濟和環境影響，結果表明，與田間種植和運輸3,000英哩相比，在紐約市的溫室中種植的碳足跡幾乎相同，垂直農場的碳足跡大約是其中任何一個的2倍
- Amidi-Abraham (2021) 計算垂直農耕和傳統農耕的碳足跡，指出美國市場消費的傳統農耕萵苣運往市場每磅產品的二氧化碳排放量為0.31磅，與垂直農耕貨櫃系統每磅萵苣的二氧化碳排放量8.19磅相比，顯得微不足道

趨勢-生命週期分析 (1/2)-

不同的食品生產受控環境系統 (WMF–US, 2020)

- 世界野生動物基金會對不同的食品生產受控環境系統進行生命週期分析以生產1公斤的蘿蔓萵苣，並將其包裝且運輸到聖路易斯的1家雜貨店為基準，比較傳統農業和4種類型的室內農業系統對環境的影響
- 傳統萵苣對環境的總體影響最小，聖路易斯種植並在當地分銷的溫室水耕栽培萵苣對環境的影響次之

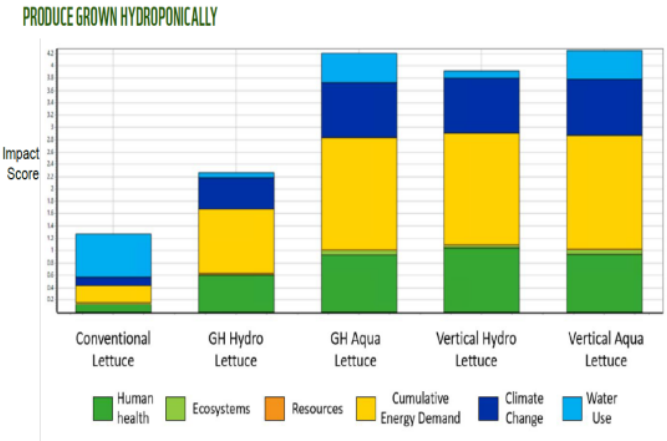


- 如果能夠直接提供太陽能供農場作能源，或透過補貼付費獲得太陽能，那麼與傳統種植的萵苣相比，水耕系統將是對環境更具永續性的選擇

行政院農業委員會農業試驗所

不同的萵苣生產方式的生命週期分析結果

- 傳統農業與氣候變遷相關的影響最小，這主要是由於其在加州的電力足跡較低和電力較清潔組合
- 溫室水耕栽培農耕在土地利用和水資源利用方面分數最低，其次是垂直水耕栽培農耕
- 在其他影響方面，與傳統農業相比，4個受控環境農業系統對人類健康和生態系統的影響都較大
- 此兩個魚菜共生系統顯示比其他3個系統更高的環境影響。除了電以外，影響魚菜共生環境的主要因素是飼料



- 在用電來自光電太陽能模式中，溫室和垂直水耕系統總體上比傳統農業對環境的影響要小，對人類和生態系統健康的影響則要低得多

趨勢-生命週期分析 (2/2)

- 英國班戈大學(Bangor University)領導探討關於當地及海外種植食物對社會與環境效益(食物里程)的研究，包括農耕、運輸、貯存與烹飪整個作物生產鏈的嚴格生命週期評估(HortiBiz, 2014)
- 該大學環境、自然資源與地理學院團隊與薩里大學(Surrey University)合作研究得出的結論指出，農業投入比單獨的運輸考量更重要，運輸距離與作物商業化生命週期的整體環境影響間並沒有直接的關係

行政院農業委員會農業試驗所

趨勢-受控環境農業的未來

- 光照
- 光纖技術
- 人工智慧和機器學習
- 植物育種和基因編輯或基改種子
- 再生能源
- 同地協作、熱電聯產和共生 (symbiotic)系統
- 地下農耕
- 廢棄物和回收

光照

- 高功率LED的發展催生受控環境農業的成長，並使封閉場所的垂直農耕成為可能
- 可以進行相當簡單的修改以改善和降低電費
  - 可以安裝反射器以增加光的比例並改善光的品質 (Molin and Martin, 2018)
  - 目前LED燈本身28%的效率可能會繼續提高。據估計室內種植需要提高到50%-60%的效率(飛利浦的荷蘭光照工程師已生產出效率為68%的LED)，才能使多種作物具有成本效益 (Al-Kodmany, 2018)
- 荷蘭集團PlantLab最近發明新的光照技術可提供光合作用所需的確切波長，因此不會浪費植物不使用光譜的能源
- 芬蘭Netled公司已開發新水冷式LED燈，可與熱回收系統結合並自動化以使種植環境保持最佳狀態
- 在電價每小時變化的國家，可使用演算法使條件適應當前經濟狀況，從而節省能源成本 (Hughes, 2018)

行政院農業委員會農業試驗所

光纖技術

- 光纖應用範圍很廣，例如成像、光照和感測，在室內農耕中將其用於白天光照（導引室外自然光至室內）的探索還很有限，但可以透過使用主動式或被動式太陽能收集器以實現
  - 該太陽能收集器與由聚合物或二氧化矽製成的光纖耦合，以將自然光透射到建築物內部或地下深處，該技術甚至已被用於將陽光導到地下40公尺 (Asiabanpour et al., 2018) 。
  - 使用人造光的混合光照系統（Hybrid Lighting System, HLS）以支持白天光照，並透過控制調光產生一致的光照量。
- 當與LED結合使用時，該技術仍然太昂貴，不能單獨產生足夠的光以商業化種植植物，但它仍開發中，並可能最終挑戰或替代電子植物生長燈 (Moon, 2019)。
- 像這樣的技術也將使其成為可能在洞穴中種植食物的潛力節能選項。

人工智慧和機器學習

- 人工智慧和機器學習也正在農場中以各種組合使用，優化種植條件並提高效率
- 日本垂直農耕的一些農場正將客制化設計的LED與AI結合。他們正與電信公司NTT West合作，使用AI程式分析生產數據並提高產量而不增加能源消耗。
  - 儘管這些系統目前非常昂貴且未經驗證，但日本研究所預計，這些技術將在5年內降低生產成本，足以與室外農場競爭 (Takada, 2018)。
- 日本正繼續投資於可能改變價值曲線的技術，並受激勵生產更多自己的食物。

行政院農業委員會農業試驗所

植物育種和基因編輯或基改種子

- 目前幾乎所有的育種家都是針對戶外生長的作物進行優化，但是一些公司現在開始選育可以在CEA系統中生長的品種，甚至可在LED燈下茁壯成長 (WMF–US, 2020)。
- 育種目標為成熟度均一和早生、快速的生質量生成和連續多次採收能力、光誘導的品質性狀（即，使用LED改變顏色或味道），以及自動化收穫的植物結構（即，有利於自動化收穫）。所有這些都有助於降低能源成本或提高產量以抵消能源成本與使用。
- 美國糧食與農業研究基金會（FFAR）在2019年發起精準室內植物（Precision Indoor Plants, PIP）公私合作夥伴關係，以生產用於室內種植的種子，並針對風味和營養進行優化。他們將首先關注藍莓、香菜(cilantro)、萵苣、草莓和番茄，並召集利益關係人聯盟。

再生能源 (1/2)

- 植物工廠系統採用再生方式發電的機會顯然具有吸引力
- 通常將光電板放置在屋頂上是一種選擇，針對光電板下的植物生長進行量化分析， 200 μmol m^{-2} s^{-1}光照系統，每天光照18個小時，1年需提供4,730 mol m^{-2}，以每莫爾 0.125 kWh的轉換率，將需要591.5 kWh電。然究竟需要多少個光電板則取決於設立位置。
  - 荷蘭太陽能光電板的預期年輸出為120至150 kWh m^{-2}（Stanghellini et al., 2019），每平方公尺作物需要4至5平方公尺的光電板。
  - 太陽輻射量加倍的地方（例如，西班牙南部）將需要較少（但需多於一半）的太陽能光電板表面
- 到目前為止，使用再生能源非常昂貴，並且可能會導致資源利用效率低下

行政院農業委員會農業試驗所

再生能源 (2/2)

- 在利用微電網維持室內垂直農耕的未來方面，Bowery Farming創建的植物工廠，作物生產效率是傳統農田的100倍，但衍生出對可靠、有效電力的更大需求。
- 該公司決定透過能源作為系統(Energy as a System, EaaS)業務模式整合混合微電網系統，包括屋頂太陽能光電板陣列、天然氣發生器和鋰離子電池儲能，因而節省可用於其他營運投資的前期資金(HortiDaily, 2020)

同地協作、熱電聯產和共生(symbiotic)系統

- 少有農場（如果有的話）可以透過同地協作成功地整合閒置或未充分利用資產，但已有農場開始探索此一空間，其中可能會有很多機會(WMF–US, 2020)
  - Plantagon公司設計一種共生系統，將供熱、沼氣、廢棄物、水和能源等市政基礎設施與食品生產相結合。這僅在紙上作業，但將利用市政功能產生的"廢棄物"創建高效的種植系統。它也可以將植物殘留物送回到系統中，利用厭氧消化(anaerobic digestion)以產生沼氣並減少食物浪費
  - 加拿大魁北克的Great Northern Hydroponics公司目前正使用熱電聯產設備，以降低其供熱成本並減少對化石燃料的依賴，發電量增加，還能將電力賣回安大略省電力局而有收入(Al-Kodmany, 2018)
  - 關於緊鄰過量熱或能量產生者的同地協作也有其他農場實驗或理論建立，重點在於位置，以確保在最佳時間接收到過剩的產能。荷蘭的一處室內農場Agriport A7設置於11公頃的Microsoft伺服器中心附近，該農場接收Microsoft多餘的熱量以加熱溫室

行政院農業委員會農業試驗所

地下農耕

- 許多垂直農場在面對過剩熱問題上，地下農耕可能是有利的，因為深度可以調節外界溫度並提供較為冷涼的的自然大氣 (Russo, 2019) 。
- 地下農場利用地球的熱質量以緩衝溫度。例如，菇蕈類喜歡潮濕、陰涼和黑暗，在地底下可以很少的能量種植並生長良好。
- 由於垂直農場使用100%人工光照，因此黑暗並非障礙，而且由於恆定的氣溫和濕度以及二氧化碳和水的供應，使用隧道、洞穴和礦井 (shafts) 供垂直農耕的能源消耗可能會比地上設施少 (Lloyd, 2018) 。

地下農耕案例

- 在英格蘭位於倫敦街道下方100英呎，“地下種植 (Growing Underground) ”使用第二次世界大戰的防空洞作為地下農場，每月生產兩噸食品。他們正種植異國情調的藥草和芽菜，包括豌豆芽、火箭/芝麻菜、韭菜 (garlic chives) 、酸模 (sorrel) 、泰國羅勒和一些食用花卉。
- 在英國威爾士，農民正探索廢棄煤礦場的使用，並認為室內農耕是重啟這些閒置資產的機會。其正被探索為不僅永續種植糧食，而且是在貧困和失業率高的地區創造收入和就業機會的一種方式 (Russo, 2019)。
- 法國巴黎的Cycloponics公司將其37,700平方英呎的農場設在一個負擔得起住宅大樓下方的廢棄停車場中他們，使用水耕栽培生產芽菜類、菇蕈類和菊苣 (Russo, 2019)

行政院農業委員會農業試驗所

廢棄物和回收 (1/2)

- 雖然受控環境農業的許多創新都圍繞能源和自動化，但也有機會提高環境的永續性，並圍繞廢棄物和回收利用開發新的收益
- 受控環境農場消耗的水僅是傳統農業用水的一小部分，但仍需要定期排出廢水
  - 排水循環利用，利用其豐富的營養物，將水儲存在田間並用於灌溉作物，美國農業部在其“排水改造 (Transforming Drainage) ”計畫中率先採用(USDA, 2020)
  - 飲用水再利用 (potable reuse) ，將水再生至人類可飲用的程度 (Angelakis, 2018)。但這種方法價格昂貴，並需要額外的基礎設施
  - 水研究基金會 (Water Research Foundation) 正探索從廢水中提取營養物（也稱為生物固體biosolids），然後將這些養分再製於肥料或土地應用

廢棄物和回收 (2/2)

- 為了生產淨零碳 (net-zero-carbon)牛奶，印第安納州的Fair Oaks Farm建造最先進的甲烷沼氣消化池 (methane biogas digestor)。除了甲烷、壓縮天然氣和電力外，也從廢棄物流中捕集無水氨 (anhydrous ammonia)、氮、磷和固體，用於自家的田地並出售給附近的農民
- 回收生質量（農場剩餘的有機物）也有潛在的市場，目前可以回收不可食用生質量中70%的營養物用於肥料-將來還會增加 (Lunn et al., 2017)。Fair Oaks農場已從結合消化池中植物廢棄物的糞肥捕集90%-100%的營養物
- 使用這種不可食用生質量還有產生能量的可能性。在其他行業中，已將消化的有機廢棄物用於生產再生甲烷和壓縮天然氣 (Cuello, 2019)。垂直農場有可能為此目的使用其自家的有機廢棄物，從而降低能源成本和環境足跡

行政院農業委員會農業試驗所

展望-垂直農場最有希望的機會與最危險的威脅（1/3）

- Van Asselt (2018) 進行SWOT分析「垂直農場最有希望的機會與最危險的威脅是什麼？」指出垂直農場應利用優勢發掘最有希望的機會，同時減少最危險的威脅
- 最有希望的機會
  - 環境機會-透過進一步增強其創新技術，垂直農場可以成為循環經濟，並且也可以提高能源效率；經濟機會，基於垂直農場所種植作物的高品質與高食品安全性，其可能是利基市場與銷售機會
- 最危險的威脅
  - 技術威脅，奈米技術給予溫室作物就像垂直農場作物的一樣高品質，但安全疑慮需先解決；社經威脅，因為人們可能會認為垂直農場作物是以非自然方式種植，因此不購買，垂直農場就無法獲利；政治威脅，在政府城市發展計畫中如果沒有具體提到垂直農場或限制未來成長，將產生負面影響

展望-經濟模式 (1/2)

- Hughes (2018) 研究垂直農耕種植系統中處於最前沿國家(日本、荷蘭、美國、杜拜與德國)的例子，考慮垂直農耕與受控環境農業系統、可用的不同作物與商業模式、系統涉及的主要成本、技術進步、自動化與機器人技術的影響、利益關係人與投資者，以及英國目前在這個產業的最終位置等面向以吸取經驗，結果建議值得參考：
  - 由於技術、建造與營運成本昂貴，受控環境農業或垂直農場業務模式需要穩健。選擇與商業模式整合的最佳作物種植系統時，可能不是垂直農場，反而可能是傳統的玻璃溫室模式
  - 最大化作物生長與產量的限制因素始終是二氧化碳、光、養分、水與溫度間的交互作用。如果有任何投入未達到植物所需的最佳水平，則將限制其性能，而與其他因素是否有增加無關

展望-經濟模式 (2/2)

- 在溫室園藝中可以輕鬆而經濟地獲得收益，例如良好的作物管理與良好的溫室實踐（保持玻璃清潔可有10%的光穿透增加）。為溫室系統檢視混合模式(其中額外的LED燈與包含CO_2)可以促進產期調節或間作的生產。智能材料與自動化可能是北歐國家在玻璃溫室下解決環境與勞工問題的未來
- CEA種植者應擁有無農藥農產品的概念，因為這是真正與傳統種植作物不同的賣點。
- 理想的做法是對不同CEA系統的所有變動成本進行模式化，並在情況改變（例如LED光照成本降低、電力成本改變或傳統生產方法成本增加）時定期重新考量，這將允許潛力企業可以根據經濟可行性評估何時達到“最佳位置”

展望-加速策略 (Stein, 2021)

- 目前仍缺乏室內農業產業獲利能力、產量和永續性的數據，美國成立室內農業卓越中心（Center Of Excellence for indoor agriculture, COE）以促進協作和知識共享、進行第三方研究，並確認室內農業產業的卓越表現，以加速室內農耕市場的發展
- COE確認加速全球向室內農耕過渡的10個策略：**卓越的認可**(在產業生態圈健康發展上，重要的是將這些人與真正在產業中做得很好的人分開，並激勵做不好的公司繼續改善)、**指標制定**(知識共享係該產業持續發展的必要條件，新興產業的典型特徵是每個人都從專有的角度來解決問題。但是，如果產業要成熟，就需確保擁有可參採的基準。所有參與者都從產業角度分析來看待所面臨的問題，而不是從單一公司的角度)、**現實的投資期望**、**就業創造與自動化**、**溫室與垂直農場模式**、**作物多樣性**、**永續性**、**培訓**、**對垂直農場業務方面的研究**，以及**創新經濟生態系統的開發**

行政院農業委員會農業試驗所

展望-降低垂直農場成本的訣竅

VerticalFarmDaily (2021a 與 2021b)

(1)位置選擇；**(2)最大限度地降低能源成本**：最具成本效益的解決方案可能是創建自己的再生能源；**(3)與專家**(光照、數據到植物學等)**互動**；**(4)平衡營運支出(OpEx)和資本支出(CapEx)成本**；**(5)不要偷工減料**：便宜的選項可能意謂缺乏靈活性，從而扼殺垂直農場的真正潛力；**(6)仔細選擇作物**；**(7)了解受眾**；**(8)謹慎選擇光照**；**(9)精準節省維護成本**；**(10)確保農產品有市場**：需求是全年波動，垂直農場相當多的浪費或部分多餘是兩種不想要的潛在後果；**(11)正確的配方**；**(12)使用智能技術**：種植者不要被數據嚇到，它將幫助並建議最佳做法，以實現最大產量；**(13)最大限度地提高能源效率**；**(14)合作是關鍵**；**(15)主動進取**：傳統農耕規定只有在絕對必要的情況下才給作物澆水，但這種反應性方法意謂到澆水時間點時可能已太晚，因為植物已承受緊迫。而垂直農耕採取積極的心態以及好奇心，並在作物需要之前提供所需。

展望-室內農業成功的途徑(1/2)

- 大型企業進入室內農業領域取得成功的途徑有5種，獲勝者將擁有其中一個或多個領域(HortiDaily, 2021b)：
  - (1) **數據**：了解種植者的工作流程、農場財務、業務數據和生物數據的公司將在爭奪市場具有明顯的優勢。這為人工光照、育種、氣候控制、溫室製造商、貸方等創造機會。
  - (2) **融資**：僅在美國，未來3-5年中，溫室和垂直農場建設的計畫融資缺口估計為200億美元。向農業生產者提供貸款的傳統農業公司將透過為室內農業空間創造金融產品，並與可以幫助降低投資風險的技術生產者合作而獲勝。
  - (3) **可追溯性 (Traceability)**：產品召回和供應鏈盲點傷害價值鏈生態系統中的每個人。大型農業公司已開始在其策略計畫中增加可追溯性。許多人正測試基於區塊鏈的技術，其他人則專注於數位工作流程平台。在大多數情況下，公司還沒有弄清楚如何一直延伸到農民手中，這尤其是室內農業最大的機會所在。

行政院農業委員會農業試驗所

展望-室內農業成功的途徑(2/2)

- 大型企業進入室內農業領域取得成功的途徑有5種，獲勝者將擁有其中一個或多個領域(HortiDaily, 2021b)：
  - (4) **耗材 (Consumables)**：耗材是更多傳統參與者進入室內農業市場的另一個令人興奮的機會。大型溫室種植者經常從其他國家進口產品並大量購買，以試圖降低價格。而且，定價和績效都嚴重缺乏透明度。由於行業發展如此迅速，因此種植者購買產品的依據更多是市場營銷主張，而不是實際表現。
  - (5) **數位工作流程**：Trimble、John Deere、Syngenta 和 Corteva 等公司已開始涉足數位工作流程產品，但目前專為田間工作流程設計的產品均不能涵蓋室內農業的工作流程。在室內農業中，需要將傳統的種植過程和生長生物學與製造業的思維方式結合起來。在室內農業中，生長時間大幅短於田間，因此挑戰與工廠更加一致，需要考慮關於如何連續管理空間、時間和周轉量，這是及時的庫存管理。因此，了解工作流程至關重要，也是採用諸如驅動適當的數據收集 、確保可追溯性並啟用諸如融資或消耗品市場之類模式的原因。

展望-智能植物工廠將採用的先進技術 (Kozai, 2018)

- 植物工廠在育種與高線懸吊栽培番茄生產中的應用
- 分子育種讓人工光植物工廠更有效(高產、低投入與低廢棄物)
- 加值植物的生產
- 對藥草與食品添加劑的化學查詢
- 植物工廠中生物節律的檢測與利用
- 使用RGB圖像自動表徵植物生長與開花動態
- 水耕栽培系統朝向營養液組成的控制
- 基於表型與人工智慧的PFAL環境控制與育種
- 植物群體(Cohort)研究及應用

行政院農業委員會農業試驗所

展望-室內植物環境的HVACD

- 為了強調除濕的重要性，受控環境園藝業將朝向加熱、通風、空調與除濕(Heating, Ventilation, Air Conditioning, and Dehumidification, HVACD)的概念作為共同項目發展(HortiBiz, 2021a)
- 在為植物選擇HVACD系統並確定其規模以使其茁壯生長時，全都與潛在負荷(latent load)、植物蒸散作用和蒸氣壓差(Vapor Pressure Deficit , VPD)有關
- 有效的系統首先需要設計成除濕機，然後再設計為空調系統。整合除濕必須在每次HVAC對話中開始，並且是每個系統的主要關注點
- 穩定的氣候為設施的栽培控制奠定堅實的基礎，可最大限度地提高優質生質量，同時限制與病蟲害和病原體問題相關的作物損失

結語 (1/3)

- 到目前為止，可以在植物工廠中經濟種植的作物是葉菜類，都是低熱量、低蛋白質的種類。對於（未來）特大城市營養不良人群而言，這不足成為一種健康而富營養的飲食。未來數十年，小麥、稻米與馬鈴薯將仍依靠太陽輻射在田間被種植
- 儘管投資與營運成本很高，但垂直農場的各種商業模式還是可行，或有望在不久的將來實現，最明顯的是藥用植物、種苗與育種。為偏遠社區提供高品質新鮮食品似乎也是一個有前途的選項
- 垂直農耕不是解決人類所有問題的答案，對於某些作物和世界上某些地方，露天或溫室農耕是更好的替代。垂直農耕不會取代所有溫室生產，而是相互搭配，隨著垂直農耕降低資本和營運成本，這些替代方案將會越來越多

行政院農業委員會農業試驗所

結語 (2/3)

- 對於最明顯的市場（消費者願意支付高價的當地舉措），植物工廠所需的高價必須是傳統高科技溫室所種植類似產品的2倍才可行
- 對於日本城市地區當地消費葉菜類蔬菜與其他芽菜類的商業化生產，垂直農場正變得越來越重要 (Kozai, 2013)。儘管如此，據估計只有25%的企業獲利 (Kozai et al., 2015)，其餘仍然依靠私募股權基金支持
- 本文「受控環境農業的未來」所述只是一些正面影響並在受控環境農業產業發生的創新。其他技術也正改進，並將降低這些農場的營運成本
- 經濟可行性、準則、法規以及缺乏專業知識仍然是實施垂直農場的障礙，仍然需要更多的研發以擴大計畫規模，以便以最佳速度提供經濟與商業可行性以及投資回報

結語 (3/3)

- 受控環境農業已在世界各地紮根。尤其在當今仍處於適應"新常態"的世界中，由於囤積心態下供應鏈的挑戰，此新興技術，可能會經歷一定程度的加速
- 雖然大筆的資金可能不會像室內垂直農耕公司最近幾年那樣發揮作用，但這更可能是因為有這麼多的新創公司爭奪有限的資金。更不用說至少自2017年以來市場上已輕鬆部署超過10億美元的事實 (Nanalyze, 2020)。投資者可能會於再承諾投入更多資金之前尋求回收自己的綠金。

行政院農業委員會農業試驗所

簡報完畢，敬請指教！

- 永續營運的溫室農耕思維-四種可能改善溫室農耕且符合氣候智慧農業(Climate Smart Agriculture)的技術或例子
  - 重視作物的反應
  - 提高基本資源使用效率
  - 考量封閉式循環
  - 利用太陽或再生能源

巴西蘑菇功效之科學驗證

洪鈺雯、張芳毓、楊啟裕

財團法人農業科技研究院動物科技研究所

摘要

巴西蘑菇(*Agaricus blazei Murill*)的子實體中的 β-(1→6)-D 葡聚多醣體(β-(1→6)-D-glucan)含量高，為菇類之冠。依據文獻指出 β-D-聚葡萄糖可以活化人體巨噬細胞、T 細胞、B 細胞、自然殺手細胞等，藉此加強人體的免疫功能，大幅增加人體對抗疾病侵襲的能力，進一步研究也發現，巴西蘑菇中的多醣體，能增強肝血的流動，可能使肝機能得到恢復，預防變性或壞死、纖維增生，加上透過強化人體的免疫機能，增強人體對抗病毒的能力，或許可以預防台灣極為盛行的肝炎，而巴西蘑菇所含的維他命、礦物質是肝細胞再生的重要營養素，並可促進肝臟代謝，減輕肝臟負擔。因此，本計畫將依循衛福部公告的「健康食品之免疫調節功能評估方法」（衛署食字第 88037803 號），綜合評估巴西蘑菇萃取液濃縮物是否有助於免疫調節能力，並從血清中麩胺酸苯醋酸轉氨基酵素（AST）、丙氨酸轉氨酶（ALT）含量分析及肝臟中組織病理切片判讀結果初步評估巴西蘑菇萃取液濃縮物是否有助於延緩經高脂飼料誘導所引起之脂肪肝或降低其危險因子的功效的可行性。

壹、前言

巴西蘑菇又稱姬松茸、小松菇、巴西洋菇、柏氏蘑菇，為常見的食藥用真菌。原產地於巴西，亦分佈於祕魯、美國加州南部及佛羅里達州海邊，其外觀呈菇柄長且粗、色白，菇傘呈短筒狀、淺褐色。現今前求每年約超過一億人口將巴西蘑菇作為健康食品食用，其形式多半用做養身食材或飲品。在日本進行的研究導致鑑定出某些具有抗腫瘤活性的物質之後，在全世界引起了極大的科學和經濟興趣。巴西蘑菇含有獨特、豐富的高分子多醣體，包括 α-D-葡聚醣、β-D-葡聚醣、β-半乳糖葡聚糖、β-（1-6）-D-葡聚醣蛋白質複合體、木醣葡聚醣等。而β-葡聚醣自然存在於穀物、細菌和真菌的細胞壁中，而β- D-葡萄糖多醣，其理化性質因來源而異。β-葡聚醣形成帶有1-3個β-糖苷鍵的線性骨架，但其分子量、溶解度、黏稠度、分支結構和膠凝特性各不相同，從而在動物中引起多種生理效應，而巴西蘑菇的β-葡聚醣為β-（1→6）（如圖1所示）。高分子多醣體無法進入人體細胞，它會附著於細胞膜上與蛋白質結合成醣蛋白，做為細胞與外界溝通的橋樑，人體免疫細胞也是靠這些結合在細胞表面上的醣蛋白來傳達免疫訊息，巴西蘑菇的多醣體並非直接殺死或抑制腫瘤細胞，而是藉由傳遞「入侵異物或細胞癌化」訊息給免疫細胞的受體，提高免疫細胞的警覺性、反應力與靈敏度，以活化免疫抑制入侵異物或癌化細胞。

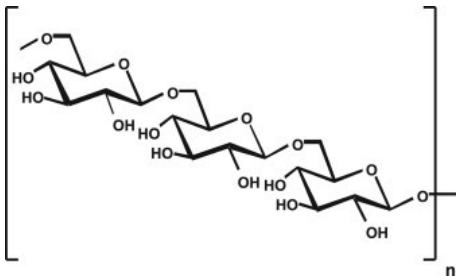


圖1、巴西蘑菇中分離得到的β-（1→6）葡聚醣結構。（Gonzaga et al. 2013）

貳、材料與方法

一、藥品與試劑

10×HBSS(Sigma-Aldrich，Cat. No. H4641)、RPMI 1640 Medium(Gibco™，Cat. No.31800022)、Freund's Adjuvant, Complete（Sigma-Aldrich，Cat. No. F5881）、Freund's Adjuvant, Incomplete（Sigma-Aldrich，Cat. No. F5506）、Ovalbumin（Sigma-Aldrich，Cat. No. A5503）、DMEM（Gibco™，Cat. No.12-100-046)、DPBS(Sigma-Aldrich，Cat. No. D8537)、ConA(Sigma-Aldrich，Cat. No. C2010）、LPS（Sigma-Aldrich，Cat. No. L2880）、Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide（Sigma-Aldrich，Cat. No. M2128）、Mice Total IgG ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-50400-22）、Mice Total IgA ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-50450-88）、Mice Total IgM ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-50470-88）、Mice Total IgE ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-50460-88）、Mice TNF-α ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-7324-88）、Mice IFN-γ ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-7314-88）、Mice IL-6 ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-7064-22）、Mice IL-10 ELISA Assay kit（Invitrogen™，Cat. No.88-7105-88)、注射用水（信東生技股份有限公司）、0.9% normal saline（信東生技股份有限公司）、Isoflurane（寶齡富錦生技股份有限公司）。

二、巴西蘑菇萃取、濃縮與檢測

本研究使用台灣南投埔里鎮栽種的巴西蘑菇（由新台灣植物新藥股份有限公司提供），以現代化農場經營管理，再將收成後的巴西蘑菇進行乾燥，提供優良製造標準（Good Manufacturing Practice，GMP）的食品加工廠以水分別進行三批次萃取，經調配、充填、鎖蓋、排爐、殺菌及貼標後，製造成每瓶60 mL的巴西蘑菇液，儲放於25±2℃/60±5% RH條件下，設定取樣點為第0、1、2、3、6、9、12 個月進行長期安定性試驗，抽樣分析每瓶裝的巴西蘑菇液的β-glucan含量為0.517~0.624%，符合在0.44~0.66%允收規格內，pH 值為5.38~5.43及包含總生菌數、大腸桿菌、大腸桿菌群、沙門氏桿菌、金黃色葡萄球菌、黴菌、酵母菌檢測結果皆呈現陰性。將上述的巴西蘑菇液經濃縮及凍乾成為巴西蘑菇萃取液濃縮物後，冷藏保存供後續試驗使用。

三、實驗動物

免疫調節功效試驗使用BALB/c品系雌性小鼠，購自國家實驗動物中心（台北，台灣），飼養於獨立空調與12小時自動明暗控制之GLP動物試驗室（動物科技研究所，財團法人農業科技研究院，苗栗，台灣），動物房溫度控制於18-26°C、濕度維持在30-70%。小鼠飼養皆符合財團法人農業科技研究院實驗動物照護及使用委員會（Institutional Animal Care and Use Committee of Agricultural Technology Research Institute）之規範，動物實驗核准編號為實動字第109042。非特異性免疫調節試驗選擇8週齡，體重約22-25公克的小鼠，合計50隻；特異性免疫調節試驗選擇6週齡，體重約18-20公克的小鼠，合計60隻。

護肝功效試驗使用6週齡之C57BL/6JNarl（B6）品系雄性小鼠，購自國家實驗動物中心（台北，台灣），飼養於獨立空調與12小時自動明暗控制之GLP動物試驗室（動物科技研究所，財團法人農業科技研究院，苗栗，台灣），動物房溫度控制於18-26°C、濕度維持在30-70%。小鼠飼養皆符合財團法人農業科技研究院實驗動物照護及使用委員會（Institutional Animal Care

and Use Committee of Agricultural Technology Research Institute）之規範，動物實驗核准編號為實動字第108012。

四、各試驗組別資訊

依循衛福部「健康食品之免疫調節功能評估方法」（衛署食字第88037803號）小鼠隨機分組如下「非特異性免疫試驗組別設計」（表1）及「特異性免疫試驗組別設計」（表2）；護肝功效試驗設計如表3：

表1、非特異性免疫試驗組別設計：

組別	試驗內容	樣本數
A.正常對照組	每隻小鼠每日以管餵針經口服注射用水 0.2 mL，連續 8 周。	n=10
B.正對照組（靈芝市售產品組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服靈芝市售產品（經人體劑量換算，以注射用水配製）0.2 mL，連續 8 周。	n=10
C.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-0.5倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（350 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。	n=10
D.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-1倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（700 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。	n=10
E.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-2倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（1,400 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。	n=10

表2、特異性免疫試驗組別設計：

組別	試驗內容	OVA 誘導	樣本數
A.正常對照組	每隻小鼠每日以管餵針經口服注射用水 0.2 mL，連續 8 周。	無	n=10
B.負對照組	每隻小鼠每日以管餵針經口服注射用水 0.2 mL，連續 8 周。	腹腔注射 OVA 0.1 mL/ mice	n=10
C.正對照組（靈芝市售產品組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服靈芝市售產品（經人體劑量換算，以注射用水配製）0.2 mL，連續 8 周。		n=10
D.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-0.5倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（350 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。		n=10
E.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-1倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（700 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。		n=10
F.巴西蘑菇萃取液濃縮物低劑量組（ABM-2倍組）	每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（1400 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 8 周。		n=10

表3、護肝功效試驗組別設計：

組別	試驗內容	樣本數
A. 正常組	餵飼正常飼料（LabDiet cat#5058）；每隻小鼠每日以管餵針經口服注射用水 0.2 mL，連續 18 周。	n=10
B. 負控制組（肝損傷組）	餵飼 60%高脂飼料（D124592）；每隻小鼠每日以管餵針經口服注射用水 0.2 mL，連續 18 周。	n=10
C. 巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍劑量組（ABM-0.25）	餵飼 60%高脂飼料（D124592）；每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（175 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 18 周。	n=10
D. 巴西蘑菇萃取液濃縮物0.5倍劑量組（ABM-0.5）	餵飼 60%高脂飼料（D124592）；每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（350 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 18 周。	n=10
E. 巴西蘑菇萃取液濃縮物1倍劑量組（ABM-1）	餵飼 60%高脂飼料（D124592）；每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（700 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 18 周。	n=10
F. 巴西蘑菇萃取液濃縮物2倍劑量組（ABM-2）	餵飼 60%高脂飼料（D124592）；每隻小鼠每日以管餵針經口服 ABM（1,400 mg/kg b.w./day）0.2 mL，連續 18 周。	n=10

五、巴西蘑菇萃取液濃縮物之免疫調節動物試驗及護肝功效動物試驗操作方法

1. 非特異性免疫調節動物試驗：將小鼠以單手保定方式固定後，利用管餵針依表1給予試驗物質。小鼠犧牲當日在生物操作台內，以3-4 %的isoflurane麻醉以心臟採血後斷頸犧牲，血液收集於凝膠採血管中，靜置30分鐘後，以3,500 rpm，4℃，15分鐘離心後取上清液，儲存於-70℃，後續檢測血清中之Total IgG與IgA抗體含量。另外取脾臟組織以0.9%生理食鹽水洗乾淨後經研磨後收集脾臟細胞，以刀豆球蛋白A（Concanavalin A, ConA）（5 μg/mL）、脂多醣（Lipopolysaccharides, LPS) (10 μg/mL）刺激後檢測脾臟細胞中介白質6（ Interleukin 6, IL-6 ）與干擾素-γ（Interferon-γ, IFN-γ）細胞激素分泌量。

2. 特異性免疫調節動物試驗：將小鼠以單手保定方式固定後，利用管餵針依表2給予試驗物質。試驗物質給予兩周後給予第一次刺激卵白蛋白（Ovalbumin, OVA）（2 μg/mice）溶於Complate Freunds Adjuvant佐劑，進行腹腔注射（0.2 mL/mice）刺激免疫反應，14天後給予第二次刺激OVA（6 μg/mice）溶於Incomplate Freunds Adjuvant佐劑，進行腹腔注射（0.2 mL/mice）刺激免疫反應。小鼠犧牲當日在生物操作台內，以心臟採血後斷頸犧牲，血液收集於凝膠採血管中，靜置30分鐘後，以3,500 rpm，4℃，15分鐘離心後取上清液，儲存於-70℃，後續檢測血清中之Total IgG與IgA抗體含量。另外取脾臟組織以0.9%生理食鹽水洗乾淨後經研磨後收集脾臟細胞，以ConA（5 μg/mL）、LPS (10 μg/mL）及OVA（25 μg/mL）刺激後檢測脾臟細胞中IL-6與IFN-γ細胞激素分泌量。

3. 護肝功效動物試驗將：小鼠以單手保定方式固定後，利用管餵針依表3給予試驗物質，期間A組小鼠給予一般飼料（LabDiet cat#5058），B~E組小鼠給予60%高脂飼料餵飼連續誘導 18周。試驗期間每周秤量體重1次，並且於投予後第18周進行以心臟採血後犧牲，將小鼠肝臟組

織取下後以冰0.9% 生理食鹽水洗乾淨後，進行秤重及拍照。將最大右肝葉以10%中性福馬林固定，之後修片並進行H&E染色及病理觀察與判讀。

六、免疫球蛋白含量檢測

利用Sandwich-ELISA方法，將抗免疫球蛋白之抗體覆蓋在ELISA plate上，在4℃冰箱靜置一晚，將抗原以wash buffer清洗後加入200 μL/well blocking buffer放置室溫30分鐘，以wash buffer沖洗3次後再加入待測血清樣本至孔盤，100 μL/well於室溫反應2小時，之後以wash buffer沖洗去未鏈結免疫球蛋白，biotin-聯結性兔子對抗老鼠IgG與IgA抗體靜置2小時反應後以wash buffer沖洗未鏈結之抗體再加入TMB顯色劑呈色，觀察呈色反應後以2N硫酸停止反應並判讀其吸光值，以標準回歸線計算樣品免疫球蛋白濃度。

七、脾臟細胞分離

將脾臟完整取下放入裝有OCSM medium的dish中。脾臟上方覆蓋滅菌過200目篩網，以10 mL針筒塞壓碎，勿研磨避免破壞細胞，收集於15 mL離心管，再加入OCSM medium沖洗剩餘的細胞，合併收集於離心管。以300 g，4℃，10分鐘離心去除上清液，拍散下方細胞。無菌條件下lysis紅血球，將脾臟細胞加入1 mL OCSM medium懸浮，計算細胞數，將脾臟細胞定量為2×10^7 cells / mL。

八、刺激脾臟細胞分泌激素檢測

將脾臟單一懸浮細胞以 1.0×10^6 cells/well 置於 96-well 細胞培養盤中，分別為未刺激組、加入 ConA（5 μg/mL）、LPS (10 μg/mL）或 OVA（25 μg/mL）刺激組，於 37℃、5% CO_2 培養 72 小時，每 24 小時離心吸取上清液保存。細胞激素之測定是利用 Sandwich-ELISA 方法，將抗細胞激素的抗體，覆蓋在 96 ELISA plate 上，在 4℃冰箱靜置一晚，實驗前將為鏈結抗原以 wash buffer 清洗 3 次後加上 200 μL/well blocking buffer 放置室溫 1 小時，以 wash buffer 沖洗後再加入測定的樣品至 96 孔盤 100 μL/well，於室溫反應 2 小時後以 wash buffer 沖洗未鏈結細胞激素，再加入 biotin 聯結的抗細胞激素抗體反應 1 小時反應後沖洗，加入 avidin-HRP，靜置 30 分鐘後以 wash buffer 沖洗未鏈結 vidin-HRP，加入 TMB 呈色劑，觀察呈色反應後並 2N 硫酸停止反應後判讀其吸光值，以標準回歸線計算樣品細胞激素濃度。

七、血清生化指標分析

血液於室溫靜置約 30 分鐘後，於 4℃下以離心機 3,500 rpm 離心 15 分鐘，取上層血清於-70℃以下冷凍櫃保存。使用全自動乾式生化分析儀（FUJIFILM，DRI-CHEM 4000i），進行 AST 與 ALT 參數分析。

九、組織病理學檢查與病變評分

肝臟以10%中性福馬林固定至少24小時後，委外進行組織包埋、切片及染色與組織病理判讀。使用蘇木紫－伊紅（Hematoxylin & Eosin, H&E）染色，為了避免觀察主觀上的偏差，所有的組織病理切片都是由最大右葉肝的同一位置切取下來，進行組織H&E染色，於光學顯微鏡下觀察不同處理組的組織病理學變化。肝細胞脂肪油滴堆積乃依據依循衛福部公告的「健康食品之護肝保健功效評估」（衛署食字第1031304063號）公告之健康食品之護肝保健功效所述，

將病灶分5 級等半定量評分。

評分	肝細胞脂肪油滴病變程度
0	正常 (0%)
1	輕微 (<10%)
2	中度 (10 ~ 33%)
3	嚴重 (33 ~ 66%)
4	極嚴重 (66 ~ 100%)

組織病理依據 Shackelford 等人於 Toxicologic Pathology 所發表之文獻（2002）所述分 5 級等評分。

評分	病變程度
0	正常(0%)
1	極微 (< 10%)
2	輕度 (10 ~ 39%)
3	中度 (40 ~ 79%)
4	嚴重 (80 ~ 100%)

十、統計分析

各試驗組所得數值以Microsoft Excel求出平均數（Mean）及標準偏差值（standard deviation, SD），最終以Mean ± SD呈現於報告中。以One-Way ANOVA進行分析，若$p < 0.05$，代表至少有兩組間有顯著差異性，再以Duncan's Multiple Range Test同時比較各組別間之差異（$p< 0.05$）。脂肪肝半定量與組織病理學病變分析係以各劑量組動物所呈現的脂肪肝與病變經記錄後與正常對照組與負控制組進行Score value 分析，以統計軟體SPSS（Ver. 22.0)電腦統計套裝軟體進行變異數分析（analysis of variance, ANOVA)，並以 Duncan's test 多重比較來比對不同劑量組間顯著差異效果（$p<0.05$）。

參、結果與說明

一、非特異性免疫試驗-抗體分泌試驗

圖 2

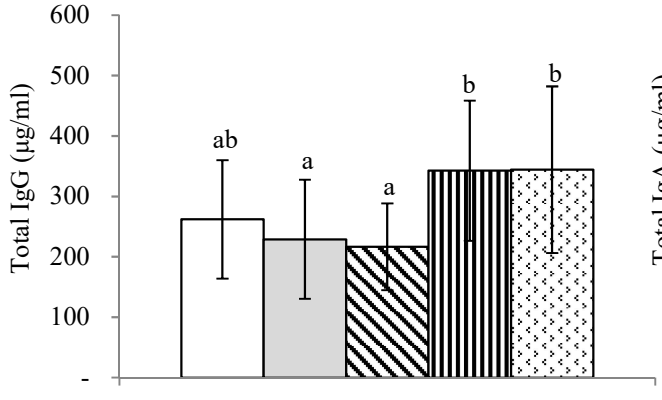
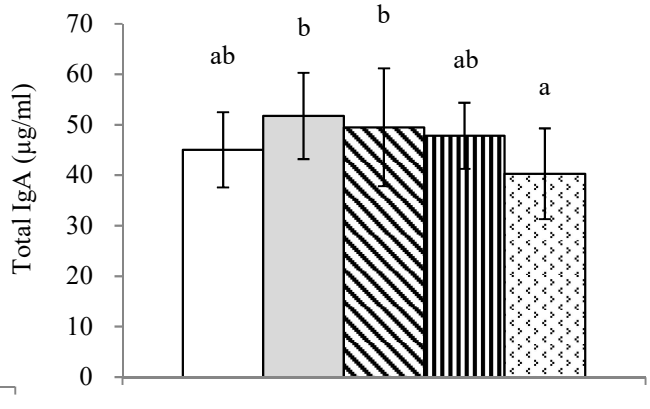


圖 3



□正常組 ▩正對照組(靈芝市售產品組) ▧ABM-0.5倍 ▥ABM-1倍 ▨ABM-2倍

圖 2-3、非特異性免疫調節-血清中 Total IgG 與 IgA 抗體含量分檢測

ABM-1 倍組與正常組相比，血清中的 Total IgG 提高 31%，ABM-2 倍組與正常組相比，血清中的 Total IgG 提高了 36%，此結果顯示給予 ABM-1 與 2 倍皆可以提高血清中 Total IgG 之含量，皆有提高免疫力之功效(圖 2)。ABM-0.5 倍組與對照組相比血清中的 Total IgA 提高了 10%，ABM-1 倍組與正對照組相比血清中的 Total IgA 提高了 5%。此結果表現給予 ABM-0.5 與 1 倍組可能有提升血清中 IgA 的含量的趨勢（圖 3）。[a,b] 不同字母代表有顯著差異（p<0.05）。

二、特異性免疫試驗-抗體分泌試驗

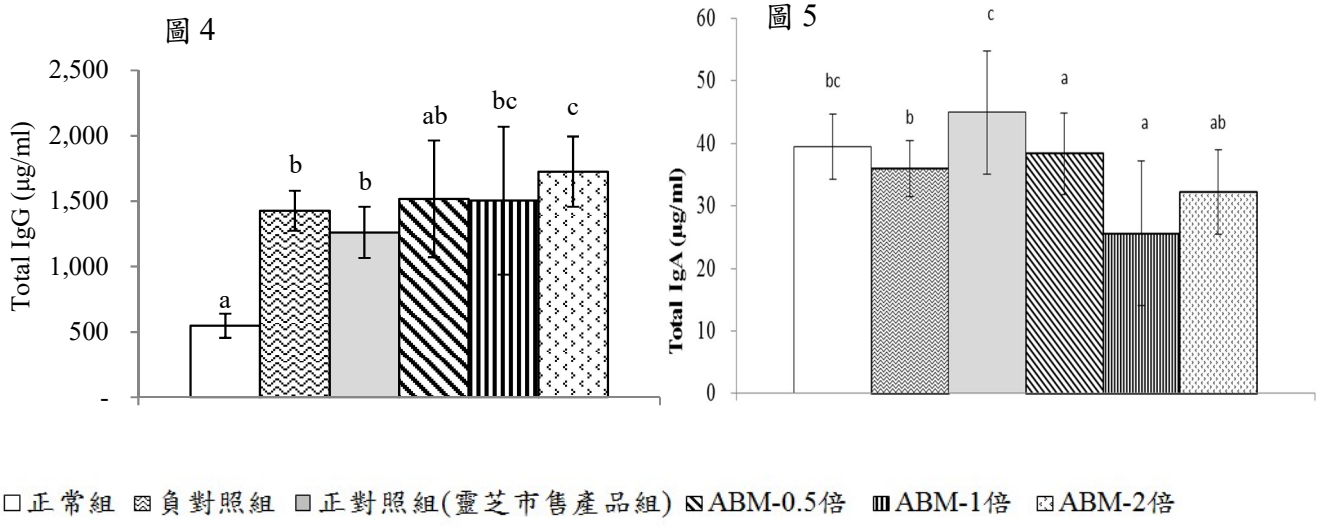


圖4-5、特異性免疫調節-血清中Total IgG與IgA抗體含量分檢測

給予ABM組皆與正常組有顯著性差異（p<0.05)，老鼠給予兩次OVA刺激，免疫系統會被啟動，給予OVA刺激之組別，血清中的Total IgG含量有顯著性較高於正常組，結果顯示給予ABM-2倍能有效提高血清中Total IgG含量（p<0.05）（圖4）。給予ABM-1倍組血清中Total IgA含量有顯著性較低（p<0.05），給予ABM-0.5與2倍則血清中Total IgA含量無顯著性差異（p>0.05）（圖5）。[a,b,c] 不同字母代表有顯著差異（p<0.05）。

三、非特異性免疫試驗-脾臟細胞增殖能力

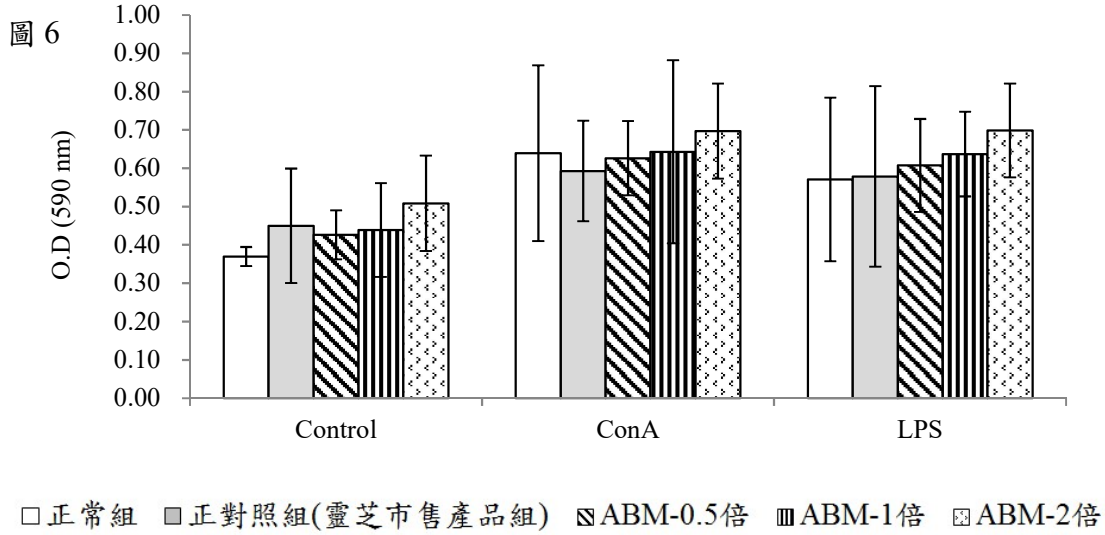


圖6、非特異性免疫調節-刺激脾臟細胞增殖能力檢測

不做任何刺激下各組間為無顯著差異（p>0.05），LPS刺激後發現給予ABM組皆有提升脾臟細胞增殖能力，特別是ABM-2倍組增加了30%，ConA刺激下給予ABM皆有提高脾臟細胞增殖能力，此結果表現給予ABM-2倍組在LPS刺激下有助於脾臟細胞增殖能力，而給予ABM-0.5倍組在ConA刺激下有助於脾臟細胞增殖能力。

四、特異性免疫試驗-脾臟細胞增殖能力

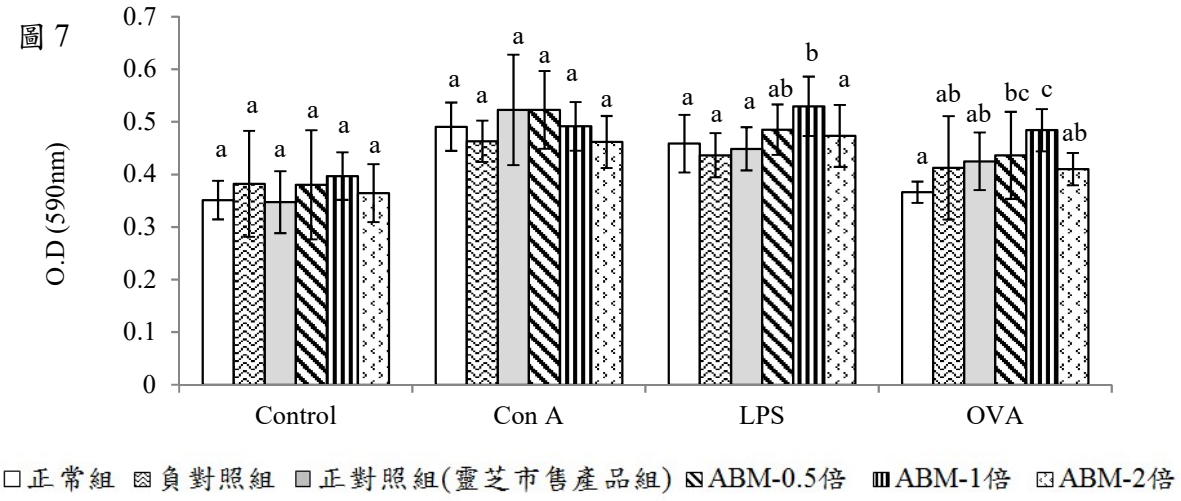
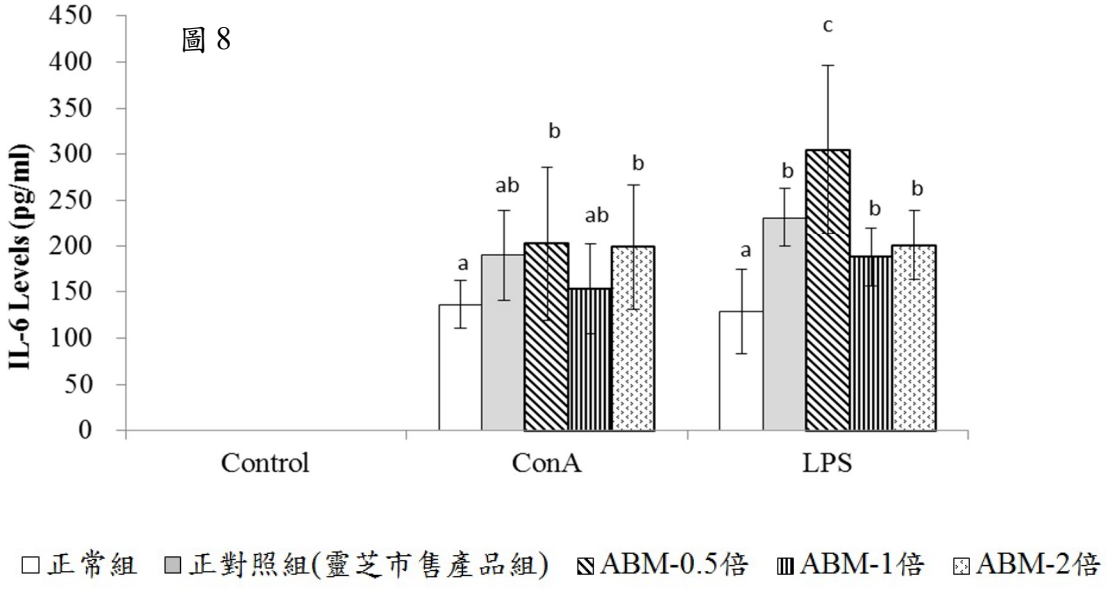


圖7、特異性免疫調節-刺激脾臟細胞增殖能力檢測

不做任何刺激下（Control）各組間無顯著性差異（p>0.05），ConA刺激下各組間無顯著性差異（p>0.05），LPS與OVA刺激下ABM-1倍組脾臟細胞增殖能力有顯著較高於其他組（p<0.05）。此結果表現給予ABM-1倍劑量組在LPS與OVA刺激下有助於脾臟細胞增殖能力（圖7）。

五、非特異性免疫調節-脾臟細胞激素分泌實驗



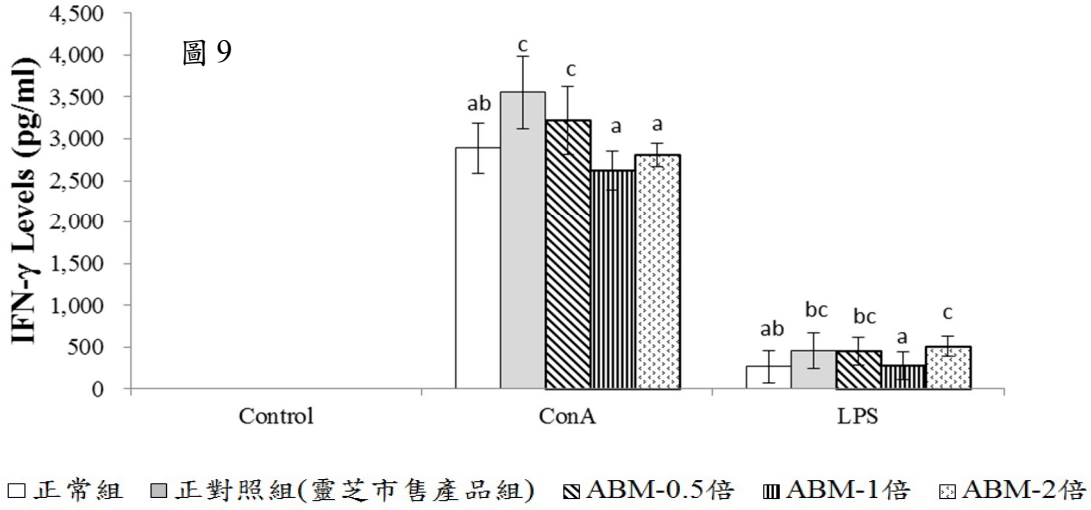
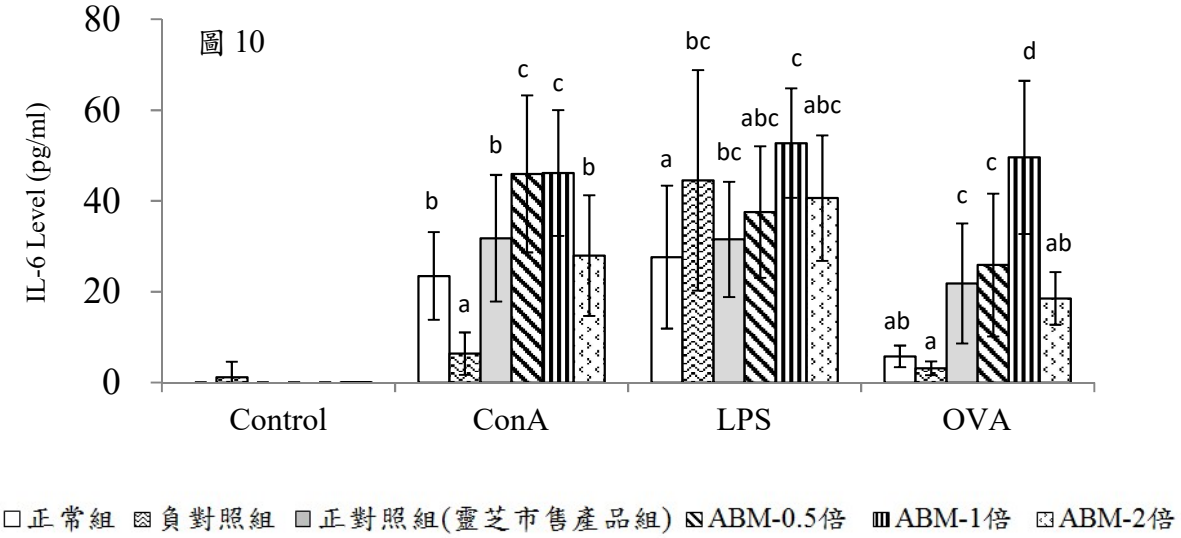


圖 8-9、非特異性免疫試驗中小鼠脾臟細胞中 IL-6 與 IFN-γ 細胞激素分泌檢測

未做任何刺激前（Control），所有組別之脾臟細胞皆無分泌 IL-6 細胞激素，ConA 刺激下可以發現 ABM-0.5 與 2 倍組有顯著性較高於正常組（p<0.05），LPS 刺激下 ABM-0.5 倍組顯著高於其他組別（p<0.05）。此結果表示給予 ABM-0.5 倍組在外來刺激下有顯著提高 IL-6 之分泌進而對抗外來刺激提升免疫力（圖 8）。未做任何刺激前（Control），所有組別之脾臟細胞皆無分泌 IFN-γ 細胞激素，ConA 刺激下 ABM-0.5 倍組有顯著性較高（p<0.05），LPS 刺激下 ABM-0.5 與 1 倍組在 IFN-γ 分泌量有顯著性較高（p<0.05）。此結果表示在 ABM-0.5 倍組在 ConA 與 LPS 刺激下皆能提高 IFN-γ 分泌，進而提高自體免疫力（圖 9）。[a,b,c] 不同字母代表有顯著性差異（p<0.05）。

六、特異性免疫調節-脾臟細胞激素分泌實驗



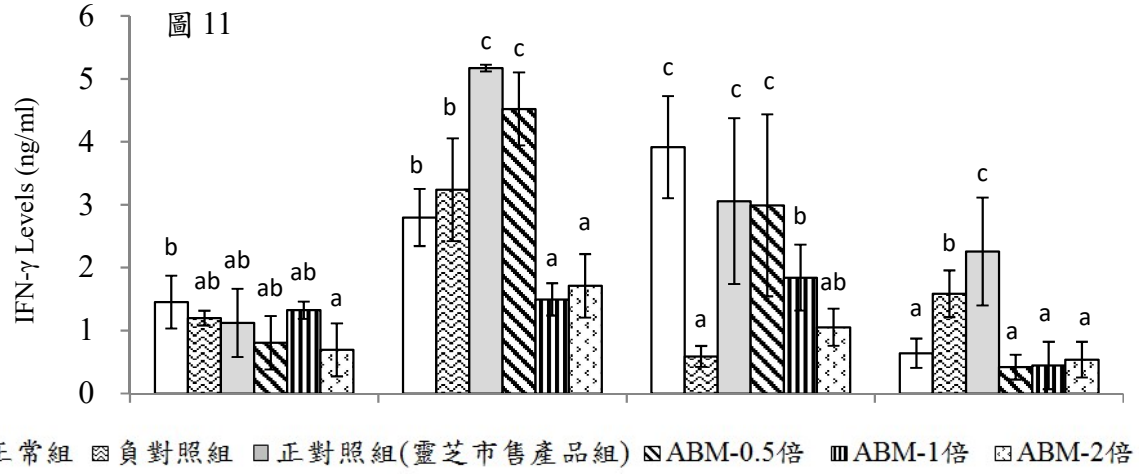


圖 10-11、特異性免疫試驗中小鼠脾臟細胞中 IL-6 與 IFN-γ 細胞激素分泌檢測

未做任何刺激前（Control），僅有負對照組脾臟細胞分泌IL-6。ConA刺激下可以發現ABM-0.5與1倍組有顯著性較高於其他組別（p<0.05），LPS刺激下給予ABM組別與負對照組無顯著性差異（p>0.05），OVA刺激下ABM-1倍組有顯著性高於其他組別（p<0.05）。此結果表示給予ABM-0.5倍組在外來刺激下有顯著提高漿細胞分泌IL-6進而對抗外來刺激提升免疫力（圖10）。未做任何刺激前（Control），正常組顯著低於其他組別（p<0.05），ConA與LPS刺激下ABM-0.5倍組IFN-γ分泌量有顯著性提高（p<0.05）， OVA刺激下給予ABM所有組別顯著性較低於負對照組（p<0.05），此結果表示在僅在ConA與LPS刺激下ABM-0.5倍組能提高IFN-γ分泌進而提高自體免疫力（圖11）。a,b,c,d不同字母代表有顯著性差異（p<0.05)。

七、護肝功效試驗-血清中AST與ALT含量分析

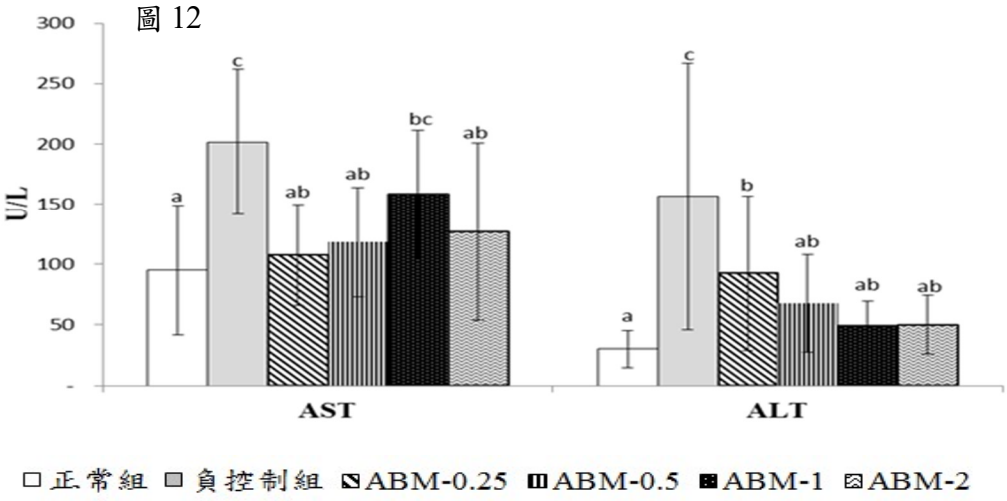


圖12、在小鼠血清中AST分析結果顯示，正常對照組與負控制組（肝損傷組）有顯著差異（p<0.05），且給予巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍、0.5倍與2倍劑量組與負控制組（肝損傷組）有顯著差異（p<0.05）；在ALT分析中，正常對照組與負控制組有顯著差異（p<0.05），且給予巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍、0.5倍、1倍與2倍劑量組皆與負控制組（肝損傷組）皆有顯著差異（p<0.05）。表示給予巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍劑量以上能有效降低血清中肝臟發炎指數 AST 與 ALT的表現。^{a,b,c}不同字母代表有顯著性差異（p<0.05)。

八、護肝功效試驗-小鼠肝臟外觀及組織病理判讀

圖13

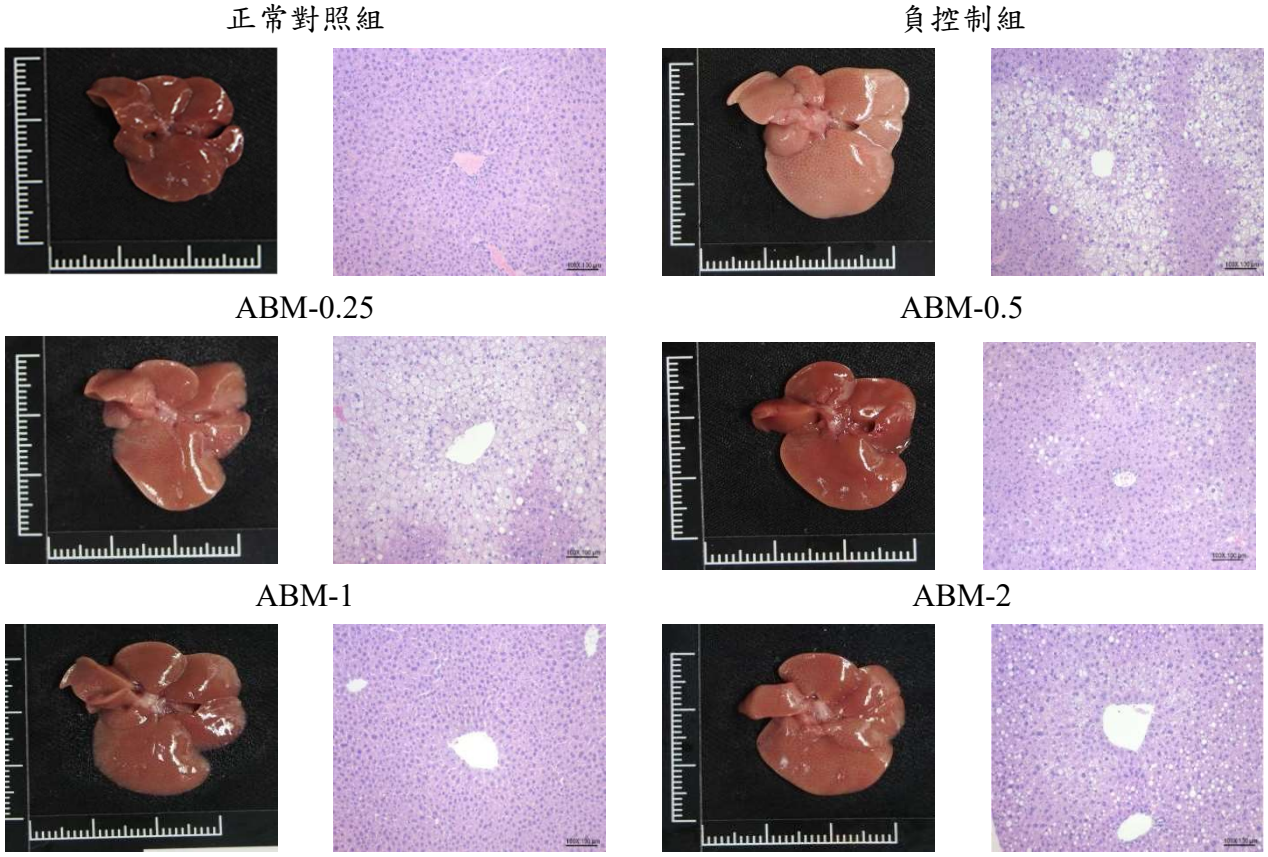


圖13、正常對照組之小鼠肝葉顏色呈現深鮮紅色，表面無許脂肪顆粒；局部極輕微的單核球炎症細胞浸潤於肝細胞中，無觀察到任何肝細胞脂肪油滴堆積病灶；負控制組（肝損傷組）之小鼠肝顏色呈淡奶黃色，表面及切面有許多脂肪顆粒；肝細胞呈現極嚴重的脂肪油滴堆積，與嚴重的單核球炎症細胞浸潤；巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍劑量組小鼠肝葉顏色呈現淡紅色，表面有些許脂肪顆粒；肝細胞呈現極嚴重的脂肪油滴堆積，與局部中度的單核球細胞浸潤；巴西蘑菇萃取液濃縮物0.5倍、1倍及2倍劑量組小鼠之肝葉顏色呈現鮮紅色，表面有些許脂肪顆粒；肝細胞呈現輕度的脂肪油滴堆積，與局部極輕度的單核球細胞浸潤。

肆、結論

綜合以上結果，免疫調節功效試驗期間各組小鼠均存活，且臨床觀察亦未發現異常症狀；小鼠攝取巴西蘑菇萃取液濃縮物能發揮免疫調節之作用，藉由血清中Total IgG含量與脾臟細胞增殖能力的提升，並在受到外來刺激可活化B細胞分泌IL-6與IFN-γ細胞激素，並調節體內IL-6與TNF-α分泌的平衡，達到提升自身免疫功能；在接受特定抗原刺激後，給予ABM能提高血清中Total IgG含量與脾臟細胞的增殖能力，而相同刺激時可使體內對於特異性抗原具有專一性之辨識，有助於提高特異性免疫之反應，綜上所述可得到巴西蘑菇萃取液濃縮物可增加在非特異性免疫調節（先天免疫反應）或在特異性免疫調節（後天免疫）都可活化相對應之免疫細胞進而影響身體的免疫反應。綜合以上動物試驗結果顯示，攝取巴西蘑菇萃取液濃縮物0.5倍以上劑量在免疫調節中有助於促進IgG抗體生成，脾臟細胞增生能力也有效提升並進而

促進細胞激素IL-6與IFN-γ的分泌，認為對抗細胞外的外來病原體或抗病毒感染的效力。而在護肝功效試驗研究中小鼠血清生化分析中，巴西蘑菇萃取液濃縮物0.25倍、0.5倍與 2倍劑量組與負控制組比較下，可顯著降低血清中肝臟損傷指標AST；0.25倍、0.5倍、1倍與 2倍劑量組皆可顯著降低血清中ALT數值（p<0.05）；肝臟外觀及病理組織判讀顯示，投予巴西蘑菇萃取液濃縮物0.5倍、1倍與2倍的小鼠肝葉顏色則明顯呈現偏向正常組之淡紅色，肝細胞呈現輕度的脂肪油滴堆積，表面有些許脂肪顆粒，單核球炎症細胞浸潤極微程度。綜合以上動物試驗結果顯示，攝取巴西蘑菇萃取液濃縮物0.5倍劑量以上有助於降低血清中 ALT、AST表現，並能減少肝臟中的脂肪堆積。

伍、參考文獻

1. 「健康食品之免疫調節功能評估方法」衛署食字第 88037803 號公告。
2. 「健康食品之護肝保健功效評估方法」衛生福利部部授食字第 1031304063 號公告。
3. 林念蓁。2006。 巴西洋菇發酵物對 BALB/c 小鼠之非特異性免疫調節及其免疫調節蛋白純化與生理活性之探討。臺灣大學食品科技研究所學位論文。
4. 吳銘芳，李美慧，常傳訓，黃幸妮，曼冠，劉嘉又，薛樹清，廖年捷，呂旭峰。2012。以體外細胞染色體異常試驗評估巴西蘑菇食品安全性。Journal of Biomedical & Laboratory Sciences 。第 24 卷 4 期，P133-138。
5. 陳妙齡，林金源，林壁鳳。2016。餵食松杉靈芝對 BALB/c 小鼠免疫調節的影響。台灣農業化學與食品科學。第四十四卷第四期，P243-249。
6. Hsu, S. C., Zhao, C., and Chen, C. C. 2018. Effect of Hirsutella sinensis Mycelium on Non-Specific Immunity in BALB/cByJ Mice.
7. Song, H. H., Chae, H. S., Oh, S. R., Lee, H. K., and Chin, Y. W. 2012. Anti-inflammatory and anti-allergic effect of Agaricus blazei extract in bone marrow-derived mast cells. The American Journal of Chinese Medicine, 40(05), 1073-1084.
8. Firenzuoli, F., Gori, L., and Lombardo, G. 2008. The medicinal mushroom Agaricus blazei murrill: review of literature and pharmaco-toxicological problems. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 5(1), 3-15.
9. Györfi, J., Geösel, A., and Vetter, J. 2010. Mineral composition of different strains of edible medicinal mushroom Agaricus subrufescens Peck. Journal of medicinal food, 13(6), 1510-1514.
10. Cho, S. M., Park, J. S., Kim, K. P., Cha, D. Y., Kim, H. M., and Yoo, I. D. 1999. Chemical features and purification of immunostimulating polysaccharides from the fruit bodies of Agaricus blazei. The Korean Journal of Mycology, 27(2), 170-174.
11. Hetland, G., Johnson, E., Lyberg, T., and Kvalheim, G. 2011. The mushroom Agaricus blazei Murill elicits medicinal effects on tumor, infection, allergy, and inflammation through its modulation of innate immunity and amelioration of Th1/Th2 imbalance and inflammation. Advances in pharmacological sciences.
12. Goldsby, R.A., Kindt, T.J., Osborne, B.A., 2000. Kuby Immunology. Fourth edition. W. H. Freeman and Company. USA.

13. Gonzaga, M. L. C., Menezes, T. M., de Souza, J. R. R., Ricardo, N. M., and Soares, S. D. A. 2013. Structural characterization of β glucans isolated from Agaricus blazei Murill using NMR and FTIR spectroscopy. Bioactive carbohydrates and dietary fibre.
14. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S., 2007. Cellular and Molecular 81. Immunology. Philadelphia, Pennsylvania.
15. Meydani, S. N., and Ha, W. K. 2000. Immunologic effects of yogurt. The American journal of clinical nutrition, 71(4), 861-872.
16. Kato, I., Tanaka, K., and Yokokura, T. 1999. Lactic acid bacterium potently induces the production of interleukin-12 and interferon-γ by mouse splenocytes. International journal of immunopharmacology, 21(2), 121-131.
17. Akramienė, D., Kondrotas, A., Didžiapetrienė, J., and Kėvelaitis, E. 2007. Effects of ß-glucans on the immune system. Medicina, 43(8), 597.
18. Nakajima, A., Ishida, T., Koga, M., Takeuchi, T., Mazda, O., and Takeuchi, M. 2002. Effect of hot water extract from Agaricus blazei Murill on antibody-producing cells in mice. International immunopharmacology, 2(8), 1205-1211.
19. Biedron, R., Tangen, J., Maresz, K.., and Hetland, G. 2012. Agaricus blazei Murill -immunomodulatory properties and health benefits. Functional Foods in Health and Disease. 2(11):428-447
20. Van der Heijden, R. A., Sheedfar, F., Morrison, M. C., Hommelberg, P. P., Kor, D., Kloosterhuis. 2015. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6J mice.
21. Tetri, L. H., Basaranoglu, M., Brunt, E. M., Yerian, L. M., and Neuschwander-Tetri, B. A. 2008. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans-fats and a high fructose corn syrup equivalent. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.
22. FARRELL, Geoffrey C., LARTER, Claire Z. 2006. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. Hepatology.
23. Bose, Mousumi. 2008. The major green tea polyphenol,(-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat–fed mice. The Journal of nutrition.
24. de Miranda, A. M., Ribeiro, G. M., Cunha, A. C., Silva, L. S., dos Santos, R. C., Pedrosa, M. L., and Silva, M. E. 2014. Hypolipidemic effect of the edible mushroom Agaricus blazei in rats subjected to a hypercholesterolemic diet. Journal of physiology and biochemistry.
25. Cynthia Shackelford, Gerald Long, Jeffrey Wolf, Carlin Okerberg, Ronald Herebert. 2002. Qualitative and Quantitative Analysis of Nonneoplastic Lesions in Toxicology Studies. Toxicologic Pathology. Vol. 30, No. I, p93-96.

致謝

感謝財團法人中正農業科技社會公益基金會之研究經費支持。

有機農業物聯網發展產銷計畫

桃園區農業改良場

洪巍晉、王斐能、傅智麟、姜金龍、莊俊釗

摘要

隨著社群平台的蓬勃發展，越來越多人透過搜尋直接搜尋商品，使用者接觸商品與促銷活動的管道與選擇多元化，越來越不會黏著於特定平台。這樣的轉變讓電商紛紛端出價格戰，此趨勢不利長期經營。好菜在我家平台(以下簡稱好菜平台)成立之目的即是「消費者希望找到好蔬菜，知道自家附近有機農場可提供什麼優質蔬菜，就近地產地消，吃到最新鮮最優質的農產品」，而根據過去平台推廣專案與使用者行為研究發現，為提高顧客忠誠度，可透過許多創新服務方法。本研究於平台內找出許多農場讓有機農業結合物聯網從生產、自動控制、銷售導入網路運營，輔導農場中使平台內每個會員農場以其中 1~2 個方法增加使用者對於平台的黏著度，充實顧客黏著度與依賴性，進而永續發展，除了提升農友生產收益與曝光度之外，進而增加消費者食安信心，完善小農產業消費體驗價值生活圈。

關鍵詞:社區支持型農業、物聯網、創新經營

前言

在精緻農業推動方案及有機農業倍增計畫之推動輔導下，消費者對於有機農產品的認同度及消費量日漸升高。本推動計畫包含幾項重點資源優勢 **1.都會近郊地理位置：**北部地區全國人口最密集的城市，近年來食安事件頻傳，更促使都會人口對於有機農產品的議題高度關注，尤其對於每日必需之有機蔬菜需求量大幅增加。大台北都會區可耕地雖然隨著五都改制而逐漸縮小，但近郊生產之有機蔬菜毗鄰廣大消費市場，佔有地產地消之便，且栽培過程易受消費者檢驗而有較佳的信度；再者，新北市為首推國中、小學營養午餐供應有機蔬菜的都市，因此，雙北地區就近生產有機蔬菜有其地理優勢。至 2016 年 1 月為止，雙北含基隆都會區的人口已達 7,048,243 人，總面積為 2,457.1253 平方公里，是世界第 44 大都會區；若加入桃園市，人口達 9,157,029 人，為世界第 36 大都會區，應有潛力發展屬於我國多元化社群(區)支持型農業。**2.生產技術與生活應用：**相較於台灣其它區域之有機蔬菜生產地，結合周邊之天然景觀及地區特色文化，雙北近郊有機蔬菜栽培農場更具有提供都會人口便利的有機農業教育體驗及休閒農業等發展潛力。本場先前 108 年度計畫係以都會近郊有機農場作為試驗基地輔導 2 處北部都會近郊有機蔬菜農場生產精緻多樣的有機蔬菜供應大台北市場為目標，進行改善土壤肥力、減少病蟲害發生及提高產量之有機蔬菜輪作穩定生產模式研究，並獲得初步成效，未來仍持續進行相關小型試驗輔導，深化社群農場栽培管理技術。**3.資通訊技術推廣應用：**以社群(區)支持

型農業 (CSA, Community Supported Agriculture)之產業模式為發展基礎，透過行動應用資訊裝置，建立消費者與生產者互動之物流平台，培養地區性消費行為，形成近都會區穩定收益之有機蔬菜產業。資通訊技術推廣應用，可讓更多近郊有機農場藉此物聯網絡平台發揮功效，完成地區性農產業資訊交流與信任、互利互助，並且網絡可提供更多元且方便的物流服務，完成都會近郊有機農業 E 化生活圈。藉由前人研究得知目前台灣社群支持型農業的特性與困境，並希望藉此計畫，透過本場先前開發之好菜在我家與其有機蔬菜生產管理平台及設立推廣教育暨技術服務團，配合相關推廣輔導行動方案，讓農友透過資通訊技術來經營自己的消費者，並能從中學習推廣技術與做法，達成推動社群支持型有機農業之物聯網絡平台應用服務之目的。

(二)前人研究

在網際網路蓬勃發展年代，農業資訊多元化應用亦隨之開展，無論生產調查、市場交易、行銷服務及農業環境資訊等均透過網際網路傳遞。消費者透過網路市場交易比例與金額逐漸提高，對於農產品網路交易意願隨之高漲。而電子商務的發展，網路已被零售商視為一個重要的銷售管道，並可藉由電子型錄的功能，大大減少行銷成本及提高效益。如何完善 E 化生產資訊並提供消費者有機農產品網路購物資訊與電子交易是重要的課題(江，2004；張等，2010；蔡等，2006；潘，2012)。

近年來，「社群(區)支持型農業」(CSA)已成為農業發展中一個嶄新面向，它是一種結合生產與銷售的運作模式，目前已經在國內逐漸受到關注。其推動的初衷，在於讓在地的消費者與生產者共同建立互惠共享的經濟體。它需要透過集體行動的運作來推展，方能達成目的。目前已在北美地區有大大的發展，美國第一個登記為社群支持型農業的農場 1985 年出現在麻塞諸瑟州，而 2005 年的統計資料顯示，美國已有一千七百多個社群支持型農場，會員數超過 34 萬人次，並持續增長之中(Schnell, 2007:552)。日本北海道メノビレッジ長沼(Menno Village 長沼) CSA 農場會員年費包含總營運費用及總生產成本除以會員數，繳費的會員從五月到十二月初，隔週配送(共十五次)，每次提供 8-15 種蔬菜；每年五月上旬開始收費，亦可分期付款，2013 年每個會員會費是 37,800 日圓；會費不會退費也不會追加收取。另外神奈川縣なないろ畑農場，是由一群從事公園落葉堆肥和社區貨幣(community currency)活動的新農民組成，從事無農藥有機栽培，會員年費 14 萬日圓(3-4 人份)，每週都能收到蔬菜；消費者所繳交的年費(購買蔬菜費用)，能維持農場營運，消費者本身也能親自體驗栽培；其結果就是消費者無償擔任農場志工，農場能安定經營有機栽培。「東北食べる通信」月刊於 2013 年 7 月創刊，內容為產品產地介紹及生產者專訪，當期介紹之食材會連同雜誌一起配送給至全國會員，今年四月份會員有 1,400 名，CSA 是由消費者當會員，在農作物採收前先支付費用給農場， 分擔農場經營風險。台灣第一個以社群支持型農業為營運方式的農場，於 2004 年成立於宜蘭縣員山鄉，名為「穀東俱樂部」，生產有機稻米(賴青松,2007;穀東俱樂部部落格)。且台灣已有類似的研究，如(賴,2010)提到社群支持型農業的運作特性，使得原來遠離地方脈絡的消費者，再鑲嵌化(re-embedding)到原本的食物生產體系中，會員因此而感到安全，也覺得自身的支持行動有附帶的價值與收穫。社群支持型農業降低了生產端的不確定性，而在消費端，卻極有可能因為產量與品質的不固定，而增加了不確定性。為了同時迎合不同目的，社群支持型農

業在實踐的過程中，必須努力去克服內部衝突，以達成真正雙贏的理想(賴,2010)。相對於去鑲嵌化的慣行農業，社群支持型農業就好比將原來已經脫離地方脈絡的食物生產體系，再次放回到社會脈絡當中，也就是一個再鑲嵌(re-embedding)的過程。人們透過社群支持型農業，可以知道他們的食物出產自哪裡、怎麼被生產、什麼時候生產的，甚至拜訪生產的地方、認識產地的農夫、親身參與生產過程等等。人與土地生產的重新連結，目地在降低充斥在現代社會中對食物安全的不信任與焦慮感(Giddens Anthony，2000)。

(三)已完成成果摘要

為使消費者透過網路便利取得有機蔬菜生產訊息，桃園區農業改良場以簡單操作、友善瀏覽、即時查詢三大理念，設計「好菜在我家」商品查詢平台，網站副標題為「呷放心ㄟ好厝邊」，網址 http://i-farm.tw/。本網站直接連結「有機蔬菜生產管理 E 化平台」，可將各個農友種植的作物生產情報「即時揭露」於網站上，更新作物生產情報亦立即顯示於本網站頁面「農友故事」的「我的作物」資訊中。透過商品平台，消費者可更便捷、友善的方式尋找在地生產的當令有機蔬菜，並了解個別農友的蔬菜生產情報，查詢生活周邊在地生產之有機蔬菜，直接前往了解農友生產的農產品及其經營之理念並安心選購。目前全站可查詢至少 70 種作物之生產季節資訊，並可輸入蔬菜名稱來快速檢索盛產季節，以及利用鄉鎮市別來搜尋農友資訊，使輸入資料的農友與消費者皆能得到正向的回饋，促成農產業價值鏈的提升型態，以形塑「在地生產、在地消費」之社群(區)支持型農業之產業模式。

(四)擬解決問題：

有鑑於目前網路電商或商家多以透過商品包裝降價促銷等活動吸引消費者選購，但消費疑慮與糾紛只能透過商家反映，情感上無法與生產者連結，甚或不清楚居住地近郊農場生產甚麼生鮮蔬果。然而大台北都會區生產之有機蔬果毗鄰廣大消費市場，都會近郊農場多以個體戶為主，生產有機及使用非農藥型態之少量多樣化作物，農場特質明顯。著眼於上述觀察結果，桃園場開發有機蔬菜生產管理 e 化平台與商品查詢平台-「好菜在我家」，即佈局未來農業資訊於生產管理與網路行銷新模式，透過資通訊平台，讓消費者清楚知道附近的生產者能提供在地新鮮食材，加深在地生活環境的認識；讓有興趣的消費者除了定期收到農場資訊以外，更可以直接跟小農購買產品，避免中盤商經手的利潤落差，保障農友收益。

小農透過妥適規劃輪作，可穩定生產葉菜類為主之多樣化週年蔬菜， 這些生產資訊透過平台可傳送至特定喜好消費族群，打破原有商品購物網站看板只能單向資訊輸出供消費者瀏覽。平台提供與都會近郊小農的討論與留言，讓擁有相同興趣與活動的人建立線上社區，以交朋友形式「互動、信任」為出發點，著手開發新型態應用服務。消費者更可透過平台預約或農場辦理活動等相關方式直接前往農友生產的農場或指定地點取貨、體驗消費…等，從社群內個人蔓延至社區組織、商家、學校團膳皆與農場連結。這樣讓農友透過平台經營顧客，能減輕他們由生產到銷售中間的庫存壓力，提升經營效率，係未來社群(區)支持型農場永續經營方向與目標。

材料與方法

本計畫分為兩個部分；先是針對北部地區都會小農以物聯網導入創新農業合作商業經營模式的相關材料，歸納出以往的文獻主要著重於經營模式的種類與經營模式的組成要素兩個研究方向，且主要都是以設施葉菜類與有機農業為內容架構。再根據以服務創新為主的創新模式文獻，整合出一個創新經營模式的評估方法；另一部分為推動平台質量提升推動方式採行輔導與陪伴的方式協助農友在平台內部質與量的擴充並優化。

(一) Bilderbeek 在 1998 年以四個構面來分析創新的架構(圖 1)，這四個構面包括新服務觀念、與客戶互動、服務 傳送系統、技術選項等。

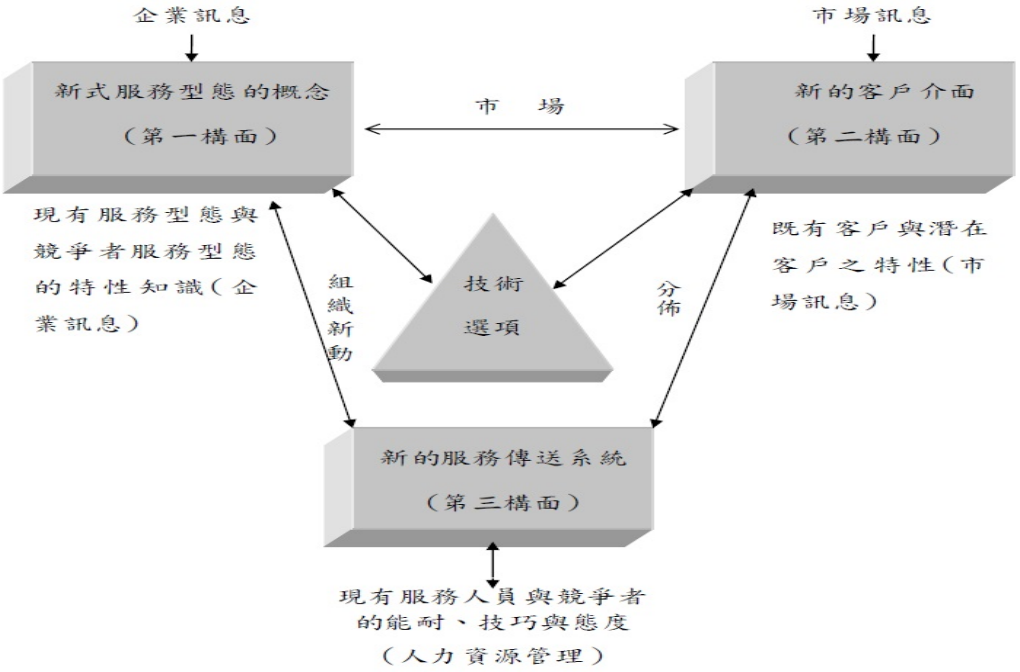


圖 1. 為 Bilderbeek 在四個創新架構

第一構面：新服務型態的概念 製造業創新通常是有型的產品，但服務業及商業則不然，通常是服務型態改變的創新。

第二構面：新的客戶介面服務業與客戶間的溝通形成服務創新的主要區域，與客戶的互動可能為創新的來源。

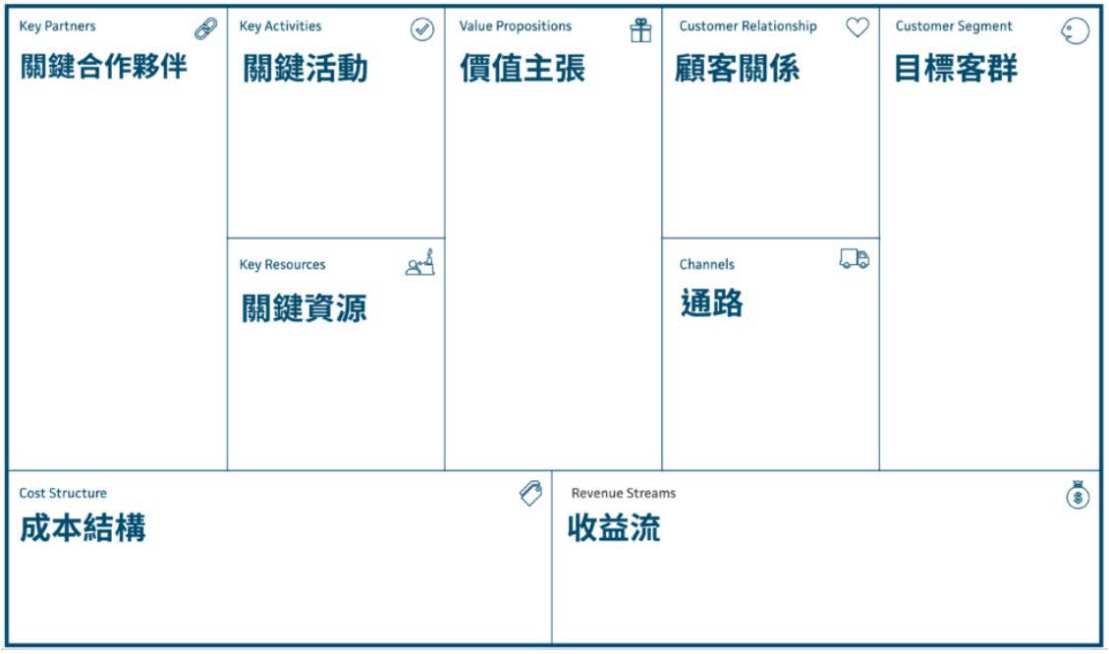
第三構面：服務傳送系統服務傳遞系統與組織是指內部組織的安排，以讓服務或執行工作更順暢，以發展與提供創新服務。

第四構面：技術選項服務創新可以沒有技術創新，技術不是必要條件，而服務業主要的創新在組織上，但所有的服務皆須使用一些技術，實務上，

技術與服務創新的相關性很高。

(一) 商業模式圖 (business model canvas)

從顧客端開始推想，先瞭解目標客群之需求，找到價值主張，串起與顧客間的關係，透過收益流可以為創業定價機制的基礎概念，此時，透過資源、活動將價值主張及產品服務傳遞給客戶，並找到可以有效影響整個商業模式的關鍵夥伴，當整個商業模式概念建立後，對於所需成本結構也會越來越清楚。利用這樣的思考模式可以幫助創業者勾勒一個完整的商業模式，讓商品服務與市場所需相符，幫助創業者更系統性、完整的思考，也能幫助高階主管強化現行組織運作。商業模式圖的九個建構區塊：客戶分類 (customer segment)、價值主張 (value Proposition)、通路 (channels)、 客戶關係 (customer relationship)、營收來源 (revenue streams) 等 5 個為銷售循環。價值主張 (value proposition)、核心資源 (key resources)、關鍵業務 (key activities)、重要夥伴 (key partnership)、成本結構 (cost Structure) 為供應循環 (Osterwalder，2010)



Business Model Canvas

二、產業概況及擬解決問題與方法因應方式:

(一)健全有機農業物聯網好菜在我家平台補強方案：

隨著社群平台與搜尋引擎的蓬勃發展，越來越多人透過搜尋引擎直接搜尋商品，使用者接觸商品與促銷活動的管道與選擇多元化，越來越不會黏著於特定平台。這樣的轉變讓電商紛紛端出價格戰，此趨勢不利長期經營，若要在電商中脫穎而出，培養顧客忠誠度勢在必行。

好菜在我家有機農業物聯網絡平台(以下簡稱好菜平台)成立之目的即

是「消費者希望找到好蔬菜，知道自家附近有機農場可提供甚麼優質蔬菜，就近地產地消，吃到最新鮮最優質的農產品」，而根據過去平台推廣專案與使用者行為研究發現，為提高顧客忠誠度，可透過 1.「產品價值」、2.「服務機制」、3.「網站內涵」與 4.「會員機制」等四個方法進行，而擁有高忠誠度的電子商務經營者多半結合自身優勢，平台內每個會員農場以其中 1~2 個方法增加使用者對於平台的黏著度。

是否因為農業物聯網興起新型態購物與消費方式?又是否農產品是消費者瀏覽網站的唯一?故好菜平台必須能夠自我突破，從盤點有現有電商平台找出質量俱佳的定位路線。

（二）平台質的擴充：

1. 智慧農場生產透明化打造農業物聯網形象，以產品的價值吸引消費者：
   a. 本場組成親訪顧問服務團，加強平台內 280 間農場互動與聯繫，輔導不活躍農場體質診斷，除了盤點平台內農場類型外，每周針對農場生產全貌、作物生產履歷、可供農產品數量與數目進行數據更新與檢核，提供即時的種植農作物與預計採收資訊，確保農場於網站活躍性。
   b. 實際親訪傾聽農友需求針對平台生產管理端之作業介面提供協助與改進做法，如指導生產資訊以語音功能紀錄，農場聊天室功能應用。
   c. 將農場作物生產資訊公開透明即時的方便性，傳感器與農業物聯網相關設備，讓農場升級，生產智慧化、效率化。
   d. 平台揭露作物生產看板資訊即時公開，並透過社區農場訂閱喜好作物讓消費者吸睛，知道哪裡生產好菜。加強顧客瀏覽平台信心與信賴，成為呷放心好厝邊」。
2. 透過獨特的數位服務機制，強化不可取代性:
   a. 農友端會員提供更新的農業數位服務功能，將本場 LINE@病蟲害數位務整合進入好菜平台介面，提供最新作物影像辨識與遠端監控智慧農業 4.0 相關設備讓農事生產得以輕鬆雲端線上識別、定位、追蹤、監控和管理。
   b. 消費端會員加入好菜平台，平台網站導入即時農產品資訊回饋，讓顧客每天都能看到網站的內容與生產銷售資訊，透過生產銷售資訊即時傳遞至顧客 LINE 或 FB 資訊後，連結回購至平台，每批於網站上銷售之蔬菜，上網或掃描皆有其對應料理食譜與做法，讓買菜價值得以延續料理樂趣。
   c. 本場計畫支援輔導農友種植高品質「蔥」，讓農友以夥伴關係經營顧客，以「買菜加蔥」方式與客人搏感情，建立給消費者信賴的人情味。
3. 增加網站內容，強化瀏覽趣味性與實用性，增加使用者回訪意願與黏著度
   a. 社群支持農業(CSA)與共享經濟整合應用，農場端透過作物生產即時情

報與看板，可以預先了解地區農場之間供應菜種，協助區域間合作調菜互通有無，並發行「好菜社群貨幣」，給予平台之間相互支援合作紀錄，評價農場與個人會員信用值。

b. 導入台北市(120 人)、新北市(163 人)地區青年農民組織，讓大台北地區農民組織可以在好菜平台經營農場參訪與農業體驗活動。提供作物生產狀況照片，讓顧客瀏覽商品以外，也能夠在網站上了解政府相關食農政策。本場邀請青農組織幹部協調農業活動內容及數量，充實該地區套裝行程，預計每月辦理 2 場知識講座或體驗活動。

c. 平台提供農業小旅行與市集活動資訊，並將交流資料紀錄於平台內。

4. 透過會員機制增加回訪誘因:

a. 好菜網站定期協助農場輔導其粉絲與顧客關係，每周遴選 3 種作物發送 EDM，促銷個別農場的優惠價格供顧客瀏覽

b. 農場並可邀請改良場專家至該農場辦理農場講座，並於網站上協助消費者釐清農產品選購疑慮，做好產品支持後盾。

c. 只要消費者有任何農產品消費疑慮，吾人可於好菜網站上提問討論，協助釐清不實謠言，營造留言終結環境與產品堅持形象。讓消費者能夠第一時間能夠注意到網站資訊，進而回訪網站瀏覽。

(三)平台量的擴充

1. 平台農友端的會員招募機制:

a. 階段開放各區改良場協助當地農場，第一階段與台中區農業改良合作開放場使用其後台管理介面，與之合作輔導農友加入平台運作，讓台中地區農友能夠利用平台做好生產管理與行銷服務。

b. 推廣至全國青農組織聯誼會與地區農會、產銷班、合作社，發表平台功能優點與特色，維繫青農組織建立平台形象。

c. 多元化農產品導入，未來增添稻米、雜糧、水果、畜產品、農場加工品，至花卉與農業相關資材進入，讓消費一站到位。

2. 平台消費者端的會員招募機制:

a. 分析消費者四種(DISC)購物型態，針對不同客群培養預購顧客，加入平台會員，首次預約線上消費可以享受優惠價格購買。

b. 網站建立「好菜社群貨幣」，活躍的人氣帳號與推文排行給予獎勵，該帳 號貢獻值進行加值，以利後續消費者間互相交流。

(一)平台量的擴充:協助平台內農場自媒體拍攝:

結合資訊廠商開發北部都會近郊區域供貨示範平台，以應用於電子商務網路行銷管道前提。建立都會近郊有機蔬菜生產體系及提供社群(區)支持型農業生產技術融合與應用平台。

(二)輔導平台質的提升:

推廣教育暨技術服務團成立，於雙北市、桃園市及新竹縣等地區選定數個可作為長期推廣社群支持農場示範區，由改良場組團提供技術服務，

以陪伴與深度訪談調查方式並持續提供小型試驗，完成相關輔導紀錄與試驗栽培數據。

結果與討論

(一)Bilderbeek 四個構面:

1. 新服務觀念：是非常抽象的想像，有時候僅是簡單的觀念轉換。簡單來說，就是想法或觀念上的創新，而且是一個針對特定市場的創新服務應用。以平台會員內心有機農場來說，利用在地化與社區化概念結合固定時間配銷作業來完善新零售的最後一哩路，健康蔬菜金方案每周固定配送 1~2 次的機會與顧客做朋友，進而達到服務顧客與農友服務的價值。
2. 新客戶介面：是指服務業的供應商與客戶之間的互動介面，而這兩者的溝通就形成服務創新的主要區域。農民與顧客面對面的交談並不局限於農場與農民市集，網路許多應用方式如平台行動裝置亦可成為新客戶蒐集對象來源。
3. 新服務傳遞系統：是指經由組織內部的安排與訓練，使員工更有活力發展與提供創新服務，以便執行與傳遞更為正確的服務。因該農場亦透過相關文化與教育事業傳遞生產價值與思想教育，透過每年固定開放日的安排活動讓社員都可以參與農場與農是生產相關活動，並將採收後剩餘食材進行加工處裡參與活動組織成員揭能夠體認農場孕育食物以及如何生產製造功能產品進而體認思想與教育相關啟發與激勵效果。
4. 技術選擇：也就是運用科技創新。雖然技術不是服務創新的必要條件，但作為資訊傳遞媒介此項創新經營服務則重度依賴行動通訊技術，透過農友與衛星農場間的配菜方式，告知那些蔬菜屬於 A 農場提供，那些蔬菜屬於 B 農場提供之組合另外亦可行客制化的需求於網路上進行邀約生產、交易與配銷。

二、商業模式分析:

圖. 北部地區蔬菜創新服務農場方案例分享

本項歸類以社區支持型農場經營為主的有機農場，該農場透過有效率的物流配送方式，以健康菜金方案，協助目標客戶針對消費群進行分類與分時段配送，S 型以 500 元/4 次配送，每次配菜 125 元，並搭配 3 種當季蔬菜；L 型以 1,000 元/4 次配送，每次配菜 250 元，並搭配 3~4 種當季蔬菜；XL 型以 2,000 元 4 次配送，每次配 500 元，並搭配 3~6 種當季蔬菜，另外還有長期支持回饋專案一 次 52 期(一年)6,500 元。而在配送時段上以每周五透過 LINE 社群進行通知，配送地點以該社區周圍轄區開始擴散，北宜路起至大坪林捷運站共約 28 配送點， 若行車通過配送點無人接應時則會第二次繞回時再通知取貨，等待時間約 10 分鐘內而且相當方便。

圖 4. 商業模式分析

社區支持與農場體驗消費類型農場

1. 價值主張:地產地消、小量多樣多次宅配、新鮮有機食材、社區服務
2. 目標客層:內心文教基金會成員、配合行銷餐廳、社區會員
3. 顧客關係:會員、講堂學員、市集夥伴、餐廳
4. 通路:公部門活動、餐廳店中店、物流配銷客戶
5. 收益流:健康菜金方案、每周配銷客戶直送 250~300 人、每月蔬菜金 40 萬
6. 關鍵條件:每周配銷客戶達 280 人次、每周配銷 10 餐廳
7. 關鍵活動:生活體驗、社區宅配、學校營養午餐、生產排程
8. 關鍵資源:物流車、20~30 處配銷點、溫室、包裝場
9. 成本結構:車油資、配銷員、契作生產成本、驗證費用、損耗

北部地區創新合作經營農業適合可能之模式如下:

銷售循環部分:

價值主張（ 有機蔬菜安全 ）→連結（ 安全理念相同 ）→顧客［ 通路直銷 ］→收入（ 蔬菜產品本身 + 有機蔬菜 ）→經營理念（ 農民 收益穩定、分散風險 + 提供消費者穩定安全品質好蔬菜 ）→經營理念（ 計畫生產 ）。

供應循環部分:

價值主張（有機蔬菜安全 ）→夥伴關係（ 理念一致 + 配合度高農友 ）+ 關鍵活動（ 農業+ 社區餐廳 ）→關鍵夥伴（ 合作農戶 + 配銷社區 ）→成本（ 產銷履歷驗證費用 ）→經營理念（ 供應穩定、安全、品質好之蔬菜 ）。

(二)平台量的擴充:協助平台內農場自媒體拍攝:

為深化網站內容，強化瀏覽趣味性與實用性，增加使用者回訪意願與黏著度，故輔導生產者運用自媒體拍攝上傳網站。由於疫情因素使得消費型態改變，許多民眾透過網路進行生鮮採購就近消費，也因此認識近郊都會農場，而在自媒體世代人人皆可能成為網紅，輔導農場利用媒體工具拍攝 10 隻影片(圖 2)，內容包含食農教育(圖 3)、網路直播、產地直送、農場體驗、代耕服務、空拍形象、視訊教學…等，同時增添平台豐富度吸睛效果，統計結果達 1,5201 瀏覽數，銷售效益增加 30%以上。本年度好菜農場數 281 場，線上支付 18 場。辦理推廣活動 10 場次共 900 人次，招募消費者新增 400 人，會員新增人數達 1,690 人，較去年增加 30%。並輔導印製農場廣告文宣 2,000 份。

(三)輔導平台質的提升:

(1)有機農場種植甘薯桃園 3 號與代耕經營導入；本品種為早熟之紅心甘藷品種，生育期較短，可靈活調節產期，甘藷3號的胡蘿蔔素可強化人體保健

功能，且胡蘿蔔素含量高 4,327IU，塊根表皮橙黃色，肉色橙紅色，產量穩定，非常適合製作甘藷飯、甘藷粥及烤甘藷等。因此依農家需求，輔導以本場桃園 3 號甘藷進行有機栽培，露天田區種植 2 分地，並委託桃園青農合作社代耕，經過耕耘機整地後，施用有機肥，並中耕機做畦。於露天生長情形狀況良好，農家也舉辦了社區居民採食控窯活動，藉此推廣農場有機產品。雖然代耕管理初期乃至栽培後採收需支付相關費用，但可以節省大量的農事工作，每分地平均收穫量 1,000~1200 公斤，扣除支付代耕費用銷售增加 5~8 萬元，也為社區支持型農場注入農場代耕新經營方式。

(2)輔導桃園市新屋區力青有機農場萵苣栽培輔導:桃園 3 號綠寶萵苣較福山萵苣具有全期生長速率高、葉色濃綠、葉片大且葉質地脆等特性，故透過小型試驗由台北分場協助栽培技術輔導，並觀察市場消費者接受度，規劃未來擴大栽培面積。試種於夏季透過遮陰網處理(圖 4)，期望改善夏季種植技術，克服高溫逆境(圖 5)。

(3)輔導農場生產數位化、透明化:輔導新竹縣新埔鎮造境有機農場透過本場開發有機生產管理 E 化平台栽培紀錄數位化，透過生產管理紀錄友善，並取得友善農場示範區(圖 6)。

(4) 平台質量提升並導入遠端智慧農業開發灌溉系統:分別於桃園市新屋區力青有機農場導入本場賴副研究員信忠開發之智慧農業開發系統，目前透過程式積木管理農場 11 個網室(圖 7)，以感測器即時監測空氣溫濕度及光照度，以光積值控制灌溉灑水，並於 9 月 22 日舉開本場年度計畫觀摩會，由基金會陳炯松董事長主持，參加人數 110 人，觀摩會圓滿成功(圖 8)。

(四)質量擴散新場域:

透過技術輔導與推廣陸續新增與擴散場域新店區廣興有機市民農園，分析其中需求規劃並導入本場相關技術與產銷輔導建議，並發現都會地區仍具有開發潛力場域，據以建構農業物聯網絡產銷平台(圖 9)。

展望

在創新經營模式的建構上，北部地區合作夥伴找尋與每階段不同核心價值建構具有直接的關係，從自身資源開始盤點近一步找尋合作夥伴，而後朝向外部資源提升動態能力，整個產銷循環也因此構成該階段的核心競爭力。在小農發展自有品牌於導入期應著重的是自身價值定位，以自身家庭與土地共好理念為出發點的小農，在生產理念上較容易取得消費者共鳴。

日後對於推動創新經營模式的政策應時常蒐集消費者行為及生活型態等商業情報，有系統化地建立消費者購買的決策模式資料，並研究具有農業配銷冷鏈物流運費過高對策及重要性的跨領域之商業服務業，如因疫情興起的外送平

台服務結合生鮮配銷模式，逐步建立策略性服務業創新經營模式推動計畫並以示範帶動性的新經營模式，才能吸引新消費族群消費方式與物聯網產銷發展可持續服務的環境。

致謝

最後並感謝財團法人中正農業科技與社會公益基金會長期經費支持，有充足的經費推動計畫使許多農場受惠轉型且升級，透過實地農場推動發展特色農場方式具有實質改變效果且能成為指標性農場，這些農場為日後奠定農業物聯網結合創新服務發展的開端。

<table>
<tr><td colspan="2">
</td></tr>
<tr><td colspan="2">圖 2. 拍攝影片製作強化農民利用自媒體於平台上展現</td></tr>
<tr><td> </td><td>
</td></tr>
<tr><td>圖 3. 輔導平台內康維有機農場辦理食農教育與控窯活動</td><td>圖 4. 透過雙層遮陰處裡夏季種植本場綠寶萵苣產量較未處理佳，且苗期存活率高 10%</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>圖 5. 本場台北分場(左)栽培與示範農場(右)栽培情形比較</td><td>圖 6. 輔導平台內新竹縣新埔鎮水梨產銷班第 21 班，造境農場數位記錄取得友善示範農場。</td></tr>
</table>

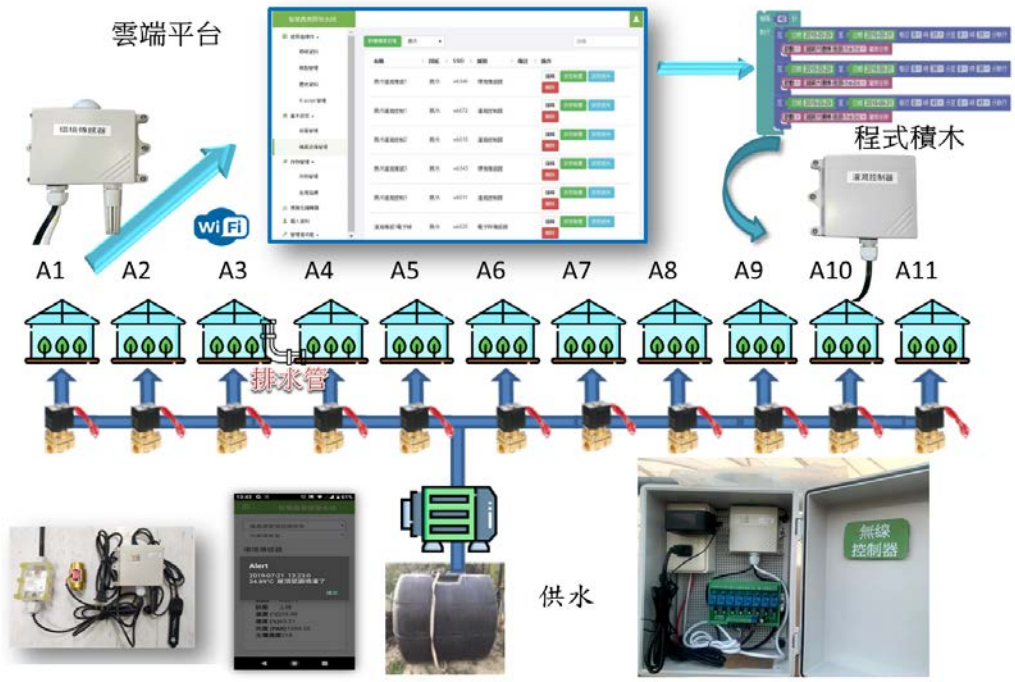


圖 7. 輔導平台內本場開發之智慧農業開發平台農場灌溉設施示意圖

圖 8. 本場 109 年辦理本計畫觀摩會圓滿成功

圖 8-1. 本場推廣課姜課長金龍向水利會員解說智慧農業灌溉節省大量用水

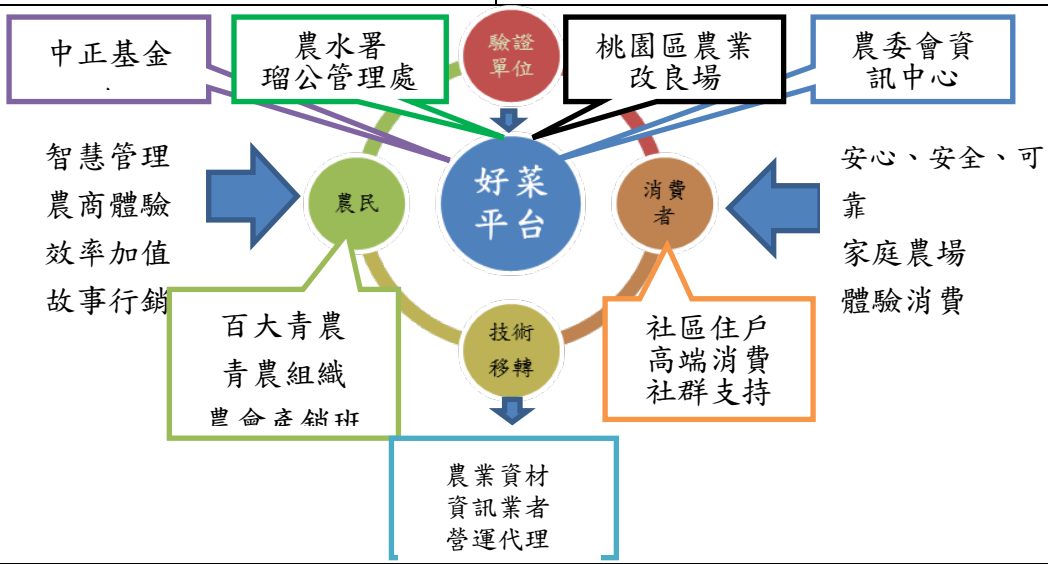


圖 9. 建構農業物聯網絡產銷平台示意圖

參考文獻

1.王美音譯。「知識創新之泉-智價企業的經營」。Dorothy Leonard-Barton（1995）著。遠流出版社，1998。

2.中天出版社，「閩茲柏格談管理」，Henry Mintzberg（2000）著。

3.方荷西（2000)。臺灣芒果產銷班關鍵成功因素之探討。碩士論文，屏東科技大學熱帶農業研究所，屏東。

5. 江正信（2000)。高階經營團隊與企業策略決策模式、組織學習傾向、創新能力及經營績效之關係研究。 碩士論文，成功大學企業管理研究所，台南。

6. 林香伶（2018)。共享經濟發展策略之個案分析。國立政治大學企業管理研究所(MBA 學位學程)碩士論文，台北市。

7. 王玉美。「共享經濟下數位平台之商業模式研究 —以 Rover 寵物寄宿平台為

8. 例」。，國立中央大學資訊管理學系在職專班，2018。

7.陳勵勤，(2019)，農業經營專區商業模式及運作機制之研究，臺南區農業改良場研究彙報第 73 號，P63~75。

探討休閒農業區體驗遊戲化之影響研究

A Study on the Impact of Experience Gamification on Recreation Agriculture Area

計畫編號：109－中基－農－06

計畫主持人：劉瓊如教授

共同主持人 :黃文雄助理教授

執行機關：嘉義大學行銷與觀光管理學系

執行期間：109 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 日

摘要

本研究運用 S-O-R 理論建立休閒農業區體驗遊戲化模式，瞭解休閒農業區體驗遊戲化如何經由個人的認知與情感，進而影響行為意圖。本研究選擇具人文藝術體驗類型的苗栗縣雙潭休閒農業區和生態農事體驗類型的南投縣桃米休閒農業區等 2 處進行實證，獲致 411 份有效問卷。研究結果發現：體驗遊戲化對流暢體驗具有正向的影響，以「精熟感」對流暢體驗最具影響力，其次分為「樂趣性」、「自主性」、「歸屬感」、「故事性」及「勝任感」。此外，流暢體驗正向影響重遊意願及口碑推薦，流暢體驗也扮演完全中介角色。最後依據研究結果提出休閒農業區體驗遊戲化管理意涵與建議。

【關鍵字】休閒農業區、遊戲化、流暢體驗、重遊意願、口碑推薦

Abstract

The Stimulus-Organism-Response Theory is used to build an experience gamification model to find out how experience gamification influences recreation agriculture area’s revisit intention and word of mouth by one’s perception, emotion and intention. This study selected two recreation agriculture areas, such as: “Humanistic Art

Experience Type" Shuangtan recreation agriculture area in Miaoli County and "Ecological Farming Experience Type" Taomi recreation agriculture area in Nantou County, surveying 411 valid questionnaires were collected. The result showed that experience gamification had a positive effect on flow experience with "Mastery" having the strongest influence, followed by "Fun", "Autonomy", "Relatedness", "Narratives", and "Competence". In addition, flow experience had a positive effect on tourists' revisit intention and word of mouth. Flow experience was also an important mediator. Finally, experience gamification managerial implications and suggestions for future researches are also discussed.

【**Keywords**】Recreation agriculture area, Gamification, Flow experience, Revisit intention, Word of mouth.

前言

近年來，為使台灣的傳統農業更具競爭力及滿足社會大眾對休閒遊憩的需求，休閒農業也被視為是一個最重要的農業政策（顏建賢，2008）。依據農業發展條例第 3 條第 5 款定義休閒農業是指:「利用田園景觀、自然生態及環境資源，結合農林漁牧生產、農業經營活動、農村文化及農家生活，提供國民休閒，增進國民對農業及農村之體驗為目的之農業經營」。而所謂的休閒農業區係指經農委會核准設置為供休閒農業使用之地區。截至 2020 年 12 月為止，全台劃定 95 區休閒農業區，包含：北部 28 區、中部 28 區、南部 13 區以及東部 26 區。依據農委會統計指出，2018 年共計吸引消費者前往休閒農業區旅遊逾 2,760 萬人次，其中外國消費者 61.3 萬人次，創造產值 108 億元（行政院農業委員會全球資訊網，2019），顯示台灣休閒農業旅遊如雨後春筍般蓬勃發展。

體驗(Experience)是企業提供有形商品、無形勞務，環繞著消費者創造出值得讓消費者獲得難忘的體驗活動(Pine & Gilmore,1999)。遊戲化(gamification)是指設計系統、服務、組織和活動的方式，它可能帶來與遊戲類似的體驗和動機，其目標是為了影響消費者的行為(Huotari & Hamari, 2017)。遊戲化可以提高消費者的參與度，並增強獨特性體驗，因為遊戲化有助於獲得其他服務和機會，使消費者能取得更多訊息並增加與他人的動態互動(Koivisto & Hamari, 2019)，並提高消費者對目的地的忠誠度(Xu, Buhalis, & Weber, 2017)。爰此，休閒農業區的體驗可以運用遊戲化形成其獨特吸引力。本研究應用 Mehrabian 和 Russell (1974) 提出刺激－個體－反應理論 (stimulus-organism-response theory，以下簡稱 S-O-R 理論)，認為休閒農業區體驗遊戲化組成是導致消費者產生情緒的刺激(Stimulus)，能引發消費者流暢體驗的情緒(Organism)(Chen, 2007)，進而產生重遊意願(Kim &

Thapa, 2018)、口碑推薦(Meng & Han, 2019)等行為反應(Response)；但整體的 S-O-R 理論概念卻極少被應用於休閒農業區體驗遊戲化之研究。歸納本研究目的包括：

（1）瞭解與探討休閒農業區體驗遊戲化、流暢體驗與重遊意願、口碑推薦之關係；

（2）發展並檢驗以流暢體驗為中介角色的理論架構；

文獻回顧與假設建立

一、休閒農業區體驗遊戲化內涵

遊戲化的內在動機是指純粹出於享受遊戲的樂趣而玩遊戲以及感受遊戲的享樂主義價值(Ryan & Deci, 2000 ; Xu et al., 2017)。Liu et al. (2019)提出活動遊戲化之內在動機具有精熟感(mastery)、樂趣性(fun)及故事性(narratives)等特性。此外，自我決定論提及三項需求：勝任感、自主性、歸屬感，而成功的遊戲化應該透過使用遊戲機制來回應消費者的內在需求，從而吸引消費者純粹地享受活動(Xu et al., 2017)。換言之，遊戲化透過內在動機應用於遊戲設計巧思，使得消費者可以更加投入遊戲且使遊戲更有意義，而要讓消費者自發性的參與活動，則需要滿足自我決定論所提及的三項心理需求(勝任感、自主性及歸屬感)，從而吸引他們盡情地享受活動。因此，本研究採用 Ryan 與 Deci (2000)自我決定論的內在需求及 Liu et al. (2019)提出遊戲化之內在動機，彙整休閒農業區體驗遊戲化組成，包含：勝任感、自主性、歸屬感、精熟感、樂趣性及故事性。茲將各構面內涵說明如下：

(一)勝任感

Deci 和 Ryan (2002)定義勝任感為「感受到自己有機會表現自己的能力」。這種感受讓消費者想要透過自己的能力去達成遊戲中的目標(Xu et al.,2014)，Xu 等人 (2014)提出，這些目標需要明確、具體、有變化且結構完整，讓消費者可以獲得關於自身機會與可能性的動機，也就是說，可以將目標劃分成小部分，使消費者更能夠完成目標(Groh, 2012)。此外，遊戲中的分級挑戰和詳盡且明確的表現回饋，有助於滿足消費者的勝任感需求(Przybylski et al., 2014)。因此，在休閒農業區體驗活動中添加遊戲化之元素，可以依據消費者的表現提供適合其能力的任務型活動，並且透過闖關性質累加其難易度，讓消費者循序漸進的滿足其勝任感之需求。

(二)自主性

Deci 和 Ryan (2002)認為自主性為「自願做某事且在執行中擁有決定權」。自主性可以透過感受到決策自由和做一些對個人來說具有意義的事情來表現(Sailer et al., 2017)。Ryan 等人 (2006)提出，人們玩任何遊戲的意願將隨遊戲本身的魅力、設計及內容而有所差異，當遊戲設計具有靈活的策略、任務或目標的選擇，以及使用有系統的獎勵做為回饋而非控制消費者的行為，有助於提升消費者的自主性。因此，休閒農業區體驗活動中，透過遊戲化設計可以提供多元選擇的個人化任務，依據消費者個人喜好風格擴展任務類型，逐步完成消費者專屬意義的任務，以滿足消費者自主性之需求。

(三)歸屬感

歸屬感是「一種感到與他人有連結，並成為社群成員的一種需求」(Ryan & Deci, 2000)。Xu 等人 (2014)提出歸屬感的需求在於：消費者在相同的遊戲化系統中相互連結，以分享成就並被其他消費者認同，透過遊戲將建立更強的社會聯繫，創造更活躍的社交網絡(McGonigal, 2011)。再者，提供溝通管道和強調合作與競爭的小組挑戰可以滿足歸屬感的需求(Przybylski et al., 2014)。因此，休閒農業區體驗活動中，可以透過遊戲化設計消費者分組團隊競賽，以提供消費者互動的機會，並在體驗過程中加強與其他消費者的互動聯繫，以增加消費者的歸屬感並對遊戲保持積極的探索行為。

(四)精熟感

精熟感是指「在活動中以穩定一致的步調來展現掌控能力的程度」(Liu et al., 2019)。Zichermann 和 Linder (2010)提出精熟是持續進步的過程，稱為「漸進精熟(progression to mastery)」，在遊戲中加入漸進精熟的遊戲機制：目標、朝目標前進的指標、社群性強化、進度強化、逐步增加難度、利用小挑戰或新經驗維持興趣，將有助於消費者獲得更多快樂。因此，藉由將精熟的遊戲機制加入休閒農業區體驗活動中，在休閒農業區活動中透過一系列好玩的訓練、難度漸增的層級，讓消費者慢慢增加能力，進而吸引消費者參與。

(五)樂趣性

樂趣性定義為「在活動中感受到愉悅的程度」(Liu et al., 2019)。Crawford (2011)認為，樂趣的感受來自學習，學習的時候，身體會給予我們快樂的感覺作為回饋。因此，好的遊戲必須在消費者停止玩遊戲前盡量讓其學習，教導消費者遊戲所提供的任何事物。當人們認為遊戲具有樂趣時，他們將與遊戲互動，並自願在遊戲中投入更多的精力、時間和金錢(Jang, Lee, & Yoo, 2019)。而簡單的樂趣就是體驗遊戲中純粹的樂趣，例如：好奇心、驚喜感、幻想力和創造力(Hu & Shang, 2018)。休閒農業區體驗活動中，設計具謎題性的遊戲，解謎過程激發消費者的創造力和好奇心，以增添消費者的樂趣性。

(六)故事性

故事性(narratives)是指透過講故事的方式，使人們參與到遊戲故事中，以共同和專注的方式講述事件事實和故事細節(Oaklander, 1988)。故事性定義為「消費者對活動故事的主觀感受，並為消費者提供了更充分的理解程度」(Liu et al., 2019)。故事性用於鼓勵觀眾沉浸在他們的故事情節中，那些讀者/觀眾/消費者的注意力集中在角色、情境和事件的關係上，發展出娛樂的效果，減少訊息的說服性 (Moyer-Gusé, 2008)。遊戲故事性是具有開頭、中間和結尾的故事，提供有關人物和情節的信息 (Lu, 2015)。因此，休閒農業區體驗活動中，可以透過故事性包裝休閒農業區之特色，設計故事關卡配合體驗活動內容，引發消費者想要體驗休閒農業區活動。

二、休閒農業區體驗遊戲化模式

(一)流暢體驗

流暢體驗 (flow experience)是指個人全神貫注於活動，且完全融入其中，對任何其他的事都變得無關緊要的一種狀態;此狀態存於當個人的技巧及活動挑戰性平衡的情境中 (Csikszentmihalyi, 1975)。在消費者行為中，流暢體驗組成包括:注意力、愉悅、喜悅、樂趣、沉浸感、好奇心、對時間的遺忘和挑戰(Csikszentmihalyi & Csikszentmihalyi, 1992)。Han (1988)則認為當人們沉浸於流暢體驗時，會產生專注力、容易控制該活動和覺得時間流逝的很快；並以專注、控制感、時間流逝感等概念測量流暢體驗。遊戲化活動包含一些挑戰和任務，這些挑戰和任務會在一定的時間內讓消費者產生心理上的緊張或壓力,可以幫助消費者將精力集中在目的地。遊戲化中的任務和挑戰讓消費者產生了喜悅、滿足和興奮之類的積極情緒(McGonigal, 2011；Snodgrass et al., 2016)。因此，在休閒農業區體驗加入遊戲化機制，將能促進消費者的流暢體驗。根據上述，我們提出以下假設：

H1：休閒農業區體驗遊戲化會正向影響流暢體驗。

(二)重遊意願

重遊意願 (revisit intention)是消費者對於喜歡的品牌所展現的一種行為忠誠(Loureiro & Kaufmann, 2012)。大多數的研究者衡量重遊意願以消費者下次還想要再次造訪的意願強度，以及下次會將該品牌列為眾多同質品牌中的首選 (Kim, Kim, & Kim, 2009; Loureiro & Kaufmann, 2012)。Ettis (2017)研究指出線上店鋪氣氛色彩會影響消費者流暢體驗,而消費者流暢體驗會引發消費者的購買意願和重訪意願。Kim 與 Thapa (2018) 研究發現參加生態觀光遊程的消費者流暢體驗會影響其環境責任行為和目的地忠誠。換言之，當消費者產生流暢體驗，會對休閒農業區產生重訪意願。根據上述, 我們假設:

H2:流暢體驗會正向影響重遊意願。

(三)口碑推薦

口碑推薦 (word of mouth)是指有關服務品質、產品品質與可信賴性的評論，這些評論從一個人傳遞到另一個人 (Charlett, Garland, & Marr, 1995)。相關研究證實，透過提供易於使用和易於造訪的數位平台，可以藉由消費者的流暢體驗來強化消費者的口碑推薦 (Calvo-Porral, Faíña-Medín, & Nieto-Mengotti, 2017)。此外，流暢體驗有助於騎乘自行車旅遊者良好的行為意圖，包括:重訪意願和口碑推薦(Meng & Han, 2019)。換言之，當消費者產生流暢體驗，會對休閒農業區產生口碑推薦。根據上述, 我們假設:

H3:流暢體驗會正向影響口碑推薦。

(四)流暢體驗的中介效果

在遊戲中，為了促進消費者的流暢體驗，遊戲需要具備一些特徵，Sweetser 和 Wyeth (2005)主張，消費者對於技能的感知是很重要的，技能應該與遊戲提供的挑戰相配合以促進並維持流暢體驗。遊戲也應該提供明確的目標和適切的回饋以促進消費者的流暢體驗 (Kiili, 2005)。在遊覽感興趣的地點時，從遊戲設計元素中消費者獲得的難忘體驗與重遊意願和口碑推薦具有正向關係(Bulencea &

Egger, 2015)。再者，以專業運動隊網站實證運動消費者在線上的流暢體驗的後端結果，研究顯示流暢體驗會正向影響運動消費者對網站忠誠度和口碑推薦(O'Cass & Carlson, 2010)。因此，流暢體驗在體驗遊戲化與重遊意願、口碑推薦之間扮演重要的角色。故提出本研究假說：

$H4_a$：消費者對休閒農業區的體驗遊戲化會透過流暢體驗進而影響其重遊意願。

$H4_b$：消費者對休閒農業區的體驗遊戲化會透過流暢體驗進而影響其口碑推薦。

研究方法

一、研究架構

本研究透過文獻探討將研究架構分成：第一部份參考 Bulencea 與 Egger (2015)、Kim 與 Thapa (2018)、Meng 與 Han (2019)等研究推論造訪休閒農業區之消費者會基於「體驗遊戲化」與「流暢體驗」等認知，分別影響其對休閒農業區之「重遊意願」、「口碑推薦」。第二部分參考 Snodgrass 等 (2016)、Ettis (2017) 、O'Cass 與 Carlson (2010)等消費者行為論述，推論造訪休閒農業區之消費者的「體驗遊戲化」會透過「流暢體驗」的中介效果進而影響「重遊意願」、「口碑推薦」，如圖 1 所示。

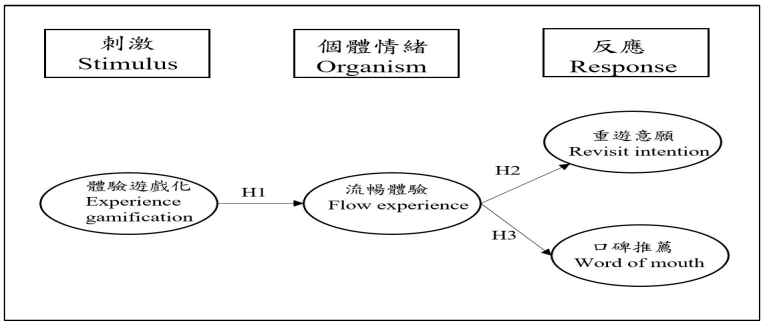


圖1　研究架構圖

Figure 1 Research framework

二、樣本選取與資料收集

本研究以 108 年獲選為卓越休閒農業區，且體驗活動行程具有部分遊戲化概念之休閒農業區，如：人文藝術體驗類型的苗栗縣三義鄉雙潭休閒農業區和生態農事體驗類型的南投縣埔里鎮桃米休閒農業區做為實證研究地點，並以造訪此兩處休閒農業區具有體驗過遊戲化相關活動之遊客做為問卷施測對象。茲就兩處地點說明如下：

(一)「雙潭休閒農業區」：位居苗栗縣三義鄉，最大特色為木雕、臉譜彩繪、植物藍染等文化產業，讓旅人體驗手作樂趣 (農業易遊網，2020)。休閒農業區內的山板樵休閒農場提供臉譜彩繪 DIY，體驗過程滿足遊客之自主性需求(體驗項目選擇的靈活性)、勝任感需求(選擇適合其能力的體驗項目)、樂趣性需求(彩繪過程激發消費者創造力)。此外，卓也小屋提供藍染體驗 DIY，體驗過程中可以讓消費者展現自我風格之自主性需求(體驗項目選擇的靈活性)和精熟感需求(鼓勵

挑戰難度簡易到困難的藍染作品)。

(二)「桃米休閒農業區」: 位於南投縣埔里鎮桃米里,區內擁有豐沛的生態資源,提供社區遊憩及生態導覽、夜間賞蛙體驗或賞螢季活動等,均展現生動有趣(農業易遊網,2020)。桃米休閒農業區提供各式農事體驗、生態導覽、手作食材體驗等體驗活動,像是桃米遊戲書-蛙ㄟ守衛戰,探索桃米生態及歷史故事,參與者們分組進行闖關,並有專業解說員講故事、帶領導覽、闖關解說,獲勝的一方可得精美獎勵,體驗過程滿足消費者精熟感需求(鼓勵完成全通關)、歸屬感需求(採分組進行競賽提供互動機會)、樂趣性需求(過程採用解謎方式進行),以及遊戲化之故事性需求(透過故事性包裝農業區特色)。本研究於 2020 年 1 月~7 月於 2 處休閒農業區進行立意抽樣,總計發出 450 份問卷,共回收 411 份有效問卷,問卷有效率約 91.3%。

三、問卷設計

本研究問卷分為三部分,第一部分調查消費者對休閒農業區體驗遊戲化之看法,本量表引用 Liu 等人(2019)與 Ryan 和 Deci (2000)的研究題項,共計 21 個問項,分別有勝任感之操作性定義為:「消費者在體驗活動中認為有能力表現自己達成目標的程度」,計 3 個問項、自主性之操作性定義為:「消費者在體驗活動中能自願加入且擁有決定權的程度」,計 5 個問項、歸屬感之操作性定義為:「消費者在體驗活動中需要在團體中與其他消費者互動連結的程度」,計 3 個問項、精熟感之操作性定義為:「消費者在體驗活動中以穩健漸進方式展現掌控能力的程度」,計 4 個問項、樂趣性之操作性定義為:「消費者在體驗活動中所感知愉悅的程度」,計 3 個問項、故事性之操作性定義為:「消費者在體驗活動中理解休閒農業區遊戲故事的情節程度」,計 3 個問項等。

第二部分調查消費者對流暢體驗、重遊意願及口碑推薦等看法,在流暢體驗之操作性定義為:「消費者在體驗時忘記當下其他事務的拘束,達到亢奮、忘我境界的程度」,採用 Han (1988)測量 3 題項;在重遊意願之操作性定義為:「消費者對於喜歡的休閒農業區所展現一種行為忠誠的程度」,採用 Kim 等人 (2009)測量 2 題項;在口碑推薦之操作性定義為:「消費者在體驗後會經由口頭方式推薦他人到此休閒農業區體驗的傾向」,採用 Kim 等人 (2009)測量 2 題項。並均以 Likert 五點尺度衡量,依序由 1 分 (非常不同意) 至 5 分 (非常同意)。第三部分則調查消費者之基本資料包括:性別、家庭組成、職業、年齡、教育程度、月收入等問項。

研究結果

一、樣本特性

受訪樣本特性以女性居多,佔 63.3%;年齡多介於 35~44 歲,佔 33.8%,其次為 25~34 歲,佔 27%;教育程度以大專／大學居多,佔 59.9%,其次是研究所含以上,佔 20.9%;居住地以北部地區為主,佔 46.2%,其次是南部地區,佔 28%;職業以技術人員為最多,達 32.6%,其次為軍公教,佔 23.4%,再其次為民意代

表、主管，佔 20.9%；平均月收入以 2~4 萬，達 34.1%，其次為 4 萬~6 萬，佔 27.3%，再其次為 2 萬元以下，佔 20.7%。

二、信效度檢定

本研究以驗證性因素分析(confirmatory factor analysis, CFA)檢測量表之效度與信度。信度方面，個別觀察變項之多元相關平方值(squared multiple correlation, SMC)至少須大於 0.20，潛在變項的組成信度(composite reliability, CR)須高於 0.60 (Jöreskog & Sörbom, 1993)。本研究各觀察變項之 SMC 介於 0.37~0.83，潛在變項的組成信度介於 0.73~0.90，表示各量表具良好信度。效度方面，所有觀察變項之因素負荷量皆達顯著水準($t>2.54$，$p<0.01$)，且高於判定準則 0.40 (Hair et al., 2019)。潛在變數與其對應之所有測量問項間所萃取的平均變異抽取量(average variances extracted, AVE)若達 0.50 以上，表示具有收斂效度。本研究採用之量表構面之 AVE 值介於 0.42~0.81，顯示各量表具有可接受之收斂效度(詳如表 1)。區別效度檢定之判斷準則採用潛在變項配對相關信賴區間檢定法，將相關係數加減 2 個標準差，如果信賴區間值未包含 1.00 的值，則表示潛在變項間具有區別效度 (Jöreskog & Sörbom, 1993)，由表 2 發現，各構面相關係數信賴區間均無涵蓋 1 的現象，表示本研究之區別效度獲得支持。

三、整體模式適配度之檢定

本研究利用結構方程模式對假說模式進行驗證，以最大概似法(maximum likelihood, ML)進行理論模式適配函數之估計，並檢測潛在變項間的因果關係。整體模式的配適度指標：(1)$\chi 2/df$ 比值(203.39/62)為 3.28，符合小於 5 之標準；(2)GFI 值為 0.93，高於 0.80 的建議值，GFI 值愈大表示模式整體配適度愈好；(3)SRMR 為 0.038，標準化殘差均方根代表殘差值的大小，低於 0.08 表示模式適配良好 (Hu & Bentler, 1999)；(4)CFI 值為 0.98，高於 0.9 的建議值，表示模式適配良好 (Hair et al., 2019)。整體而言，本研究所建構之理論模式的適配指標達理想水準；換言之，該模式具有良好外在品質，理論模式可被接受。

四、研究假說之驗證

由最大概似法所估計的 γ 與 β 值是用來檢定研究假說，整體結構模式如圖 2 所示，其中模式中的 3 條假說路徑達顯著水準($p<0.01$)，茲分述如下：

本研究檢驗體驗遊戲化對流暢體驗之影響，結果顯示標準化估計係數值為 0.92 ($p<0.01$)，達顯著水準，假說 1 成立。體驗遊戲化共可解釋流暢體驗的 85%變異量。此外，流暢體驗正向顯著影響休閒農業區重遊意願，標準化估計值為 0.88($p<0.01$)，假說 2 成立。重遊意願可藉由模式中的變數解釋 77%的變異量。再者，流暢體驗正向顯著影響休閒農業區口碑推薦，標準化估計值為 0.77($p<0.01$)，假說 3 成立。口碑推薦可藉由模式中的變數解釋 59%的變異量。

表1　測量模式之驗證性因素分析

Table 1　CFA results of measurement model

測量變數 Measure variables	平均數 mean	標準化因素負荷量 SFL	多元相關平方值 SMC	組成信度 CR	平均變異抽取量 AVE
體驗遊戲化Experience gamification					
勝任感(GA1)				.73	.47
我覺得這裡活動的內容我都可以做得很好 I feel I could do well regarding the content in this activity	4.44	.70	.49		
我有能力參加這裡的活動 I am capable of participating in this activity	4.58	.73	.53		
我覺得我的體力在這裡活動是沒有問題的 I feel my physical strength is ok for this activity	4.67	.63	.40		
自主性(GA2)				.78	.42
我可以依照自己興趣選擇這裡的活動內容 I can choose the content of the activity according to my own interest.	4.59	.62	.38		
我可以自由選擇參與這裡活動的方式 I could freely choose the way I participate in this activity.	4.60	.62	.38		
我覺得這裡活動可以讓我展現自己的風格 I feel this activity allowed me to express my own style.	4.13	.67	.45		
我覺得這裡活動對我來說有特別的意義 I feel this activity has a special meaning to me.	4.30	.72	.52		
我可以從本農業區活動參與的經驗中反思自己的日常生活經驗 I could reflect on my daily life experience through the experience of participating in this activity.	3.99	.61	.37		
歸屬感(GA3)				.84	.63
和其他人共同參與這裡的活動讓我感到舒服 It was comfortable for me to participate in this activity with others.	4.38	.74	.55		
我喜歡這裡所提供活動參與者社交互動的機會 I like that the host provided an opportunity for participants to interact and socialize.	4.24	.85	.72		
我喜歡在這裡的活動中和其他參與者的互動 I like the interaction with other participants in this activity.	4.14	.79	.62		
精熟感(GA4)				.84	.57
參與過程中不斷激勵我繼續把這裡的活動完成 I was constantly encouraged by the accumulated experiences throughout my participation to continue and complete this activity.	4.18	.80	.64		
透過活動中我覺得自己的相關能力有逐漸進步 Through the completion of each phase of this activity, I feel there was a gradual improvement of my relevant abilities.	4.18	.85	.72		
我覺得我可以透過這裡去探索一些新的人事物 1 I feel I could explore new things through this activity	4.32	.63	.40		

表1　測量模式之驗證性因素分析（續）
Table 1　CFA results of measurement model (continued)

測量變數 Measure variables	平均數 mean	標準化因素負荷量 SFL	多元相關平方值 SMC	組成信度 CR	平均變異抽取量 AVE
樂趣性(GA5)				.82	.61
我覺得這裡的體驗過程可以激發個人想像力 I feel the process of experiencing and participating in this activity could stimulate my own imagination.	4.32	.77	.59		
我覺得這裡的活動設計讓我感受到創意巧思 I feel there was perceivable creative ingenuity in the design of this activity.	4.26	.80	.64		
我覺得這裡的活動可以激發我的好奇心 I feel this activity could stimulate my curiosity.	4.32	.77	.59		
故事性(GA6)				.77	0.53
從一開始就對這裡的源起感到有興趣 I was interested in the origin of this activity from the beginning.	4.18	.69	.48		
我喜歡這裡的相關故事或報導 I like relevant stories or reports of this activity.	4.18	.78	.61		
我了解這裡的相關背景故事 I understand the relevant stories of this activity.	3.80	.72	.52		
流暢體驗(FW)				.79	.56
在參與活動時，我覺得完全活動在我掌握之中 When I take participation in activity, I feel completely in control.	4.09	.74	.55		
我全神貫注在這裡的活動當中 I become totally absorbed in activity participating.	4.38	.76	.58		
當我在參與這裡的活動時，時間似乎過得很快 Time seems to pass quickly when activity participating.	4.46	.75	.56		
重遊意願(RE)				.81	.68
相較於其他農業區，我會將這裡列為首選 Compared to other places, I would like to set this place as the top one choice to visit.	4.16	.82	.67		
我很想要再次造訪這裡 I want to revisit this place.	4.25	.83	.69		
口碑推薦(WM)				.90	.81
我會口頭推薦這裡給其他人 I will recommend this place to others.	4.47	.91	.83		
我會告訴其他人這裡的好話 I will share positive things of this place to others.	4.47	.89	.79		

註：SFL為標準化之因素負荷量；SMC為多元相關平方的數值；CR為組合信度；AVE為平均變異抽取量；* 表示 $p<0.05$

Note: SFL=Standard Factor loading; SMC=Square Multiple Correlation; CR=Composite Reliability; AVE=Average variance Extracted

表2　各潛在變項的相關係數
Table 2　Correlation matrix

	GA1	GA2	GA3	GA4	GA5	GA6	FW	RE	WM
GA1	1								
GA2	.79* [.71, .87]	1							
GA3	.53* [.43, .63]	.72* [.64, .80	1						
GA4	.57* [.47, .67]	.83* [.77, .89]	.72 [.66, .78]	1					
GA5	.55* [.45, .65]	.71* [.63, .79]	.64* [.56, .72]	.84* [.78, .90]	1				
GA6	.52* [.42, .62]	.65* [.57, .73]	.60* [.52, .68]	.72* [.64, .80]	.73* [.65, .81]	1			
FW	.70* [.62, .78]	.82* [.76, .88]	.69* [.61, .77]	.86* [.78, .92]	.81* [.75, .87]	.75* [.67, .83]	1		
RE	.56* [.46, .66]	.66* [.58, .74]	.59* [.51, .67]	.67* [.59, .75]	.78* [.72, .84]	.77* [.69, .85]	.84* [.78, .90]	1	
WM	.45* [.35, .55]	.61* [.53, .69]	.52* [.44, .60]	.58* [.50, .66]	.63* [.55, .71]	.54* [.44, .64]	.74* [.68, .80]	.78* [.72, 84]	1

註：* $p < .05$，中刮號內表示相關係數信賴區間。

Note: * $p < .05$; brackets indicates correlation coefficient confidence interval

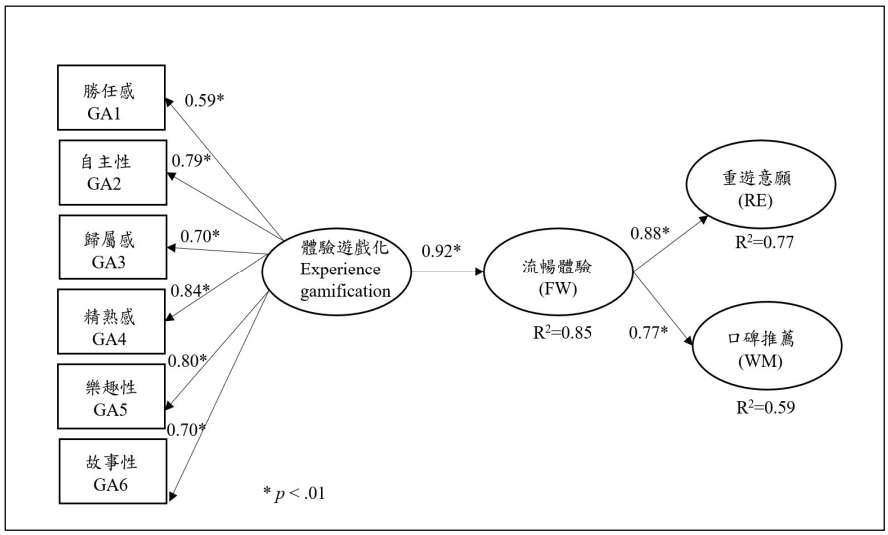


圖2 整體結構方程模式分析結果
Figure 2　Analytical results of the structural equation modeling

(四)流暢體驗之中介效果

1. 流暢體驗在體驗遊戲化與重遊意願間之中介角色

本研究採用Holmbeck (1997)提出之SEM檢驗步驟來評估中介變數，分兩次檢

驗流暢體驗扮演的中介角色。於流暢體驗在體驗遊戲化與重遊意願的中介檢驗流程(詳如表3)，首先，建立一個只有前因變項（體驗遊戲化）與結果變項（重遊意願）之直接關係的模式（M1），並且模式須具良好適配度。其次，建議一個完全中介模式（體驗遊戲化與重遊意願之間並無直接關係，僅經由流暢體驗所產生的間接關係；M2），除了須具良好適配模式，所有路徑係數皆須達顯著性。最後，將比較完全中介模式（M2）與部份中介模式（體驗遊戲化與重遊意願之間具有直接關係，再加上經由流暢體驗的間接關係；M3）。如果隨著增加額外的路徑，使模式由完全中介變為部份中介，而適配度並無明顯改善，則完全中介模式將會成立。相較於M1，M3中變項之間的因果路徑關係若是減少，模式卻依然顯著，則部份中介模式將能成立。

本研究檢驗 M1 具有良好的適配度($\chi^2 = 99.49$, df = 19; GFI = 0.94; CFI = 0.98; RMSEA = 0.102)，體驗遊戲化顯著正向影響重遊意願，標準化路徑係數為 0.80 ($p<0.01$)。完全中介模式（M2）亦具良好適配($\chi^2 = 134.51$; df = 42; GFI = 0.94; CFI = 0.98; RMSEA = 0.073)，模式中所有路徑如同預期皆達顯著，分別為：體驗遊戲化正向影響流暢體驗($\gamma = 0.94$，$p<0.01$)、流暢體驗正向影響重遊意願($\beta = 0.85$，$p<0.01$)。最後步驟是比較完全中介模式（M2）與部份中介模式（M3）；經卡方差異性檢定，證實 2 個模式之間不具顯著差異($\Delta\chi^2 = 0.10$，$p>0.05$)。相較於 M2，增加一條路徑的 M3，其模式與 M2 沒有顯著差異，顯示增加體驗遊戲化對重遊意願的直接路徑不具有部分影響，即支持完全中介模式。故推論流暢體驗在體驗遊戲化與重遊意願之間扮演完全中介角色。

2. 流暢體驗在體驗遊戲化與口碑推薦間之中介角色

於流暢體驗在體驗遊戲化與口碑推薦的中介檢驗流程，首先，建立一個只有前因變項（體驗遊戲化）與結果變項（口碑推薦）之直接關係的模式（M1），並且模式須具良好適配度。其次，建議一個完全中介模式（體驗遊戲化與口碑推薦之間並無直接關係，僅經由流暢體驗所產生的間接關係；M2），除了須具良好適配模式，所有路徑係數皆須達顯著性。最後，將比較完全中介模式（M2）與部份中介模式（體驗遊戲化與口碑推薦之間具有直接關係，再加上經由流暢體驗的間接關係；M3）。如果隨著增加額外的路徑，使模式由完全中介變為部份中介，而適配度並無明顯改善，則完全中介模式將會成立。相較於 M1，M3 中變項之間的因果路徑關係若是減少，模式卻依然顯著，則部份中介模式將能成立。

本研究檢驗 M1 具有良好的適配度($\chi^2 = 66.30$, df = 19; GFI = 0.96; CFI = 0.99; RMSEA = 0.078)，體驗遊戲化顯著正向影響口碑推薦，標準化路徑係數為 0.67 ($p<0.01$)。完全中介模式（M2）亦具良好適配($\chi^2 = 116.86$; df = 42; GFI = 0.95; CFI = 0.99; RMSEA = 0.066)，模式中所有路徑如同預期皆達顯著，分別為：體驗遊戲化正向影響流暢體驗($\gamma = 0.92$，$p<0.01$)、流暢體驗正向影響口碑推薦($\beta = 0.73$，$p<0.01$)。最後步驟是比較完全中介模式（M2）與部份中介模式（M3）；經卡方差異性檢定，證實 2 個模式之間不具顯著差異($\Delta\chi^2 = 0.55$，$p>0.05$)。相較於 M2，增加一條路徑的 M3，其模式與 M2 沒有顯著差異，顯示增加體驗遊戲化對口碑

推薦的直接路徑不具有部分影響，即支持完全中介模式。故推論流暢體驗在體驗遊戲化與口碑推薦之間扮演完全中介角色。

表3　流暢體驗的直接與間接效果分析
Table 3 Direct and indirect effect of flow experience

自變數 Independent variables	依變數 Dependent variables		
	流暢體驗 Flow experience	重遊意願 Revisit intention	口碑推薦 Word of mouth
體驗遊戲化 Experience gamification			
直接效果 Direct effect	0.92*		
間接效果 Indirect effect	--	0.81*	0.71*
總效果 Total effect	0.92*	0.81*	0.71*
流暢體驗 Flow experience			
直接效果 Direct effect		0.88*	0.77*
間接效果 Indirect effect		--	--
總效果 Total effect		0.88*	0.77*

註： * 表示 $p<0.01$

(五)討論

1. 刺激－個體情緒(體驗遊戲化-流暢體驗)關係

本研究結果發現真實環境的刺激會影響個人的情緒，研究指出體驗遊戲化對流暢體驗有正向的影響力，與McGonigal (2011)、Snodgrass 等人(2016)研究提出遊戲化中的任務和挑戰讓消費者產生了喜悅、滿足和興奮之類的積極情緒觀點相符。而體驗遊戲化構面對流暢體驗的影響順序分別為：「精熟感」、「樂趣性」、「自主性」、「歸屬感」、「故事性」及「勝任感」。

在精熟感構面中以「我覺得這裡的參與過程能帶給我豐富感官體驗」、「我覺得我可以透過這裡去探索一些新的人事物」等項是消費者認同程度較高。實證桃米休閒農業區所進行的桃米遊戲書－導覽式闖關探索，透過桃米遊戲書-蛙ㄟ守衛戰，探索桃米生態及歷史故事，參與者們分組進行闖關，並有專業解說員講故事、帶領導覽、闖關解說，獲勝的一方可得精美獎勵，體驗過程滿足消費者之精熟感需求（鼓勵消費者完成全通關並達成解謎活動目標）。雙潭休閒農業區內的山板樵休閒農場提供十二生肖臉譜家族彩繪、木製客家藍衫、貓頭鷹咕咕家族彩繪、原木藝術畫框臉譜彩繪等多樣DIY項目，是可以讓消費者逐步依自己能力精進彩繪水準。

在樂趣性構面中以「我覺得這裡的體驗過程可以激發個人想像力」、「我覺得這裡的活動可以激發我的好奇心」等項是消費者認同程度較高。桃米休閒農業區

的解說員經驗豐富，在桃米不管是白天的社區遊憩及生態導覽、夜間賞蛙體驗或賞螢季活動等，均展現生動有趣；雙潭休閒農業區內的山板樵休閒農場提供臉譜彩繪 DIY、卓也小屋提供藍染體驗 DIY，彩繪與製作過程可以依消費者個人喜好進行創作，皆可激發消費者之想像力和好奇心。

在自主性構面中以「我可以自由選擇參與這裡活動的方式」、「我可以依照自己興趣選擇這裡的活動內容」等項是消費者認同程度較高。桃米休閒農業區提供各式農事體驗、生態導覽、野餐、手作食材體驗、遠足等體驗活動；雙潭休閒農業區則有提供林木彩繪、蔬食風味餐體驗、工藝體驗、採果、果醬 DIY、果醋等 DIY 及下午茶品嘗行程，皆可讓消費者依個人需求自由選擇組合活動方式和內容。

在歸屬感構面中以「和其他人共同參與這裡的活動讓我感到舒服」、「我喜歡這裡所提供活動參與者社交互動的機會」等項是消費者認同程度較高。桃米休閒農業區提供桃米遊戲書－導覽式闖關探索，參與者們分組進行闖關，提供消費者彼此間互動交流的機會。而雙潭休閒農業區所提供的工藝體驗、撿拾雞蛋、製作蛋捲、採果、果醬、果醋等 DIY 活動，也可以讓消費者彼此之間進行交流活動。

在故事性構面中以「我從一開始就對這裡的源起感到有興趣」、「我喜歡這裡的相關故事或報導」等項是消費者認同程度較高。桃米休閒農業區擁有生態價值最高的溼地，多樣性豐富的蛙類、蜻蛉、蝴蝶等生態環境，經歷 921 地震的衝擊，居民從家園的山與水中找到重建的契機，培育出專業的生態解說員推動生態保育及綠色旅遊等故事內容吸引消費者。雙潭休閒農業區則以雲海日出、山嵐、綠林、果園、木雕、臉譜彩繪、植物藍染等文化產業體驗、古蹟欣賞(勝興火車站、龍騰斷橋)、挑炭古道等客家文化等宣傳吸引消費者前來。

在勝任感構面中以「我覺得我的體力在這裡活動是沒有問題的」、「我有能力參加這裡的活動」等項是消費者認同程度較高。兩處實證場域規劃有農事體驗、活動民俗文化及娛樂活動、戶外休閒育樂活動及教育學習等活動，安排在 60~90 分鐘體驗，對於各類型消費者之體能皆可負荷。

2.個體情緒－反應(流暢體驗－重遊意願與口碑推薦)關係

本研究結果發現個人的情緒會產生行為反應。研究顯示: 流暢體驗會正向顯著影響重遊意願及口碑推薦。證實消費者對體驗遊戲化越有好的流暢體驗，越對休閒農業區產生重遊意願。推論消費者對實證場域參與過程能帶給豐富感官體驗、體驗過程可以激發個人想像力或可以自由選擇參與這裡活動的方式等引發消費者流暢體驗，進而提升對休閒農業區的重遊意願。此結果支持 Kim 與 Thapa (2018)的研究，認為參加生態觀光遊程旅客的流暢體驗會影響消費者的環境責任行為和目的地忠誠。還有，流暢體驗對口碑推薦有正向的影響，這可能與消費者對休閒農業區的體驗認知，讓消費者全神貫注在活動當中、參與活動時時間似乎過得很快，有助於消費者進行口碑推薦。此結果與 Meng and Han (2019)之觀點相符，他們提出流暢體驗有助於騎乘自行車旅遊者良好的行為意圖，包括:重訪意

願和口碑推薦。

3.流暢體驗之中介效果

本研究發現流暢體驗也分別在「體驗遊戲化與重遊意願」以及「體驗遊戲化與口碑推薦」之間，發揮完全中介的效果。在「體驗遊戲化與重遊意願」關係中，顯示消費者對休閒農業區體驗遊戲化越有正面感受，會隨著個人流暢體驗之強化作用，進而影響重遊意願。此結果與 Sweetser 與 Wyeth (2005)、 O'Cass 與 Carlson (2010)之觀點相符，他們提出愈具遊戲化，有助於提升流暢體驗，消費者會愈有較高的重遊意願。另外，就「體驗遊戲化與口碑推薦」之關係，顯示當消費者愈能從休閒農業區的體驗更能感受遊戲化，隨著流暢體驗之增強效果，進而產生口碑推薦。此結果與 Kiili (2005)、O'Cass & Carlson (2010)的論點相符，他們指出消費者的流暢體驗會中介遊戲化與口碑推薦的關係。

結論與建議

一、結論

本研究是第一個驗證應用 S-O-R 理論在休閒農業區體驗遊戲化模式，對於瞭解體驗遊戲化的情緒及反應行為提出一個完整的理論架構。茲將研究結論說明如下：

首先，本研究奠基於自我決定論的三項需求 (Deci & Ryan, 2002)及內在動機 (Liu et al., 2019)整理休閒農業區體驗遊戲化內涵包括：勝任感、自主性、歸屬感、精熟感、有趣性及故事性等 6 構面，與先前研究節慶遊戲化量表包括: 勝任感、歸屬感、精熟感、有趣性及故事性等 5 構面 (Liu et al., 2019)，本研究增加了自主性一項構面，顯示休閒農業區體驗遊戲化，提供參與者可以自由選擇活動項目外，也可讓其自由創作，從中展現創作風格。

其次，本研究探討如何強化休閒農業區體驗遊戲化提升流暢體驗，先前遊戲化研究提出社交、情感和創造沉浸式體驗 (Xu, 2011)，或是讓消費者沉浸在模擬旅行中來增強消費者體驗世界，特別是針對自然界的幻想和樂趣的體驗 (Sigala, 2015)，或是觀眾透過虛擬實境科技的生動性、互動性和遠距性等影響流暢體驗 (Kim & Ko, 2019)，卻沒有像本研究證實了自我決定論的三項需求及內在動機概念是一個廣泛的遊戲化範圍，能夠有效衡量休閒農業區體驗遊戲化的參與。

另外，從整體模式來看，本研究證實流暢體驗為重要的中介變數。當消費者對休閒農業區體驗遊戲化越有感受時，他們就越有流暢體驗，最終形成行為意圖。先前多數研究都集中探討流暢體驗與滿意度(Kim, & Ko, 2019)、或流暢體驗與購買意願(Liu et al., 2016)、或是流暢體驗與消費者對品牌承諾和積極參與(Fu et al., 2020)。這一發現可被視為開創性的，為休閒農業區的流暢體驗研究奠定未來研究的基礎。

二、管理意涵

透過前述的模式，建議業者強化休閒農業區體驗遊戲化內涵，分為「精熟感」、「樂趣性」、「自主性」、「歸屬感」、「故事性」及「勝任感」，提供消費者多樣的體驗遊戲化。首先，在精熟感部分(如:參與過程中不斷激勵我，繼續把這裡的活動完成、透過活動中我覺得自己的相關能力有逐漸進步)，建議桃米休閒農業區可以將桃米遊戲書-蛙ㄟ守衛戰，可依親子、國小及國中等客群規劃分級挑戰的關卡，且在導覽過程中，設計蛙、蝴蝶及蜻蛉等生態食物鏈遊戲闖關的挑戰，讓參與消費者在遊戲過程中逐步提升生態知識。此外，雙潭休閒農業區可以將區內的藍染、臉譜彩繪、陶藝製作等分解不同技能的等級體驗活動，讓參與活動的消費者在體驗過程中逐步提升自己的相關製作技能。

在樂趣性部分(如:這裡的活動設計讓我感受到創意巧思)，建議相關單位創造一個有趣的、農村文化與環境體驗的氣氛，讓消費者有機會融入氛圍中。例如：在各關卡設計時，規劃消費者穿著果農或農夫的服裝和裝備，進行採果體驗比賽(如百香果、樹葡萄、筊白筍等)；或是可以將五行養生的概念，提供消費者學習製作水果醋、果醬、蛋捲、麵線或傳統農家糕點小吃，在現場邊學、邊做、邊玩融入農家生活情境中，讓人有好玩的感覺。

在自主性部分(如:從本農業區活動參與的經驗中反思自己的日常生活經驗、這裡活動可以讓我展現自己的風格)，建議相關單位將特色職人(如:農夫、果農、茶農、木雕師)的基本技能和進階技能等採以現場專人講解，輔以圖繪或影片方式讓消費者對相關技能有基本認識，除了讓消費者可以自由選擇活動項目外，也可讓其自由創作相關體驗作品，從中展現自己的作品風格。像是: 雙潭休閒農業區可以將區內的藍染、臉譜彩繪、陶藝等製作符合時下年輕人喜歡的動漫 IP 角色(如:海賊王、飛天小女警等)，規劃 Q 版作品範本，以利消費者依其喜好的風格進行創作。

在歸屬感部分(如: 我喜歡在這裡的活動中和其他參與者的互動)，建議相關單位將體驗活動採競賽積分排行榜方式，給予各分組任務目標及關卡設計，讓小組成員之間學習團隊合作達成任務，並採一季計算各組的積分，公布於農業區的官方網站，讓消費者更有榮譽感。例如:將休閒農業區內的重要景點、休閒農場、田媽媽餐廳、民宿、特色職人(如:農夫、果農、茶農、木雕師)等設計半日遊、一日遊或二日遊等遊戲闖關套裝行程票券，提供親子、公司或學校等客群分組比賽並提供當地優質伴手禮做為競賽獎品，以帶動消費者之間的互動交流機會。

在故事性部分(如: 我了解這裡的相關背景故事)，建議相關單位將農村文化、文化佚事、典故傳說與遊戲角色融合，依親子、國小及國中、輕熟女等客群編寫遊戲腳本，例如:以輕熟女族群為例，遊戲背景故事可以這樣設定：Flora 被稱為花之女神，掌管著這世上所有美麗的花朵，需要輕熟女的幫忙，從闖關過程中獲得各項女神技能。遊戲關卡分為「漂亮外形」和「美麗生活」2 種，結合休閒農業區相關體驗活動完成所有的關卡，就可以獲得多項女神技能。

在勝任感部分(如: 我覺得這裡活動的內容我都可以做得很好)，由於一般消費者對於山板樵休閒農場臉譜繪製和卓也小屋的藍染技法樣式，恐需花費時間學

習，建議相關單位將活動體驗所需工藝技術，可以編製成圖卡、影片或 QR code 語音導覽，以利消費者在體驗過程中可以按圖索驥學習，提升消費者體驗的勝任感受。另外，建議山板樵休閒農場可以將彩繪作品依人生希冀祈求快樂、智慧、健康、財富、婚姻、幸福等所對應的神明臉譜予以分類陳列，以利消費者依其需求和能力選擇體驗。

此外，透過流暢體驗會引發重遊意願和口碑推薦。建議相關單位提出強化消費者對休閒農業區流暢體驗的產品或活動設計，例如：「你廚藝同樂了嗎」，建議可以安排消費者學習阿嬤手路菜，跟好友一起分享廚藝手作的心流感受；或是「你共享園藝好時光了嗎」，讓消費者運用當地的植物或園藝素材，藉由盆栽手作過程，觸摸泥土、體驗花草植物的生命力，從中獲得流暢體驗，進而引發其重遊和口碑推薦的行為。

三、研究限制與後續研究建議

本研究採橫斷面研究法，資料分析僅以單一時點衡量各變數之認知。就長期觀點而言，消費者對這些變數的認知可能有所改變，因此結果難免會有些偏誤，此為本文之研究限制之一；此外，建議未來研究可以其他體驗類型的自然教育中心的消費者為調查對象，以實證本研究提出體驗遊戲化模式之外部效度。建議後續可加入自我形象一致性(Fu et al., 2020)、自我擴展(Kerviler & Rodriguez, 2019)中介角色的檢定，以便提供不同見解的理論模式，或於後端行為模式中加入消費者投入(Thakur, 2018)的討論，以深入瞭解上述變數對休閒農業區體驗遊戲化之影響。

引用文獻

1. 行政院農業委員會全球資訊網 (2019) 。*推動特色休閒農業旅遊*。下載日期：2020 年 08 月 23 日。取自：https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=2504015。
2. 農業易遊網 (2020)。雙潭休閒農業區。下載日期：2021 年 01 月 15 日。取自：https://ezgo.coa.gov.tw/zh-TW/Front/Agri/Detail/22。
3. 農業易遊網 (2020)。桃米休閒農業區。下載日期：2021 年 01 月 15 日。取自：https://ezgo.coa.gov.tw/zh-TW/Front/Agri/Detail/49。
4. 顏建賢 (2008) 。休閒農業與台灣鄉村活化策略。*鄉村旅遊研究*，*2*(1)，53-62。
5. Bulencea, P., & Egger, R. (2015). Gamification in Tourism: Designing Memorable Experiences. Books on Demand: Norderstedt, Germany.
6. Calvo-Porral, C., Faíña-Medín, A., & Nieto-Mengotti, M. (2017). Exploring technology satisfaction: An approach through the flow experience. *Computers in Human Behavior*, *66*, 400-408.
7. Charlett, D., Garland, R., & Marr, N. (1995). How damaging is negative word of mouth. *Marketing Bulletin*, *6*(1), 42-50.
8. Chen, J. (2007). Flow in games (and everything else). *Communications of the ACM*, *50*(4), 31-34.
9. Crawford, C. (2011). The art of computer game design (Kindle ed.). Seattle: Amazon Digital Services, Inc.
10. Csikszentmihalyi, M. (1975). *Beyond boredom and anxiety*. San Francisco: Jossey-Bass.
11. Csikszentmihalyi, M., & Csikszentmihalyi, I.S. (1992). *Optimal Experience: Psychological Studies of Flow in Consciousness.* Cambridge : Cambridge University Press.

12. Deci, E. L. , & Ryan, R. M. (2002). *Handbook of Self-Determination Research.* The University of Rochester Press.
13. Ettis, S. A. (2017).Examining the relationships between online store atmospheric color, flow experience and consumer behavior. *Journal of Retailing and Consumer Services.37*, 43-55.
14. Fu, X., Kang, J., Hahm, J. J., & Wiitala, J. (2020). Investigating the consequences of theme park experience through the lenses of self-congruity and flow. *International Journal of Contemporary Hospitality Management, 32* (3),1181-1199.
15. Groh, F. (2012). Gamification: State of the Art Definition and Utilization. *Research Trends in Media Informatics*, 39-46.
16. Hair, J. E., Jr., Black, W. C., Babin, B. J., & Anderson, R. E. (2019). *Multivariate data analysis* (8th ed.). UK: Cengage.
17. Han, S. (1988). The relationship between life satisfaction and flow in elderly Korean immigrants. In M. Csikszentmihalyi & I. S. Csikszentmihalyi (Eds.), *Optimal experience: Psychological studies of flow in consciousness* (pp.138-149). New York: Cambridge University Press.
18. Holmbeck, G. N. (1997). Toward terminological, conceptual, and statistical clarity in the study of mediators and moderators: Examples from the child-clinical and pediatric psychology literatures. *Journal of Consulting & Clinical Psychology, 65*(4), 599-610.
19. Hu, L. T., & Bentler, P. M. (1999). Cutoff criteria for fit indexes in covariance structure analysis: Conventional criteria versus new alternatives. *Structural Equation Modeling, 6*(1), 1-55.
20. Hu, R., & Shang, J. (2018). Application of gamification to blended learning in elementary math instructional design. In *International Conference on Blended Learning* (pp. 93-104). Springer, Cham.
21. Huotari, K., & Hamari, J. (2017). A definition for gamification: anchoring gamification in the service marketing literature. *Electronic Markets*, *27*(1), 21-31.
22. Jang, M., Lee, R., & Yoo, B. (2019). Does fun or freebie increase in-app purchase?. *Information Systems and e-Business Management*, 1-19.
23. Jöreskog. K. G., & Sörbom, D. (1993). *LISREL 8: A guide to the program and applications*. Chicago: SPSS Inc.
24. Kerviler, G. D., &Rodriguez, C. M. (2019). Luxury brand experiences and relationship quality for Millennials: The role of self-expansion. *Journal of Business Research,102*,250-262.
25. Kiili, K. (2005). Digital game-based learning: toward an experiential gaming model, *Internet and Higher Education, 8,* 13-24.
26. Kim, T., Kim, W. G., & Kim, H.-B. (2009). The effects of perceived justice on recovery satisfaction, trust, word-of-mouth, and revisit intention in upscale hotels. *Tourism Management, 30*(1), 51-62.
27. Kim, D., & Ko, Y. J. (2019). The impact of virtual reality (VR) technology on sport spectators' flow experience and satisfaction. *Computers in human behavior*, *93*, 346-356.
28. Kim, M. & Thapa, B. (2018).Perceived value and flow experience: Application in a nature-based tourism context. *Journal of destination marketing & management, 8,* 373-384.
29. Koivisto, J., & Hamari, J. (2019). The rise of motivational information systems: A review of gamification research. *International Journal of Information Management*, *45*, 191-210.
30. Liu, H., Chu, H., Huang, Q., & Chen, X. (2016). Enhancing the flow experience of consumers in China through interpersonal interaction in social commerce. *Computers in Human Behavior*, *58*, 306-314.
31. Liu, C.-R., Wang, Y.-C., Huang, W.-S., & Chen, S.-P. (2019). Destination fascination: Conceptualization and scale development. *Tourism Management, 63*, 255-267.
32. Loureiro, S. M. C. L., & Kaufmann, H. R. (2012). Explaining love of wine brands. *Journal of Promotion Management, 18*(3), 329-343.

33. Lu, A. S. (2015). Narrative in Exergames: Thoughts on Procedure, Mechanism, and Others. *Games For Health Journal, 4*(1), 19-24.
34. McGonigal, J. (2011). *Reality is Broken: Why Games Make Us Better and How They Can Change the World.* Penguin Group USA.
35. Mehrabian, A. & Russell, J. A. (1974). *An approach to environmental psychology*. Cambridge, MA: MIT Press.
36. Meng, B., & Han, H. (2019). Multiple attributes of cycling tourism in travelers' decision-making process. *Journal of Quality Assurance in Hospitality & Tourism*, *20*(3), 317-338.
37. Moyer-Gusé, E. (2008). Toward a theory of entertainment persuasion: Explaining the persuasive effects of entertainment-education messages. *Communication Theory, 18*, 407- 425.
38. Oaklander, V. (1988). *Windows to our children: A Gestalt therapy approach to children and adolescents*. Center for Gestalt Development.
39. O'Cass, A., & Carlson, J. (2010). Examining the effects of website-induced flow in professional sporting team websites. *Internet research, 20*(2), 115-134.
40. Pine, I. I. B. J., & Gilmore, J. H. (1999). *The Experience Economy: Work is Theatre and Every Business a Stage*. Boston: HBS.
41. Przybylski, A. K., Deci, E. L., Rigby, C. S., & Ryan, R. M. (2014). Competence-impeding electronic games and players' aggressive feelings, thoughts, and behaviors, *Journal of Personality and Social Psychology*, *106*(3), 441-457.
42. Ryan,R. M., & Deci, E. L. (2000). Intrinsic and Extrinsic Motivations: Classic Definitions and New Directions, *Contemporary Educational Psychology,* 25, 54-67.
43. Ryan, R. M., Rigby, C.S., & Przybylski A. (2006). The Motivational Pull of Video Games: A Self-Determination Theory Approach. *Motive Emotion*, *30*, 347-363.
44. Sailer, M., Hense, J., Mandl, H., & Klevers, M. (2017). Fostering development of work competencies and motivation via gamification. In *Competence-based Vocational and Professional Education* (pp. 795-818). Springer, Cham.
45. Sigala, M. (2015). The application and impact of gamification funware on trip planning and experiences: The case of TripAdvisor's funware. *Electronic Markets*, *25*(3),189-209.
46. Snodgrass, J. G., Lacy, M. G., Dengah, H. F., Batchelder, G., Eisenhower, S., & Thompson, R. S. (2016). Culture and the jitters: guild affiliation and online gaming eustress/distress. *Ethos*, *44*(1), 50-78.
47. Sweetser, P., & Wyeth, P. (2005). Game Flow: a model for evaluating player enjoyment in games, Computers in Entertainment, *3*(3), 3-3.
48. Thakur, R. (2018). Customer engagement and online reviews. *Journal of Retailing and Consumer Services.41*, 48-59.
49. Xu, Y. (2011). Literature review on web application gamification and analytics. *Honolulu, HI*, 11-15.
50. Xu, F., Weber, J., & Buhalis, D. (2014). Gamification in Tourism, *Technologies in Tourism*, 525-536.
51. Xu, F., Buhalis, D., & Weber, J. (2017). Serious games and the gamification of tourism. *Tourism Management*, *60*, 244-256.
52. Zichermann, G., & Linder, J. (2010). *The Gamification Revolution: How Leaders Leverage Game Mechanics to Crush the Competition*. McGraw-Hill.

玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素對豬卵母細胞體外成熟暨隨後胚發育之影響

計畫編號　：108-中基-農-2
計畫主辦人：林育安
執行機關　：國立宜蘭大學
執行期間　：108 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 日

摘　　要

本研究的目的是探討玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素以及解毒劑對嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞體外成熟暨隨後發育之影響。自屠宰場剪取含有 3 ～ 5 mm 濾泡之豬卵巢，挑選具有 3 層以上且緊密包覆卵母細胞之卵丘-卵母細胞複合體，以逢機處理方式分別置於含有 0、0.5、1.0、2.0 與 4.0 μM 之嘔吐毒素 M199 成熟培養液中培養 48 小時，之後再進行豬卵母細胞體外成熟、激活與胚發育之研究。試驗結果顯示，培養於 0、0.5、1.0、2.0 與 4.0 μM 之嘔吐毒素 M199 成熟培養液中之豬卵母細胞，其體外成熟率分別為 83.3%、83.0%、78.3%、74.2% 與 56.7% (P<0.05)。激活試驗方面：對照組與 0.5 μM 組之激活率無顯著差異，但隨著嘔吐毒素濃度增加，卵母細胞之激活率有下降之趨勢 (P<0.05)。卵裂試驗方面：以對照組之卵裂率最高，隨著嘔吐毒素濃度增加，卵母細胞之卵裂率有下降之趨勢 (P<0.05)。

玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素試驗方面，豬卵母細胞成熟試驗，對照組、F2 (8 μM) 組、DON (1 μM) 組、F2 (8 μM) + DON (1 μM) 組之卵母細胞成熟率分別為 83.3%、40.9%、77.6% 與 34.5% (P<0.05)。激活試驗方面：以對照組最高，F2 (8 μM) + DON (1 μM) 組最低 (P<0.05)。卵裂試驗方面：以對照組最高 (P<0.05)，F2 (8 μM) 組與 F2 (8 μM) + DON (1 μM) 組之卵裂率低於 30%。顯示玉米赤黴烯酮之劑量為 8 μM 時，會降低激活後豬卵母細胞之卵裂率，當 F2 (8 μM) 與 DON (1 μM) 聯合處理時，會使卵裂率有下降之趨勢，並且也無法發育到囊胚階段。

將豬卵母細胞分別置於含有 0、0.1%、0.2% 與 0.4% 解毒劑之 2 μM 嘔吐毒素之 M199 成熟培養液中培養 48 小時，之後再進行豬卵母細胞體外成熟、激活與胚發育之研究。試驗結果顯示，0.1 % 組的豬卵母細胞的體外成熟率與對照組無顯著差異，當添加到 0.2% 時，可以提升卵母細胞的成熟率 (P<0.05)，但 0.2% 組和 0.4% 組無顯著差異。激活率方面： 0.2% 組和 0.4% 組的激活率高於對照組和 0.1 % 組，但 0.2% 組和 0.4% 組彼此間無顯著差異。胚發育率方面：添加 0.2% 的解毒劑對於胚的發育率有改善作用並且囊胚發育率也高於對照組，但和 0.4% 組無顯著差異。解毒劑 (0、0.1%、0.2% 與 0.4%) 對於玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合作用的處理效果，研究結果顯示隨著解毒劑劑量的增加，對於豬卵母細胞的成熟率有改善作用，但 0.2% 組和 0.4% 組無顯著差異。激活率方面，0.2% 組和 0.4% 組高於對照組 (P<0.05)，但 0.2% 組和 0.4% 組無顯著差異。胚發育率方面：分別為 18.7%、32.9%、38.2%

與 39.3%，隨著解毒劑量的增加，對於胚發育有改善作用，以 0.2 %組高於對照組與 0.1% 組 (P<0.05)，但 0.2% 組和 0.4% 組無顯著差異，對於囊胚發育率也有改善作用。

關鍵詞：嘔吐毒素、豬卵母細胞、體外成熟

前　　言

台灣處在高溫多溼的環境氣候，穀物或飼料若貯存稍有不當時，即很容易因受潮而發黴，致使黴菌大量滋生並產生毒素。黴菌毒素的種類繁多，例如黃麴毒素 (Liu *et al*., 2015)、赭麴毒素 (Zgang *et al*., 2019)、伏馬鐮孢毒素 (Li *et al*., 2021)、玉米赤黴烯酮 (Sambuu *et al*., 2011) 與嘔吐毒素(Lai *et al*., 2015) 等。在這幾種毒素中，與繁殖障礙有相關性的為玉米赤黴烯酮，玉米赤黴烯酮會產生類似動情素之物質，造成雌性動物會有假發情現象 (Binder *et al*., 2017)。母豬若攝食含有玉米赤黴烯酮之飼料，其發情週期受到干擾後將會影響母豬之繁殖效率。此外，還有一種常伴隨著玉米赤黴烯酮一起發生的黴菌毒素為嘔吐毒素，一般人往往只考慮到玉米赤黴烯酮與繁殖障礙有相關，卻因此而忽略了其伴隨著的毒素---嘔吐毒素。雖然嘔吐毒素主要是造成豬隻的嘔吐與腸道絨毛萎縮現象發生，但是其毒素也是會因豬隻採食穀物或飼料後，經由腸壁進入微血管中並輸送到身體各部位器官，若此毒素進入豬隻之生殖器官，也會干擾影響生殖系統之正常運作或是造成生殖細胞受到傷害等，這方面許多人都會因此而忽略了。至於嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素對豬卵母細胞成熟與後續發育影響如何尚未知曉。目前，國內外有關玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞成熟與後續發育影響之文獻報告極為有限。此外，玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合的劑量對於國內豬隻卵巢之卵母細胞影響如何、玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合何時就會開始對豬卵母細胞外圍的卵丘細胞造成傷害或死亡，以及卵丘細胞擴散的情形等，這方面的相關資料仍很欠缺。

因此，本研究的目的是要探討玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞體外成熟暨隨後發育之影響。待相關之資料建立好後，後續再探討解毒劑對玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合作用效果之研發，希望能解決母豬因玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合感染所引起之繁殖障礙問題，以提高母豬之繁殖效率。希望能對產業界、學術界以及人類醫學疾病等方面均能夠有實際之幫助與貢獻。

材料與方法

一、卵母細胞之來源及前處理步驟

本試驗所使用之豬卵母細胞，係取自當地屠宰場所屠宰肉豬卵巢。肉豬經屠宰燙毛剖腹後，立即以高壓滅菌過之剪刀，將腹腔兩側之卵巢取下，置於 35～37℃ 之磷酸緩衝溶液 (phosphate buffered saline, PBS; GIBCO Cat. No. 450–1300) 中，並於一小時內將所取得之卵巢攜回實驗室處理。卵巢先於 PBS 中清洗並將其所殘留之血液擠出後，置於直徑 5 公分含有 PBS 之培養皿內，於室溫下以解剖刀將卵巢表面直徑 3 ~ 5 mm 之濾泡逐一刺破，使卵丘-卵母細胞複合體隨著濾泡液流出。略將上層懸浮液抽取後，在顯微鏡下以吸管挑選並收集具有 3～5 層以上卵丘包被完整之卵丘-卵母細胞複合體 (圖 1) 。將其置於含 PBS 之培養皿中，待收集完成後，以 PBS 清洗卵丘-卵母細胞複合體三次，逢機置於各試驗處理組別中，進行體外成熟、體外受精及胚發育試驗之用。

二、卵母細胞體外成熟

(一) M-199 組織培養液 (tissue culture medium; M-199)

試驗以 M-199 (Gibco No. 21200-076) 為成熟培養液，並依據 Wang *et al*. (1997) 所述配製。

(二) 豬濾泡液 (porcine follicular fluid; PFF)

卵巢置於 PBS 中清洗並將其所殘留之血液擠出，置於滅菌之衛生紙上將表面擦乾，再以 23 G 針筒抽取濾泡液，經匯集於試管並遠心分離 600xg (1000 rpm、10 分鐘、4℃) 後，取上清液分裝於 1.5 ml 離心管中，每管 1 ml 貯存於 -20℃ 之冷凍櫃中，待使用時取出解凍。

(三) 體外成熟培養之步驟

將卵丘細胞包被完整之卵母細胞以 PBS 清洗三次，再以體外成熟培養液清洗 1 次，以吸管逢機選擇的方式吸取卵丘-卵母細胞複合體，分別置入各試驗處理組別之培養皿 (直徑 3.5 公分) 中，各培養皿分別滴三滴 50 μl 微滴之成熟培養液，每一微滴含有 10 個卵丘-卵母細胞複合體，並在培養液之上層覆蓋 2 ml 之礦物油 (Sigma No. M-8410)，然後置於 39℃、5% CO_2、95% 空氣與相對濕度為 95～100% 之培養箱內培養 48 小時。

三、卵母細胞之激活處理

(一) 激活液之配製

(1). 電激激活液之配製

電激激活液之配製則依據 Hagen *et al*. (1991) 所述之方法，分別先

配製下列溶液:

(1). 甘露醇 (mannitol) 之配製

稱 1.09 g 之甘露醇，溶解於 10 ml 蒸餾水中 (0.6 M)，以 0.22 μm 細菌濾膜過濾，裝於 10 ml 離心管並置於 -4℃ 冰箱中。

(2). BSA 之配製

稱 100 mg 之 BSA，溶解於 10 ml 蒸餾水中，以 0.22 μm 細菌濾膜過濾，裝於 10 ml 離心管並置於 -4℃ 冰箱中。

(3). Hbt (Hepes-buffered Tyrode's medium) 之配製

Hbt 之配製則依據 Bavister *et al*. (1983) 所示之成分配製，經 0.22 μm 濾膜過濾，裝於 100 ml 滅菌玻璃瓶置於 -4℃ 冰箱中冷藏。

待要作激活處理時，分別取出 5ml 之甘露醇、1 ml BSA 和 0.5 ml Hbt，再加 3.5 ml 之蒸餾水至 10 ml，並調 pH 至 7.5。此時為含有 0.3 M 之甘露醇 (mannitol)、1 mg/ml BSA 和 5% Hbt 之電激活液。

(二) 激活卵母細胞之體外培養

經不同激活處理之卵母細胞，以胚培養液清洗 3 次，置入 50 μl 微滴之胚培養液，每一微滴含有 10 個孤雌激活之卵母細胞，並在培養液之上層覆蓋 2 ml 之礦物油，然後置於 39℃、5% CO_2、95% 空氣與相對濕度為 95 ~ 100% 之培養箱內培養 16 小時或 144 小時 (6 天)。觀察並記錄卵母細胞雌原核形成或是卵裂的情形。

四、卵、激活卵或胚之固定染色與發育評估

(一) 卵母細胞之固定與成熟評估

成熟培養 48 小時後將卵取出，依據 Abeydeera *et al*. (1998) 所述之方法，將卵分別鑲錶定置 (mounting) 於載玻片上，封蠟 (蠟 ： 凡士林 = 1 : 1)，並立即置入固定液 (無水酒精 ： 冰醋酸 = 3 : 1, v/v) 中浸泡固定 48 小時之後取出，放入無水酒精中浸泡 5 分鐘，再以 1% 之 Lacmoid (1g Lacmoid 溶於 45 ml 冰醋酸中，加去離子水 100 ml，加熱煮沸 30 分鐘，冷卻、以濾紙過濾，裝瓶) 染劑進行染色，並立即置於位相差顯微鏡下檢查其成熟情形。

卵母細胞減數分裂各階段之判定，係依據 Hunter and Polge (1966) 所述：包括生發泡期 (Germinal Vesicle, GV)、第一次減數分裂前期 (Prophase I; Pro I)、第一次減數分裂中期 (Metaphase I, Met I)、第一次減數分裂後期 (Anaphase I, Ana I)、第一次減數分裂末期 (Telophase I, Tel I) 與第二次減數分裂中期 (Metaphase II, Met II)。當檢查卵母細胞時，發現卵內具有一個極體 (poly body) 與一組染色

體，則可認定為發育到 Met II 之成熟卵母細胞 (圖 2)。本試驗卵母細胞成熟率之計算，是以已成熟之卵母細胞佔該組提供培養之總卵母細胞數之百分率。

(三) 卵母細胞激活之評估

卵母細胞激活 (圖 3) 之判斷則依據 Wang *et al*. (1998) 所述之方法為之。檢查結果如果卵母細胞從成熟階段 (Met II) 發育到第二次減數分裂後期 (Anaphase II; Ana II) 、第二次減數分裂末期 (Telophase II; Tel II) 或是有雌原核形成時，則判定為被孤雌激活。原核發育之情形則依據 Hyttel *et al*. (1988) 所述，分為四類: 第一類：為原核正要形成，不具核膜，只有一大群濃縮的染色質。第二類：為在類似小原核結構內具有異質染色質。第三類：為類似典型原核之結構，具有同質之核膜，但比正常的小。第四類：為具有同樣大小之原核及同質核膜。本試驗卵母細胞激活率之計算，是以已被激活之卵母細胞佔該組體外成熟之總卵母細胞數之百分率。

(四) 激活後胚發育之評估

卵激活後繼續培養 6 日 (144 小時)，之後觀察胚 (圖 4) 發育之情形。胚發育期別之判定則依據吳 (1990) 所述之方法為之。先將胚置於位相差顯微鏡下觀察胚葉細胞 (blastomere) 之數目，並配合固定與染色方法，以確認胚葉細胞之細胞核數目，作為胚發育期別判定之依據，若在鏡檢外觀上，未發現正常之胚葉細胞時，均歸列為未進一步發育者，胚方面則以 Lacmoid 染色計算胚細胞數。本試驗激活後正常胚發育率之計算，是以經鏡檢確認含 2 個胚葉細胞 (含細胞核) 以上至發育到囊胚的胚數，佔該組經體外成熟提供激活之總卵母細胞數之百分率。

結果與討論

一、嘔吐毒素對豬卵母細胞之體外成熟、激活與卵裂發育之影響

(一) 嘔吐毒素對豬卵母細胞於體外成熟之影響

豬卵母細胞分別培養於含有 0 μM (對照組)、0.5 μM、1.0 μM、2.0 μM 與 4.0 μM 之 M-199 成熟培養液中成熟培養 48 小時，成熟率如表 1 所示。結果顯示，0.5 μM 組之豬卵母細胞成熟率與對照組無顯著差異，都在 83% 以上，但當嘔吐毒素的濃度為 1.0 μM 時，豬卵母細胞之成熟率顯著低於對照組 ($P<0.05$)。隨著嘔吐毒素濃度的增高，豬卵母細胞之成熟率有下降的趨勢 ($P<0.05$)。顯示嘔吐毒素的濃度為 1.0 μM 時對豬卵母細胞之成熟會有抑制作用，當添加的濃度為 4.0 μM 時，豬卵母細胞之成熟率為 60% 以下。

(二) 嘔吐毒素對體外成熟豬卵母細胞激活之影響

試驗結果如表 2 所示，對照組與 0.5 μM 組彼此間之激活率無顯著差異。當嘔吐毒素的濃度增加到 1.0 μM，卵母細胞之激活率只有 70.2%，當嘔吐毒素的濃度增加到 2.0 μM 時，卵母細胞之激活率與 1.0 μM 組無顯著差異，以 4.0 μM 組卵母細胞之激活率最低 ($P<0.05$)。顯示嘔吐毒素的濃度增加除了會抑制豬卵母細胞的成熟外，也會影響卵母細胞後續的激活情形，隨著嘔吐毒素濃度的增加，豬卵母細胞的激活率有下降趨勢。相對地，1N2P 的形成率也會隨著嘔吐毒素濃度的增加而下降。

(三) 嘔吐毒素對體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

試驗結果如表 3 所示，體外成熟之豬卵母細胞經激活後卵裂率，以對照組最高，4.0 μM 組最低 ($P<0.05$)。對照組發育到囊胚的比率為 17.1%，隨著嘔吐毒素濃度之增加，發育到囊胚之比率有下降之趨勢，當嘔吐毒素的濃度為 4.0 μM，激活後之卵母細胞卵裂到桑椹胚階段就無法發育到囊胚階段。顯示豬卵母細胞經 0.5 μM 嘔吐毒素作用後，會降低豬卵母細胞之卵裂率以及影響胚之發育機制。

二、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞之體外成熟、激活與卵裂發育之影響

(一) 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞體外成熟之影響

結果如表 4 所示，對照組卵母細胞之成熟率可達 80% 以上，F2 (8 μM) 組豬卵母細胞之成熟率只有對照組的一半 ($P<0.05$)，豬卵母細胞培養於含有 1 μM 的嘔吐毒素中，卵母細胞之成熟率為 77.6%，當豬卵母細胞培養於玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (1 μM) 結合的成熟培養液中，卵母細胞的成熟率相對地比單獨培養在 F2 (8 μM) 與 DON (1 μM) 還低($P<0.05$)。顯示玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (1 μM) 結合具有加成作用，會對豬卵母細胞之成熟產生抑制作用而降低成熟率。

(二) 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞激活之影響

結果如表 5 所示，豬卵母細胞單獨培養於含有玉米赤黴烯酮 (8 μM)、嘔吐毒素 (1 μM) 或玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 之結合，豬卵母細胞之激活率均顯著低於對照組 ($P<0.05$)。1N2P 方面，以玉米赤黴烯酮 (8 μM) 組與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 組最低 ($P<0.05$)。顯示玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素都會影響豬卵母細胞之激活作用，因而降低激活率，當玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (1 μM) 結合作用，發現豬卵母細胞之激活率與玉米赤黴烯酮 (8 μM) 組之激活率，彼此間無顯著差異。

(三) 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

結果如表 6 所示，以對照組之卵裂率最高，玉米赤黴烯酮 (8 μM) 組與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 組最低 (P<0.05)，但玉米赤黴烯酮 (8 μM) 組與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 組，彼此間無顯著差異。顯示玉米赤黴烯酮 (8 μM)、嘔吐毒素 (1 μM) 與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 之結合都會影響豬卵母細胞的卵裂，因而降低了豬卵母細胞的卵裂率。囊胚發育率方面，以對照組最高，玉米赤黴烯酮 (8 μM) 組與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 組最低，發育到 8 細胞階段就無法繼續發育了 (P<0.05)。顯示玉米赤黴烯酮 (8 μM)、嘔吐毒素 (1 μM) 與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 之結合都會影響豬卵母細胞的卵裂發育，但以玉米赤黴烯酮 (8 μM)組與玉米赤黴烯酮 (8 μM) + 嘔吐毒素 (1 μM) 組，對豬卵母細胞的卵裂發育影響顯著高於嘔吐毒素 (1 μM) 組。

三、玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對豬卵母細胞之體外成熟、激活與卵裂發育之影響

(一) 玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對豬卵母細胞之體外成熟之影響

結果如表 7 所示，於含有嘔吐毒素 (2 μM) 之豬卵母細胞成熟培養液中，分別以添加 2% 與 4% 之解毒劑，發現 2% 組與 4% 組對於於豬卵母細胞之成熟率有改善作用 (P<0.05)，但 2% 組與 4% 組，彼此間無顯著差異。顯示添加 2% 之解毒劑於嘔吐毒素 (2 μM) 中，可以降解嘔吐毒素對豬卵母細胞成熟之傷害。

(二) 玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對豬卵母細胞激活之影響

豬卵母細胞培養於含有 2 μM 之嘔吐毒素中，豬卵母細胞之激活率在 68% 以上，當添加 0.1% 之解毒劑於含有 2 μM 之嘔吐毒素中，對豬卵母細胞之激活率並無改善作用。解毒劑添加量增加到 0.2% 時，對豬卵母細胞之激活率有提升作用，當添加量達到 4% 時，豬卵母細胞之激活率也並沒有提升的效果，顯示添加 0.2% 解毒劑，可以降解嘔吐毒素之毒性，以降低對豬卵母細胞之傷害。1N2P 方面，以添加 4% 解毒劑組高於對照組 (P<0.05)，對照組、添加 1% 組與 2% 組，彼此間無顯著差異，結果如表 8 所示。

(三) 玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

結果如表 9 所示，添加 0.2% 與 0.4% 解毒劑於含有 2 μM 之嘔吐毒素中，對豬卵母細胞之卵裂率有改善作用 (P<0.05)，但 0.2% 組與 0.4% 組，彼此間無顯著差異。囊胚發育率方面，添加 0.1% 解毒劑對囊胚發育率無改善之效

果，當添加 0.2% 解毒劑時，則可以提升囊胚發育率，但 0.2% 組與 0.4% 組，彼此間無顯著差異。顯示 0.2% 解毒劑對 2 μM 之嘔吐毒素具有降解作用，降低對豬卵母細胞之傷害。

四、玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合之豬卵母細胞體外成熟、激活與卵裂發育之影響

(一) 玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合之豬卵母細胞體外成熟之影響

結果如表 10 所示，添加 0.1% 解毒劑於含有玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之成熟液中，可以改善豬卵母細胞之成熟率，從 34% 提升到 60% 以上 ($P<0.05$)，隨著添加比率之增加，豬卵母細胞之成熟率有增加的現象，但 2% 組與 4% 組彼此間無顯著差異。顯示添加 0.1% 解毒劑對豬卵母細胞之成熟率有改善作用。

(二) 玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合之豬卵母細胞激活之影響

結果如表 11 所示，豬卵母細胞培養於含有玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之成熟培養液中，經激活後豬卵母細胞之激活率為 29.1%，添加 0.1% 解毒劑於含有玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之成熟培養液中，豬卵母細胞之激活率有提升作用 ($P<0.05$)，隨著解毒劑添加之增加，相對地豬卵母細胞之激活率也有增加之趨勢，但 0.2% 組與 0.4% 組彼此間無顯著差異。顯示添加 0.1% 解毒劑可以降解毒性對豬卵母細胞之傷害。

(三)、玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素解毒劑對玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合之豬卵母細胞卵裂發育之影響

結果如表 12 所示，玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合組之卵裂率為 18.7%，添加有 0.1% 解毒劑組其豬卵母細胞之卵裂率可達到 32.9%，顯示解毒劑可以降解玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 之毒性。當提升解毒劑的比率為 0.2% 與 0.4%，有助於豬卵母細胞卵裂率之提升，但 0.2% 組與 0.4% 組彼此間無顯著差異。

結　　論

取自屠宰場雌肉豬卵巢之卵丘-卵母細胞複合體，培養於含 20% 豬濾泡液之 M-199 成熟培養液，探討嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞體外成熟暨隨後發育之影響。嘔吐毒素濃度試驗方面：結果顯示，嘔吐毒素為 1 μM 時，會降低豬卵母細胞之成熟率、激活率與卵裂率，並且隨著嘔吐毒素濃度之增加，豬卵母細胞之成熟率、激活率與卵裂率有下降之趨勢，當嘔吐毒素為 4 μM 時，豬卵母細胞卵裂發育到桑椹胚就終止，無法發育到囊胚。玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合試驗方面：結果顯示，F2 (8 μM) 組、DON (1 μM) 組與 F2 (8 μM) + DON (1 μM) 組豬卵母細胞之成熟率、激活率與卵裂率均顯著低於對照組 ($P<0.05$)，以 F2 (8 μM) + DON (1 μM) 組最低，並且卵裂發育到桑椹胚期就無法繼續發育。解毒劑對含有 DON (2 μM) 之豬卵母細胞進行試驗方面：結果顯示，添加 0.2% 解毒劑對含有 DON (2 μM) 豬卵母細胞之成熟率、激活率與卵裂率均有助益作用，囊胚發育率高於對照組 ($P<0.05$)。解毒劑對 F2 (8 μM) 結合 DON (1 μM) 協同作用之研究方面：結果顯示，添加 0.1% 的解毒劑對豬卵母細胞之成熟率、激活率與卵裂率均有改善作用，以 0.2% 組與 0.4% 組最高 ($P<0.05$)，但二組並無顯著差異。添加 0.1% 的解毒劑於含有 F2 (8 μM) 與 DON (1 μM) 結合之成熟培養液中，對豬卵母細胞之卵裂發育有改善作用，可以發育到囊胚階段。

執行成果與效益評估及建議

台灣處於高溫多溼的環境中，經濟性動物的飼料易因保存不當而受潮發黴，導致黴菌滋生並產生黴菌毒素，其中以玉米赤黴烯酮會影響豬隻的繁殖性能，造成母豬假發情和不排卵，降低母豬的繁殖效率。玉米赤黴烯酮於飼料中發生的同時也常伴隨著嘔吐毒素，玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素以及玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合作用，對於豬卵母細胞之影響為何，以及解毒劑對玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合作用效果如何，這方面的相關資料仍很欠缺。因此具有研究之重要性，希望能降低或解決飼料中玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素以及玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合污染之問題，以提高母豬之繁殖效能。

本階段已完成並建立玉米赤黴烯酮、嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合處理對豬卵母細胞、激活與後續胚發育之影響，以及玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對豬卵母細胞、激活與後續胚發育之影響。希望能降低或解決飼料中玉米赤黴烯酮和嘔吐毒素污染之問題，提高母豬之繁殖效能。

參考文獻

1. 吳信志。1990。「培養液中添加內泌素和豬濾泡液對豬卵母細胞于體外成熟和受精後發育能力之影響」。國立中興大學畜牧學研究所碩士論文。
2. Abeydeera LR, Wang WH, Cantley TC. 1998. Presence of epidermal growth factor during *in vitro* maturation of pig oocytes and embryo culture can modulate blastocyst development after *in vitro* fertilization. Mol. Reprod. Dev. 51:395-401.
3. Bavister BD, Leibfried ML, Liebermann G. 1983. Development of preimplantation embryos of the golden hamster is a defined culture medium. Biol. Reprod. 28:235-247.
4. Binder SB, Schwartz-Zimmermann HE, Varga E, Bichl G, Michlmayr H, Adam G, Berthiller F. 2017. Toxins 8, 9(2):pii E56.
5. Hagen DR, Prather RS, First NL. 1991. Response of porcine oocytes to electrical and chemical activation during maturation *in vitro*. Mol. Reprod. Dev. 28:70-73.
6. Hunter RHF, Polge C. 1966. Maturation of follicular oocytes in the pig after injection of human chorionic gonadotrophin. J. Reprod. Fert. 12: 525-531.
7. Hyttel P, Greve T, Callesen H. 1988. Ultrastructure of *in vivo* fertilization in superovulated cattle. J. Reprod. Fert. 74:657-660.
8. Lai, FN, Ma JY, Liu JC, Wang JJ, Cheng SF, Sun XF, Li , Li , Nyachot CM, Shen W. 2015. The influence of N-acetyl-L-cysteine on damage of porcine oocyte exposed to zearalenone *in vitro*. Toxicology and Applied Pharmacology 289:341-348.
9. Li W, Zhao H, Zhuang R, Wang Y, Cao W, He Y, Jiang Y, Rui R, Ju S. 2021. Fumonisin B1 exposure adversely affects porcine oocyte maturation in vitro by inducing mitochondrial dysfunction and oxidative stress. Theriogenology 164:1-11.
10. Liu J. Wang QC, Han J, Xiong B, Sun SC. 2015. Aflatoxin B1 is toxic to porcine oocyte maturation. Mutagenesis 30(4)：527-535.
11. Sambuu R, Takagi M, Namula Z, Otoi T, Shiga S, Santos R.R.D, Fink-Gremmels J. 2011. Effects of exposure to zearalenone on porcine oocytes and sperm during maturation and fertilization in vitro. J. Reprod. Dev. 57(4)547-550.
12. Wang WH, Machaty Z, Abeydeera LR, Prather RS, and Day BN. 1998. Parthenogenetic activation of pig oocytes with calcium ionophore and the block to sperm penetration after activation. Biol. Reprod. 58:1357-1366.
13. Wang WH, Sun QY, Hoses M, Shioya Y, Day BN. 1997. Quantified analysis of cortical granule distribution and exocytosis of porcine

oocytes during meiotic maturation and activation. Biol. Reprod. 56:1376-1382.
14. Zgang TY, Sun XF, Li L, Ma JM. Zhang RQ, Li N, Liu XL, Dvce PW, Shen W. 2019. Ocharatoxin a exposure impairs porcine granulose cell growth via the PI3K/AKT. J. Agric. Food Chem. 67(9):2679-2690.

Effect of zearalenone (ZEN) and deoxynivalenol (DON) on the *in vitro* maturation and their subsequent developmental of porcine oocytes

Yu-An Lin

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of zearalenone, deoxynivalenol and antidote on deoxynivalenol, the combination of zearalenone and deoxynivalenol on the in vitro maturation and development of porcine oocytes. The pig ovaries containing 3~5 mm follicles were cut from the slaughterhouse, and the cumulus-oocyte complexes with more than 3 layers and tightly wrapped oocytes were selected, and the cumulus-oocyte complexes was cultured in M199 maturation medium containing 0, 0.5, 1.0, 2.0, and 4.0 μM of deoxynivalenol by random for 48 hours, and then studied the in vitro maturation, activation and embryo development of porcine oocytes. The test results showed that the in vitro maturation rates of porcine oocytes cultured in 0, 0.5, 1.0, 2.0, and 4.0 μM deoxynivalenol M199 maturation medium were 83.3%, 83.0%, 78.3%, 74.2%, and 56.7%, respectively ($P<0.05$). In terms of activation test: there is no significant difference in the activation rate between the control group and the 0.5 μM group, but as the concentration of deoxynivalenol increases, the activation rate of oocytes tends to decrease ($P<0.05$). In terms of cleavage test: the control group had the highest cleavage rate. As the concentration of deoxynivalenol increases, the cleavage rate of oocytes tends to decrease ($P<0.05$).

About Zearalenone and deoxynivalenol test, in terms of porcine oocyte maturation test: The cell maturation rates of control group, F2 (8 μM) group, DON (1 μM) group, F2 (8 μM) + DON (1 μM) group oocytes were 83.3%, 40.9%, 77.6% and 34.5% ($P<0.05$). In terms of activation test: the control group was the highest, and the F2 (8 μM) + DON (1 μM) group was the lowest ($P<0.05$). In terms of cleavage test: the control group was the highest ($P<0.05$), and the cleavage rate of the F2 (8 μM) group and F2 (8 μM) + DON (1 μM) group was less than 30%. The results shows that when the dose of zearalenone is 8 μM, the cleavage rate of porcine oocytes after

activation will be reduced. When F2 (8 μM) and DON (1 μM) are combined, the cleavage rate will decrease. and cannot develop to the blastocyst stage.

Porcine oocytes were cultured in M199 maturation medium with 2 μM deoxynivalenol containing 0, 0.1%, 0.2%, and 0.4% antidote for 48 hours, and then study maturation, activation, and embryo development of the porcine oocytes in vitro. The results showed that the in vitro maturation rate of pig oocytes in the 0.1% group was not significantly different from the control group. When added to 0.2%, the maturation rate could be increased ($P<0.05$), but there is no significant difference between 0.2% group and 0.4% group. In terms of activation rate: the 0.2% group and the 0.4% group is higher than of the control group and the 0.1% group, but there is no significant difference between the 0.2% group and the 0.4% group. In terms of embryo development rate: adding 0.2% antidote can improve the embryo development rate and the blastocyst development rate is also higher than the control group, but there is no significant difference from the 0.4% group. The effect of treating the combined of zearalenone (8 μM) and vomiting toxin (2 μM) with antidote (0, 0.1%, 0.2% and 0.4%), The results showed that as the dose of antidote increased, the maturation rate of porcine oocytes was improved, but there was no significant difference between the 0.2% group and the 0.4% group. In terms of activation rate, the 0.2% group and 0.4% group were higher than the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference between the 0.2% group and the 0.4% group. In terms of embryo development rate: 18.7%, 32.9%, 38.2% and 39.3%, respectively. As the dose of antidote increased, the embryo development improved. The 0.2% group is higher than the control group and the 0.1% group ($P<0.05$) However, there was no significant difference between the 0.2% group and the 0.4% group, and it also improved the development rate of blastocysts.

Key words: Deoxynivalenol (DON), Pig oocyte, *In vitro* maturation

表 1. 嘔吐毒素對豬卵母細胞於體外成熟之影響

Table 1. Effect of DON on porcine oocytes maturation *in vitro*

組別 Group (μM)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	生發泡 (%) GV (%)	第一次減數分裂中期卵母細胞 (%) Met I (%)	成熟卵母細胞 (%) Met II (%)
0	90 (3)	3.3±0.1^{d}	13.3±0.5^{b}	83.3±0.6^{a}
0.5	82 (3)	9.7±1.5^{c}	7.4±0.6^{d}	83.0±1.0^{a}
1.0	74 (3)	10.9±2.7^{bc}	10.8±1.7^{c}	78.3±1.0^{b}
2.0	89 (3)	13.5±0.7^{b}	12.3±1.4^{bc}	74.2±0.8^{c}
4.0	90 (3)	21.1±1.0^{a}	22.2±1.0^{a}	56.7±0.5^{d}

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c, d) 者，表示具有統計上差異 ($P<0.05$)。

Different superscripts (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

表 2. 嘔吐毒素對體外成熟豬卵母細胞激活之影響

Table 2. Effect of DON on the activation of IVM porcine oocytes

組別 Group (μM)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	成熟率 (%) Met II (%)	激活率 (%) Activated (%)	1N2P (%)
0	89 (3)	84.3±1.3[a]	82.7±2.4[a]	49.3±1.2[a]
0.5	91 (3)	83.5±0.3[a]	81.6±2.1[a]	48.7±1.2[a]
1.0	88 (3)	76.1±1.2[b]	70.2±1.7[b]	35.7±2.2[b]
2.0	88 (3)	71.6±1.7[c]	68.3±1.7[b]	34.9±1.5[b]
4.0	93 (3)	55.9±2.4[d]	47.9±3.6[c]	26.9±1.6[c]

N: 原核 (Pronuclear)。

P: 極體 (Polar body)。

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c, d) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 3. 嘔吐毒素對體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

Table 3. Effect of DON on developmental competence of *in vitro* maturation porcine oocytes after activation

組別 Group (μM)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes (Replicates)	卵裂率 (%) Cleavage (%)	2 細胞 (%) 2-cell (%)	4 細胞 (%) 4-cell (%)	8 細胞 (%) 8-cell (%)	桑椹胚 (%) Morula (%)	囊胚 (%) Blastocyst (%)
0	88 (3)	78.4±1.7^{a}	9.1±2.7^{b}	14.8±1.7^{b}	18.2±1.7^{b}	19.3±1.2^{a}	17.1±0.7^{a}
0.5	89 (3)	73.0±1.4^{b}	7.8±1.6^{b}	13.4±2.7^{b}	25.8±0.8^{a}	15.8±2.6^{b}	10.1±0.5^{b}
1.0	85 (3)	65.9±1.8^{c}	14.1±0.3^{a}	21.2±0.4^{a}	15.3±2.2^{c}	11.7±1.8^{c}	3.5±0.1^{c}
2.0	89 (3)	52.8±0.9^{d}	14.6±1.8^{a}	16.9±3.7^{b}	10.1±0.2^{e}	9.0±1.8^{d}	2.2±1.9^{c}
4.0	91 (3)	36.2±1.6^{e}	7.7±1.5^{b}	7.7±1.5^{c}	13.2±0.7^{d}	7.7±2.0^{d}	0.0±0.0^{d}

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c, d, e) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c, d, e) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 4. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對豬卵母細胞於體外成熟之影響

Table 4. Effect of F2 and DON combination on porcine oocytes maturation *in vitro*

組別 Group	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	生發泡 (%) GV (%)	第一次減數分裂中期卵母細胞 (%) Met I (%)	成熟卵母細胞 (%) Met II (%)
Control	90 (3)	1.1±1.9[d]	15.6±2.3[a]	83.3±1.1[a]
F2 (8 μM)	93 (3)	44.1±1.0[b]	15.1±2.0[a]	40.9±1.0[c]
DON (1 μM)	89 (3)	12.3±1.4[c]	10.1±0.5[b]	77.6±1.0[b]
F2 (8 μM) +DON (1 μM)	90 (3)	51.1±1.0[a]	14.4±1.5[a]	34.5±2.2[d]

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c, d) 者，表示具有統計上差異 ($P<0.05$)。

Different superscripts (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

表 5. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對體外成熟豬卵母細胞激活之影響

Table 5. Effect of F2 and DON combination on the activation of IVM porcine oocytes

組別 Group	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	成熟率 (%) Met II (%)	激活率 (%) Activated (%)	1N2P (%)
Control	89 (3)	83.1±0.9[a]	79.7±1.3[a]	48.8±3.1[a]
F2 (8 μM)	89 (3)	41.6±1.7[c]	35.0±3.0[c]	13.5±4.5[c]
DON (1 μM)	92 (3)	77.2±0.8[b]	70.4±1.4[b]	35.2±0.7[b]
F2 (8 μM) +DON (1 μM)	90 (3)	34.4±1.1[d]	32.1±3.7[c]	12.7±4.7[c]

N: 原核 (Pronuclear)。

P: 極體 (Polar body)。

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c, d) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 6 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素結合對體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

Table 6. Effect of F2 and DON combination on developmental competence of *in vitro* maturation porcine oocytes after activation

組別 Group	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes (Replicates)	卵裂率 (%) Cleavage (%)	2 細胞 (%) 2-cell (%)	4 細胞 (%) 4-cell (%)	8 細胞 (%) 8-cell (%)	桑椹胚 (%) Morula (%)	囊胚 (%) Blastocyst (%)
Control	89 (3)	76.5±2.2[a]	7.9±2.4[b]	11.2±1.9[c]	20.3±1.1[a]	19.1±1.1[a]	18.0±1.3[a]
F2 (8 μM)	91 (3)	27.5±1.4[c]	6.6±0.1[b]	15.4±1.8[b]	55.5±1.9[c]	0.0±0.0[c]	0.0±0.0[c]
DON (1 μM)	93 (3)	65.6±1.1[b]	14.0±2.3[a]	21.5± 1.3[a]	15.1±2.0[b]	11.8±1.6[b]	3.2±0.1[b]
F2 (8 μM) +DON (1 μM)	90 (3)	26.7±0.9[c]	8.9±1.7[b]	14.5± 2.4[c]	3.3±0.1[c]	0.0±0.0[c]	0.0±0.0[c]

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 7. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含嘔吐毒素 (2 μM) 豬卵母細胞於體外成熟之影響

Table 7. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on contain DON (2 μM) porcine oocytes maturation *in vitro*

組別 Group (%)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	生發泡 (%) GV (%)	第一次減數分裂中期卵母細胞 (%) Met I (%)	成熟卵母細胞 (%) Met II (%)
Control	89 (3)	11.2±1.8[a]	14.6±1.8[b]	74.2±1.5[b]
0.1%	88 (3)	9.2±2.3[a]	14.7±1.2[b]	76.1±1.2[b]
0.2%	90 (3)	3.3±0.1[b]	17.8±1.4[a]	78.9±1.4[a]
0.4%	86 (3)	2.4±2.1[b]	18.6±1.4[a]	79.0±1.1[a]

同行中數據不具相同英文字母 (a, b) 者，表示具有統計上差異 ($P<0.05$)。

Different superscripts (a, b) in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

表 8. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含嘔吐毒素 (2 μM) 體外成熟豬卵母細胞激活之影響

Table 8. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on the activation of contain DON (2 μM) IVM porcine oocytes

組別 Group (%)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	成熟率 (%) Met II (%)	激活率 (%) Activated (%)	1 N 2 P (%)
Control	88 (3)	72.7±1.1^{b}	68.8±1.0^{b}	31.2±1.0^{b}
0.1%	89 (3)	75.3±1.8^{ab}	68.7±0.8^{b}	32.9±3.1^{ab}
0.2%	90 (3)	77.8±1.4^{a}	71.4±2.2^{ab}	34.3±0.9^{ab}
0.4%	89 (3)	77.6±1.5^{a}	72.5±2.5^{a}	34.8±0.3^{a}

N: 原核 (Pronuclear)。

P: 極體 (Polar body)。

同行中數據不具相同英文字母 (a, b) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 9. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含嘔吐毒素 (2 μM) 體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

Table 9. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on developmental competence of contain DON (2 μM) *in vitro* maturation porcine oocytes after activation

組別 Group	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes (Replicates)	卵裂率 (%) Cleavage (%)	2 細胞 (%) 2-cell (%)	4 細胞 (%) 4-cell (%)	8 細胞 (%) 8-cell (%)	桑椹胚 (%) Morula (%)	囊胚 (%) Blastocyst (%)
Control	87 (3)	64.3±2.1^{c}	18.3±3,0^{a}	20.7±1.3^{a}	11.5±1.7^{a}	9.3±2.3^{a}	4.6±1.9^{b}
0.1	88 (3)	64.8±0.6^{bc}	13.7±12.9^{ab}	22.7±1.4^{a}	12.5±2.0^{a}	10.2±0.5^{a}	5.7±1,8^{ab}
0.2	86 (3)	68.7±2.4^{a}	10.6±3.8^{b}	23.2±1.8^{a}	14.0±0.6^{a}	11.6±1.5^{a}	9.3±2.0^{a}
0.4	89 (3)	68.5±2.2^{ab}	10.0± 2.9^{b}	23.5±2.2^{a}	14.7±2.8^{a}	11.2±1.9^{a}	9.0±2.1^{a}

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 10. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之豬卵母細胞於體外成熟之影響

Table 10. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on contain F2 (8 μM) and DON (2 μM) combination on porcine oocytes maturation *in vitro*

組別 Group (%)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	生發泡 (%) GV (%)	第一次減數分裂中期卵母細胞 (%) Met I (%)	成熟卵母細胞 (%) Met II (%)
Control	89 (3)	49.4±1.0[a]	15.7±2.1[c]	34.8±1.7[c]
0.1%	91 (3)	18.7±2.3[b]	20.9±1.5[b]	60.4±0.8[b]
0.2%	88 (3)	9.1±2.1[c]	25.0±1.7[a]	65.9±1.4[a]
0.4%	85 (3)	7.1±0.4[c]	25.9±0.9[a]	67.1±0.7[a]

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 11. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之體外成熟豬卵母細胞激活之影響

Table 11. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on the activation of contain F2 (8 μM) and DON (2 μM) combination IVM porcine oocytes

組別 Group (%)	受檢卵數 (重複數) No. of oocytes examined (Replicates)	成熟率 (%) Met II (%)	激活率 (%) Activated (%)	1N2P (%)
Control	88 (3)	35.2±1.8^{c}	29.1±1.6^{c}	3.3±5.8^{b}
0.1%	89 (3)	60.7±0.7^{b}	57.4±1.7^{b}	25.9±2.2^{a}
0.2%	89 (3)	66.3±0.7^{a}	62.7±2.5^{a}	28.9±3.4^{a}
0.4%	88 (3)	68.2±1.7^{a}	63.4±1.6^{a}	31.7±3.2^{a}

N: 原核 (Pronuclear)。

P: 極體 (Polar body)。

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 12. 玉米赤黴烯酮與嘔吐毒素解毒劑對含玉米赤黴烯酮 (8 μM) 與嘔吐毒素 (2 μM) 結合之體外成熟豬卵母細胞激活後卵裂發育之影響

Table 12. Effect of F2 and DON antidote (FDA) on developmental competence of contain F2 (8 μM) and DON (2 μM) combination *in vitro* maturation porcine oocytes after activation

組別	受檢卵數	卵裂率	2 細胞	4 細胞	8 細胞	桑椹胚	囊胚
	(重複數)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Group	No. of oocytes	Cleavage	2-cell	4-cell	8-cell	Morula	Blastocyst
	(Replicates)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Control	91 (3)	18.7±1.8^{c}	5.5±1.9^{ab}	6.6±0.1^{b}	6.6±0.1^{c}	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}
0.1%	85 (3)	32.9±0.7^{b}	5.9±2.0^{ab}	9.4±1.7^{ab}	10.6±0.6^{b}	4.7±1.8^{a}	2.4±2.1^{ab}
0.2%	89 (3)	38.2±1.7^{a}	6.8±0.1^{a}	10.1±3.3^{ab}	12.4±2.1^{ab}	5.6±1.9^{a}	3.3±0.1^{a}
0.4%	89 (3)	39.3±0.7^{a}	3.4±0.2^{b}	11.2±1.5^{a}	13.5±0.7^{a}	6.8±0.3^{a}	4.5±1.9^{a}

同行中數據不具相同英文字母 (a, b, c) 者，表示具有統計上差異 (P<0.05)。

Different superscripts (a, b, c) in the same column indicate significant differences (P<0.05).

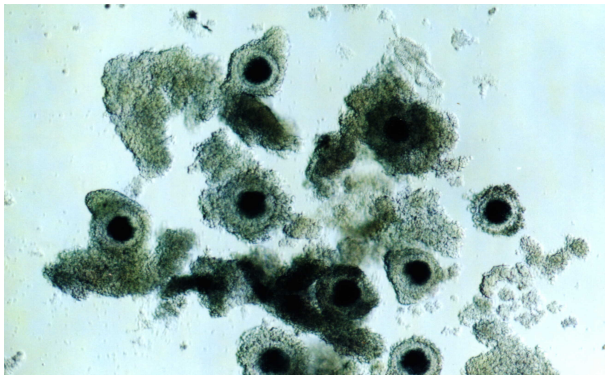


圖 1.卵丘-卵母細胞複合體 (400x)

Fig. 1. Cumulus-oocyte complex (400x)

圖 2. 發育到成熟階段之豬卵母細胞 (400x)

Fig. 2. Development to maturation stage of porcine oocyte (400x)

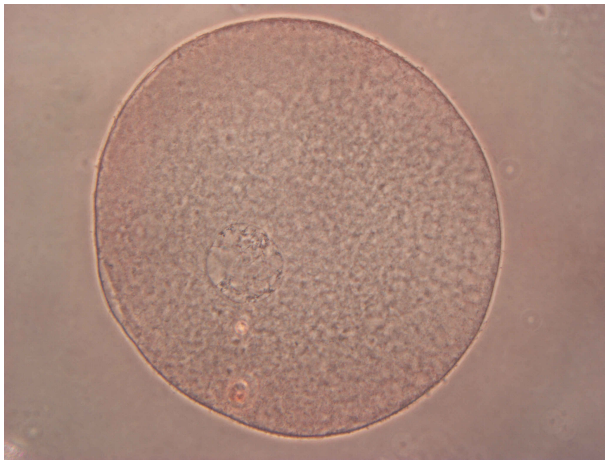


圖 3.為被激活的卵母細胞 (400x)

Fig. 3. Activated oocyte (400x)

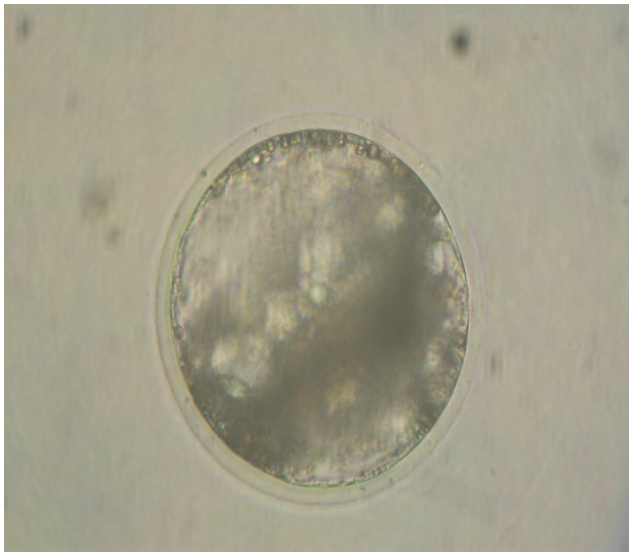


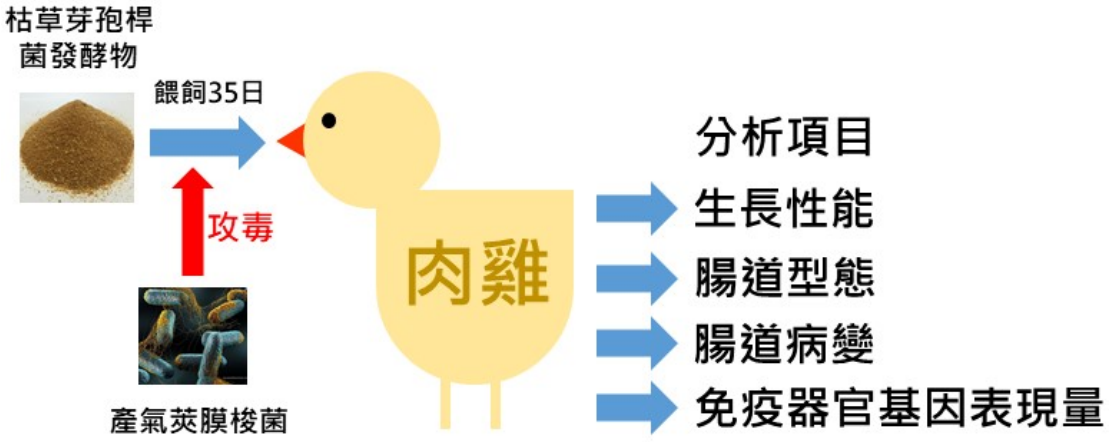
圖 4. 激活後發育到囊胚階段的胚 (400x)

Fig. 4. Development to blastocyst stage of embryo after being activated (400x)

富含抗菌脂肽之枯草芽孢桿菌發酵產物對白肉雞腸道菌相、免疫調節、生長性能及預防產氣莢膜梭菌之影響

游玉祥副教授 / 國立宜蘭大學

肉雞於傳統飼養環境容易緊迫而導致免疫力低弱，此外，病原菌的感染易造成肉雞長期處於慢性發炎現象，使肉雞消耗更多能量而影響其生長表現，導致飼養成本提高，而過去常於飼料中添加抗生素以預防疾病、調節免疫系統和改善生長性能，然而，全球對畜牧生產的要求已走向全面禁止抗生素的添加，此外，近年來由於消費者對無藥物殘留及安全食品日趨重視，開發用於預防肉雞疾病且無抗藥性的抗生素替代物有其迫切性。枯草芽孢桿菌是可合法添加於動物飼料之益生菌，本研究團隊於前年度試驗成果已證實枯草芽孢桿菌發酵物能改善肉雞之生長性能、腸道型態及骨骼重量，本年度將以引起家禽壞死性腸炎之產氣莢膜梭菌感染肉雞模式，藉由與抗生素比較，以評估枯草芽孢桿菌發酵物對肉雞生長性能、腸道型態、腸道病變及免疫器官基因表現量之影響(圖一)。肉雞之生長性能結果顯示，4 日枯草芽孢桿菌發酵物於攻毒模式下能顯著改善肉雞之體重(21 日齡)及飼料轉換率(1-21 日齡)，並較抗生素處理組佳，此外，枯草芽孢桿菌發酵物(4 日及 6 日)能使平均日增重恢復至與未攻毒組一致且改善效果和抗生素處理組相同。在腸道型態上，枯草芽孢桿菌發酵物(4 日及 6 日)能使十二指腸及空腸的絨毛高度恢復至與未攻毒組一致且改善效果和抗生素處理組相同。在腸道病變計分上，4 日枯草芽孢桿菌發酵物於攻毒模式下能顯著改善 21 日齡肉雞之腸道病變(十二指腸、空腸及迴腸)。在免疫器官基因表現量上，4 日枯草芽孢桿菌發酵物於攻毒模式下能顯著降低 35 日齡肉雞之免疫器官(脾臟及華氏囊)的促發炎基因(IFN-γ 及 IL-1β)表現量。綜合上述，於肉雞之產氣莢膜梭菌攻毒模式下，4 日枯草芽孢桿菌發酵物具有與抗生素於改善生長性能和腸道型態、預防腸道病變及降低免疫器官促發炎基因表現量之相同功效，因此，枯草芽孢桿菌發酵物具有作為抗生素替代物之潛力。



圖一、試驗架構

Items	CTRL		CP		BMD		4DF		6DF	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
體重 (公克/每隻)										
1 d	46.0	0	46.7	0.6	46.0	0	46.7	0.6	46.0	0
21 d	917.0^{ab}	16.4	858.7^{c}	80.8	897.0^{b}	52.4	963.8^{a}	46.8	934.3^{ab}	21.8
35 d	1903.3	98.7	1766.7	5.8	2096.7	123.5	1993.3	5.8	1938.3	286.0
平均日增重 (公克/每隻)										
1-21 d	41.3^{a}	0.6	38.7^{b}	4.2	40.3^{a}	2.1	43.7^{a}	2.1	42.0^{a}	1.0
22-35 d	70.7	6.7	65.0	5.3	75.0	5.0	73.3	2.5	72.7	21.5
1-35 d	53.0	2.7	49.0	0	58.7	3.5	56.0	1.7	54.0	8.2
平均日採食量 (公克/每隻)										
1-21 d	57.8	3.3	54.2	1.3	55.3	3.6	55.4	3.0	57.0	1.0
22-35 d	127.9	9.0	130.8	10.7	129.7	8.3	128.3	9.0	126.7	7.0
1-35 d	93.5	7.9	87.2	6.6	98.6	0.9	91.8	6.0	90.7	2.1
飼料轉換率										
1-21 d	1.4^{bc}	0.1	1.4^{c}	0.1	1.4^{b}	0.1	1.3^{a}	0.1	1.4^{ab}	0.02
22-35 d	1.8	0.6	2.0	0.1	1.7	1.1	1.8	0.1	1.7	0.9
1-35 d	1.8	0.1	1.8	0.1	1.7	0.1	1.6	0.1	1.7	0.1

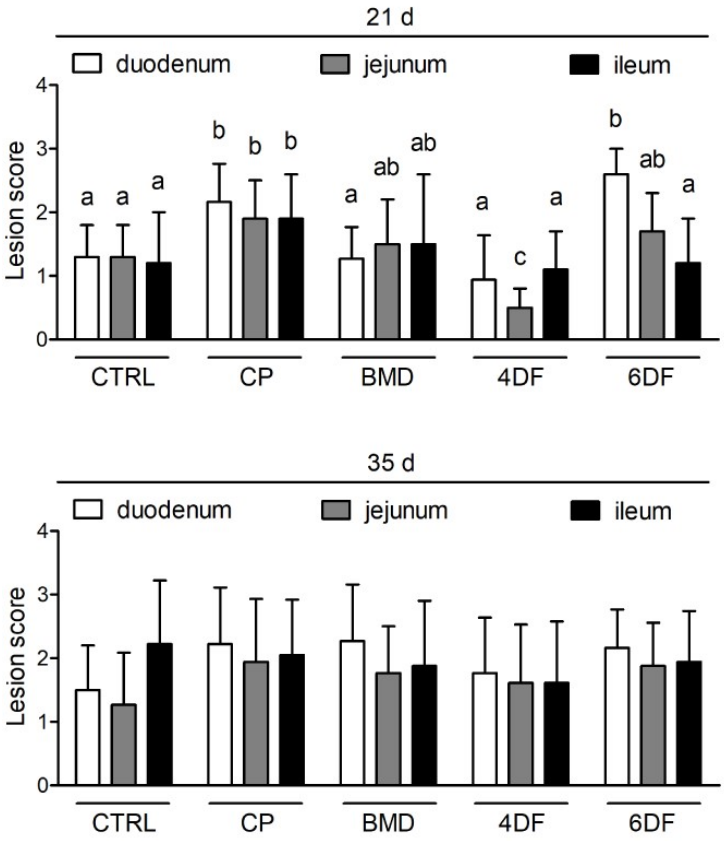
CTRL 為未經產氣莢膜梭菌攻毒組；CP 為產氣莢膜梭菌攻毒組；BMD 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配抗生素處理組；4DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 4 日枯草芽孢桿菌發酵物；6DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 6 日枯草芽孢桿菌發酵物。不同上標字母代表各組間具統計上顯著度($P < 0.05$)。

▲枯草芽孢桿菌發酵物能改善肉雞經攻毒後之生長性能

Items	CTRL		CP		BMD		4DF		6DF	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
十二指腸										
絨毛高(μm)	998.25^{b}	4.44	693.25^{c}	65.97	1079.20^{ab}	90.36	1211.39^{ab}	85.82	1261.90^{a}	89.09
隱窩深(μm)	120.85	10.39	165.11	99.85	137.35	40.09	127.62	74.07	99.85	9.12
絨毛高：隱窩深	9.52^{a}	0.87	5.70^{b}	0.28	8.30^{a}	1.41	8.82^{a}	0.1	8.72^{a}	0.1
空腸										
絨毛高(μm)	1014.48^{a}	20.53	515.55^{b}	100.62	1001.90^{a}	8.76	1212.65^{a}	123.53	1079.20^{a}	171.89
隱窩深(μm)	114.9	103.37	198.25	28.21	119.3	17.39	137.3	71.7	125.05	122.68
絨毛高：隱窩深	7.25^{a}	0.07	3.89^{b}	0.97	7.40^{a}	0.14	7.05^{a}	0.07	8.00^{a}	1.55
迴腸										
絨毛高(μm)	1053.5	4.24	819.84	194.94	1001.9	104.65	1079.1	104.65	1069.2	4.1
隱窩深(μm)	121.19	24.17	141	16.97	97.15	34.86	117.3	15.27	88.9	19.37
絨毛高：隱窩深	7.75	0.49	6.21	1	11.05	4.03	8.85	1.48	12.3	2.68

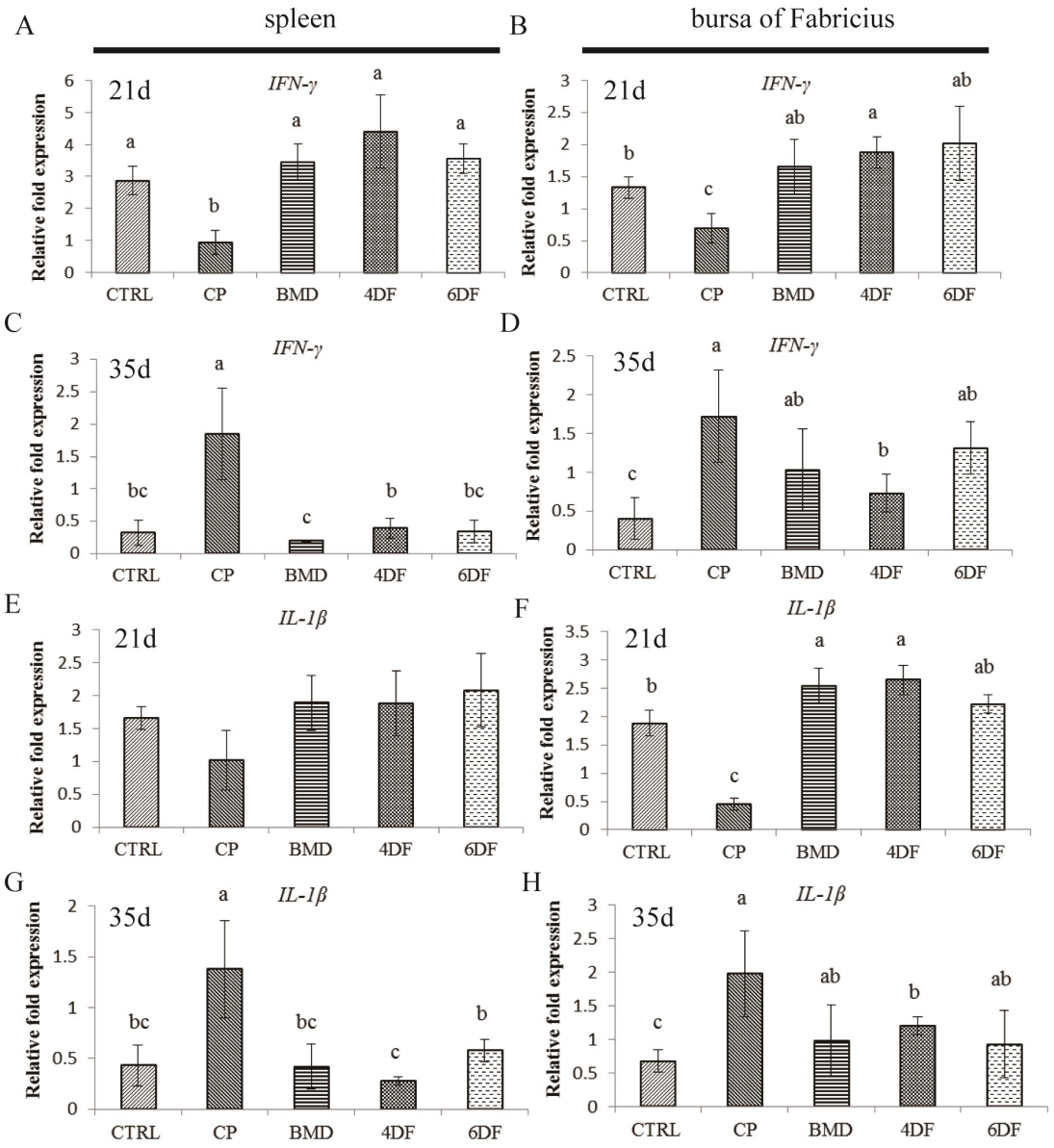
CTRL 為未經產氣莢膜梭菌攻毒組；CP 為產氣莢膜梭菌攻毒組；BMD 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配抗生素處理組；4DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 4 日枯草芽孢桿菌發酵物；6DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 6 日枯草芽孢桿菌發酵物。不同上標字母代表各組間具統計上顯著度($P < 0.05$)。

▲枯草芽孢桿菌發酵物能改善肉雞經攻毒後之腸道型態



CTRL 為未經產氣莢膜梭菌攻毒組；CP 為產氣莢膜梭菌攻毒組；BMD 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配抗生素處理組；4DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 4 日枯草芽孢桿菌發酵物；6DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 6 日枯草芽孢桿菌發酵物。不同上標字母代表各組間具統計上顯著度($P < 0.05$)。

▲枯草芽孢桿菌發酵物能改善肉雞經攻毒後之腸道病變。



CTRL 為未經產氣莢膜梭菌攻毒組；CP 為產氣莢膜梭菌攻毒組；BMD 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配抗生素處理組；4DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 4 日枯草芽孢桿菌發酵物；6DF 為產氣莢膜梭菌攻毒搭配給予 6 日枯草芽孢桿菌發酵物。不同上標字母代表各組間具統計上顯著度($P < 0.05$)。

▲枯草芽孢桿菌發酵物能降低肉雞經攻毒後脾臟及華氏囊之促發炎基因表現。

小葉蕨藻 (Caulerpa microphysa)加值利用之製程開發

財團法人中正農業科技社會公益基金會
108-109 年農業科技研究成果

國立臺灣海洋大學　李孟洲

摘要

本研究係利用小葉蕨藻 (*Caulerpa microphysa*)萃取後之副產物，以枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 進行發酵，將其發酵物製成南美白對蝦 (*Litopenaeus vannamei*)之飼料並進行成分分析及白蝦成長參數實驗。研究結果顯示，小葉蕨藻副產物經枯草桿菌發酵 16 小時後，總醣相較於其他發酵時間點高，經核磁共振光譜技術 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)分析後發現，發酵後之小葉蕨藻副產物主要多醣來源為木糖，約占 95.5 %；小葉蕨藻發酵液中單醣約為 49.9 % (葡萄糖)，多醣為 50.1 %。多醣中包含甘露糖 (27.4 %)及半乳糖 (22.7 %)。將發酵後之小葉蕨藻副產物以不同比例：0 %、0.25 % 及 0.5 % (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)添加於飼料中，飼料營養成份分析可得知，其水分含量分別為 4.68 %、4.2 % 及 3.08 %，灰分含量分別為 12.51 %、12.62 % 及 12.78 %，粗脂質含量分別為 6.42 %、6.62 % 及 7.01 %，粗蛋白含量分別為 45.66 %、45.17 % 及 45.67 %。

白蝦以發酵副產物飼料 (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)進行為期八週的投餵實驗，試驗結果顯示，相較於 FM 組別，幼蝦蝦苗投餵 FCBM 0.5 組別之最終體重 (Final weight, FW)、增重百分率 (Specific growth rate, SGR)、增重率 (Weight gain, WG)及飼料轉換率 (Feed conversion ratio, FCR)皆有較佳之效果；亞成蝦蝦苗以 FCBM 0.5 組別之 FW 與 WG 分別為 18.51±1.07 g 及 208.38±18.17 %為最佳，SGR 及 FCR 在 FCBM 0.25 與 FCBM 0.5 組別中相對於 FM 組別皆有較好之結果。綜合以上，投餵小葉蕨藻功能性飼料 (FCBM 0.5)對不同生長階段之白蝦皆有較佳之成長效果。

一、前言

南美白對蝦 (*Litopenaeus vannamei*)俗稱白蝦，原產於太平洋東岸、墨西哥北部加利福尼亞灣至中南美洲秘魯沿岸地區，其具有生長快速、抗病力強、換肉率高、具廣鹽性包括鹹淡水1–2 ‰和鹹水40 ‰ (Menz and Blake, 1980)及養殖技術門檻較低之優勢。臺灣農委會於 1994 年引進，是臺灣水產業重要的經濟物種之一。然而近年來由於集約化養殖、養殖環境管理不當加上抗生素等藥物濫用之因素，使白蝦現場養殖環境每況愈下，遭受致病性細菌與病毒的嚴重迫害，造成白蝦產業產量大幅減少及龐大的經濟損失。蝦類常見致病菌如腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、霍亂弧菌 (*V. cholerae*)、哈威弧菌 (*V. harveyi*)及熱帶魚弧菌 (*V. damsela*) (Cano-Gomez *et al*., 2009)，與草蝦桿狀病毒 (Penaeus monodon baculovirus, MBV)、白點病毒 (White spot syndrome virus, WSSV)、黃頭病毒 (Yellowhead virus)及桃拉病毒 (Taura syndrome virus)等感染 (Yu and Song, 2000; Wang and Chen, 2005; Stentiford *et al*., 2009)。另外因白蝦種蝦普遍帶有 WSSV 病原，且在如此高密度的集約養殖下，便可能因二次感染而爆發大量死亡。

免疫調節物 (Immunomodulator)是一種天然化合物，近年來已廣泛用於水產養殖，其開發與使用已成為趨勢。可透過添加免疫調節物來調節免疫系統藉以提升宿主抵抗力，以對付多數病原體引起之疾病 (Ai *et al*., 2007; Bricknell *et al*., 2005; Selvaraj *et al*., 2009)。且其優點為較無藥物與疫苗使用之相關疑慮與限制。因此，免疫調節物之開發與應用將成為現今水產產業疾病控管的有利工具 (冉等，2006)。另一方面，利用益生元 (prebiotics)及益生菌 (probiotics)來穩定水產生物體之腸道菌相並藉此與病原菌競爭棲位 (niche)與營養，以抵抗病原菌之定植與生長 (Panigrahi and Azad, 2007)。

水產生物疾病的預防和治療包括政府核准的抗生素和化學治療藥物。但是，抗生素的使用可能導致產生耐藥性細菌菌株，並可能調節免疫反應 (Lunger *et al*., 2006)。隨著對水產養殖中抗生素使用的嚴格規定，益生菌的使用具有巨大的潛力(Austin *et al*., 1995；Ruiz *et al*., 1996)，且人們越來越關注在水產養殖中使用益生菌來控制魚類疾病 (Douillet *et al*., 1994)，Fuller 將益生菌定義為「活的飼料補充劑，可透過益生菌以改善宿主之腸道微生物平衡」(Fuller, 1992)。微生物生長代謝時，在水產養殖中起著非常重要和至關重要的作用，因為水質和疾病控制直接受到微生物活性的影響。水產養殖中使用的常見益生菌屬於桿菌屬、芽孢桿菌

屬、弧菌屬、釀酒酵母屬及腸球菌屬 (Kumar *et al*., 2008)。枯草芽孢桿菌 (*Bacillus subtilis*)是一種非致病性且可形成孢子的革蘭氏陽性菌，常用於食品和飼料添加劑，例如日本使用該菌將黃豆發酵成納豆來食用，因其可促進生長且具有免疫調節活性的功效，而被視為益生菌。先前的研究表明，枯草芽孢桿菌透過促進生長並具有抗腫瘤和免疫調節活性而充當益生菌(Kumar *et al*., 2008；Nayak *et al*., 2007；Aly *et al*., 2008)。

海藻主要生長於潮間帶的礁石區，透過肉眼進行辨別，大致上可將其分成紅藻、綠藻、褐藻及藍綠藻。它們為海洋中的基礎生產者，不僅為海中生物食物來源，也可固碳協助解決地球暖化及海洋酸化之問題，進一步的分析海藻的生理組成，可以發現它們含有豐富的維生素、礦物質、脂質、醣類及蛋白質等對人體有益之化合物，這些化合物可以作為食物、飼料、化學肥料、食品添加及醫藥等用途，大幅改善人類生活品質及促進社會發展，因此為近年來備受矚目之綠色資源(Bénédicte *et al.,* 2018)。

臺灣原生之小葉蕨藻 (*Caulerpa microphysa*)，生長於熱帶地區，在臺灣、日本、中國、韓國和菲律賓等國家盛行養殖，其藻體外觀具渾圓飽滿且晶瑩剔透的綠色球狀小枝，有如串串葡萄因而又稱「海葡萄」。蕨藻廣泛存在於全世界之溫帶、亞熱帶及熱帶海域，目前全世界共有 97 種確定種 (Guiry and Guiry, 2018)，臺灣則約有 17 種 (施，2008)。除作為人類健康食物來源外，也是觀賞水族中極受歡迎的水生植物。海葡萄含有脂質 1.5％、碳水化合物 40％ 及蛋白質 14％。雖然海葡萄的總脂質含量低，但含有 4 種飽和脂肪酸（saturated fatty acids, SFA)，4 種單元不飽和脂肪酸（monounsaturated fatty acid, MUFA）和 6 種多不飽和脂肪酸（Polyunsaturated fatty acid, PUFA)，據研究報告顯示食用 MUFA 與 PUFA 相當有益於健康，可降血脂與膽固醇 (Yangthong and Hutadilok-Towatana, 2009)。其碳水化合物組成包含了纖維素及有益的多醣類如木醣、甘露醣和鼠李糖等(Gudipati *et al*., 2017) 。文獻指出海葡萄含有 Phenolic compounds，具有抗癌抗氧化的功能，也富含維生素 A、維生素 B2、維生素 E、維生素 K、葉酸、生物素、菸鹼酸與牛磺酸 (Bhakti *et al*., 2018；Reiko *et al*., 2012)。

小葉蕨藻經萃取後，其多醣萃取物經妥善加工、製作，可作為美妝保養品、保健食品等之原料，然而生長於天然海域的小葉蕨藻，受限於海水溫度變化大，生長期短，且海岸適合其生長附著的礁岩面積有限，加上大量無止盡的自野外進

行採捕亦會有生態環境破壞之隱憂。本實驗室已主導與新北市政府漁業及漁港事業管理處共同開發小葉蕨藻的陸上池人工養殖技術研究，且建立完整養殖模式，能全年穩定大量生產藻源作為後續萃取等應用。此外，萃取後之副產物 (藻渣)，可作為工業發酵之材料，例如肥料、飼料添加物等，根據臺灣業者的估計，蕨藻每平方公尺可有 8 公斤的產量，高於日本每平方公尺的 2.5-4 公斤，而臺灣的蕨藻年產量約有 30-40 噸左右，經萃取後的蕨藻重量約只剩 7-10%，推估廢棄之藻渣年產量約為 2-7 噸左右。因蕨藻屬具有良好免疫刺激及抗氧化活性，期望成為水產生物之免疫調節物，故萃取出其有效物質後之藻渣也可以進一步充分利用，提升再生循環資源應用技術，強化資源再利用，增進其產業價值，營造海藻產業永續發展新契機。

飼料配方的改善與飼料使用效率以降低飼料成本為現今之重點，故開發飼料配方之添加，如飼料添加劑以提高水產養殖飼料效率之已成主要趨勢。目前許多研究仍著重於使用益生元與益生菌藉以增加水產養殖物種的消化酶以及生長和免疫反應 (Purivirojkull, 2013)。研究顯示投餵白蝦加有乳酸菌 *Lactobacillus reuteri* 及 *Lactobacillus* sp. 之飼料，可顯著提升白蝦之增重率、特殊成長率、飼料轉換率及活存率，且可提升其免疫因子之活性 (張，2019)。白蝦投餵添加胚芽乳酸菌 (L. *plantarum*)之飼料可增加其成長，而食用胚芽乳酸菌及嗜酸乳酸菌 (L. *acidophilus*)皆可提升白蝦之酚氧化酵素、總血球數、超氧陰離子產生率及淋巴球吞噬能力等免疫活性 (曾，2019)。

本研究為提升小葉蕨藻加工後副產物之再利用價值，結合枯草桿菌發酵，開發適合白蝦養殖之飼料添加劑，以達到提升循環經濟、小葉蕨藻產業價值及白蝦養殖效益。

二、材料與方法

2-1 實驗用藻

本實驗室無須倚賴野外採集即可穩定並大量供應品質良好之小葉蕨藻。養殖方法為將已挑選及清洗後之藻體畜養於室外玻璃纖維桶，水溫控制於 23 ± 3 °C、海水鹽度於 32 ± 3 ppt，每三日更換培養水源並添加微量元素培養液。

2-2 實驗用菌

本實驗室所使用之枯草桿菌保存於保存液 (培養基及甘油)中，並將其存放於 -80 °C 中備用。

2-3 實驗用蝦

蝦苗分為兩組，重量分別約為 3.2 ± 0.05 g 及 5.80 ± 0.04 g 畜養二週待其適應實驗室環境後，方可進行投餵實驗。水溫控制在 26 ± 1 °C 並清除缸中排泄物。

2-4 小葉蕨藻多醣之萃取

參考 (Liang et al., 2015)，藻體經凍乾，並粉碎成粉末備用。取凍乾藻粉加入去離子水，放入往復式震盪恆溫水槽以溫度 95 °C 高溫萃取 5 小時。熱萃取後於室溫下冷卻，再使用離心機 2220 × g，室溫下離心 15 分鐘。上清液即為小葉蕨藻多醣萃取液。

2-5 萃醣後副產物、發酵副產物及飼料之粗成分分析

參照 A.O.A.C.(1995)，分析粗蛋白、粗脂質、水分與灰分。

粗蛋白分析方法

1. 以 Kjeldahl system (Tecator)測定。精秤 0.5 g 之樣品 (須做對照組-如魚粉及空白組-單純秤藥紙)粉末置入凱氏氮管中，加入 15 ml 濃硫酸 (≥95 %)及 1 ~ 2 g 凱氏氮催化劑 (約四顆) (K_2SO_4 : $CuSO_4$=1:10)，置於蛋白分解爐 (Digestor 2006, Tecator)中加熱至 380 ℃ (溫度到，開始計時 1 小時)待反應液消化完成至淡黃澄清色。
2. 將凱氏氮管放至室溫冷卻 (30 分鐘)，加入 70 ml 蒸餾水稀釋，即可放入

全氮蒸餾器 (HDK 129 Kjeldahl Distillation Unit, VELP Scientifica)中

3. 添加 50 ml 之 35 % NaOH 溶液，加熱蒸餾出氮氣，另以裝有 25 ml 之 4 % 硼酸之三角錐型瓶〔預先加入 4 滴指示劑 (methyl red and bromocresol green)〕收集蒸餾液 150 ml。
4. 以 0.1 N 鹽酸標準液滴定至當量點。

粗蛋白質含量計算如下:

粗蛋白質含量 (%) ＝〔〔(b-a) × 14.007×6.25×0.1〕/s×1000〕× 100

a:空白組之滴定毫升數

b:樣品數之滴定毫升數

s:樣品重量

粗脂質分析方法

1. 精秤 0.5 g 樣品粉末包緊 (5C 濾紙)置於圓筒濾紙中,上下塞入脫脂棉,將圓筒濾紙放置在脂質萃取裝置。
2. 加入乙醚約 60 ml〔浸乙醚 15 分鐘，旁邊流水要開， 15 分鐘後，將樣品拉起來，閥要開 (讓乙醚流通)〕以 95 ℃ 水浴回流 (溫度到，開始計時 1.5 小時)萃取脂質。
3. 完成後，關起流通閥，等待 15 分鐘使乙醚不再流入。
4. 取出萃取鋁杯烘乾 (105 ℃)後放入乾燥皿乾燥 15 分鐘，移至精秤秤恆重。

粗脂肪含量計算如下: (%) ＝〔(W_2-W_0) / W_1〕× 100

W_0:萃取前烘乾後萃取鋁杯重 (g)

W_1:萃取後烘乾後萃取鋁杯重 (g)

S:樣品重量

水分分析方法

1. 秤取 1g 乾燥粉末之樣品，放置已秤重且恆重之乾燥坩鍋中
2. 放入烘箱中以 105 ℃ 烘乾 4 小時
3. 烘乾後取出坩鍋於真空乾燥器中，待溫度降至室溫再秤量其重量。

水分含量計算如下:

水分含量 (%)：W_1-W_2 / W_1-W_0 × 100

W_0: 坩鍋恆重 (g)

W_1: 坩鍋+樣品重量 (g)

W_2: W_1 乾燥至恆重 (g)

灰分方法測定

1. 精秤樣品粉末 1 g 放入已秤重且恆重之坩堝中，放入灰化爐中灰化 (500~600 ℃)12 小時
2. 再將溫度調降至 105 ℃ 約 12 小時後，取出坩堝於真空乾燥器中，冷卻至室溫再秤重。

   灰分含量計算如下：

   灰分 (%)＝〔(W_1-W_0) / S〕× 100

   W_0: 坩堝的恆重 (g)

   W_1: 坩堝+灰化物之重量 (g)

   S:樣品重量 (g)

2-6 發酵製程

利用枯草桿菌進行副產物之發酵，培養基基底為蒸餾水內加入 NaCl 及 K_2HPO_4；將副產物加入後，依據楊 (2011)之方法設定發酵條件。將發酵用菌於固態培養基進行活化，爾後轉至液態培養基，28 ℃ 培養 8 小時。將水、藻體萃取後之副產物及培養基依比例混合，實驗用菌饋料量約為 1×10^6 CFU/ml，發酵進行時，轉速為 150 rpm，溫控為 28 ℃。

2-7 醣類組成分析

小葉蕨藻多醣萃取液及發酵後副產物之醣類組成分析，乃利用酵素水解後，使用核磁共振光譜技術 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)進行分析。

2-8 飼料製程

小葉蕨藻發酵後之副產物以不同比例添加於蝦類飼料中，添加量分別為 0%、0.25 % 及 0.5 % (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)於蝦飼料中，以魚粉為蛋白來源，魚油為油脂來源，製作各組別等蛋白與脂質之蝦飼料。

2-9 投餵實驗

進行不同階段南美白蝦 (幼蝦及亞成蝦)之投餵實驗以記錄成長參數與活存率。選用兩種不同體型之南美白對蝦，於實驗室內之循環水系統進行為期八週之投餵實驗。

成長方面，紀錄初重 (Initial weigh)、末重 (Final weight)、增重率 (Weight gain)、日增重率 (Specific growth rate)、飼料轉換率 (Feed conversion rate)及活存率 (Survival rate)。

增重率 (Weight Gain, WG)：

WG = (Final weight - Initial weigh) / Initial weigh × 100

日增重率 (Specific Growth Rate, SGR)：

SGR = 〔In (Final weight) - In (Initial weigh)〕 / total days × 100

飼料轉換率 (Feed Conversion Rate, FCR)：

FCR = (Feed given / Weight gain) × 100

活存率 (Survival Rate, SR) ：

SR = (Final fish number / Initial fish number) × 100

三、結果

3-1 醣類組成分析

如表一所示，小葉蕨藻發酵副產物主要多醣來源為木糖，約 95.5％。小葉蕨藻發酵液中單醣約為 49.9％(葡萄糖)，多醣為 50.1％。多醣中包含甘露糖 (27.4%)及半乳糖 (22.7％)。

3-1 小葉蕨藻發酵副產物及其功能性飼料之成分分析

如圖一研究結果發現，小葉蕨藻副產物經枯草桿菌發酵 16 小時後，總醣含量為 1.427 mg/ml，與各發酵時間點相比為最佳。

如表二所示，發酵 16 小時後之副產物其成分，水分為 8.40％、灰分為 18.46％、粗脂肪為 1.42％ 及粗蛋白為 25.76％。功能性蝦飼料 (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)成分檢測方面，其水分含量為 4.68％、4.2％ 及 3.08％，灰分含量分別為 12.51％、12.62％ 及 12.78％，粗脂質含量分別為 6.42％、6.62％ 及 7.01％ 及粗蛋白含量分別為 45.66％、45.17％ 及 45.67％。

3-2 投餵不同濃度小葉蕨藻功能性蝦飼料對不同時期蝦苗成長之影響

如表三所示，幼蝦苗投餵功能性蝦飼料後發現，各組別之蝦苗活存率皆保持在 96％ 以上，FCBM 0.5 組別之末重 15.37 ± 0.72 g、增重率 301.73 ± 8.84％、日成長率 2.67 ± 0.06％ 及飼料轉換率 2.33 ± 0.07％，與 FM 及 FCBM 0.25 組別相比為最佳。

如表四所示，亞成蝦苗投餵功能性蝦飼料後發現，各組別之蝦苗活存率皆保持在 96％ 以上， FCBM 0.5 組別之末重 18.51±1.07 g、增重率 208.38 ± 18.17％及日成長率 2.16 ± 0.06％ 與 FM 及 FCBM 0.25 組別相比為最佳。 FCBM 0.25 與 FCBM 0.5 組別之飼料轉換率分別為 2.59 ± 0.08％ 及 2.59 ± 0.22％，與 FM 之組別相比為最佳。

四、結論

Gao 等人將豆粕利用芽孢桿菌屬 (*Bacillus sanfensis*) 與 (*Bacillus stratosphericus*)各別進行發酵處理 48 小時後，發現粗蛋白含量分別增加了 6.93 % 和 5.95 % (Gao *et al.,* 2020)。由本研究結果得知，小葉蕨藻 (*Caulerpa microphysa*) 之副產物利用枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)發酵處理 24 小時後，其一般成分比率如灰分、粗蛋白及粗油脂皆有增加之現象。

據文獻報導，給予淡水長臂大蝦 (*Macrobrachium rosenbergii*)投餵添加 10 % 發酵之四疊團扇藻 (*Padina tetrastomatica*)之飼料，相較於其他較高濃度 (20 %及 30 %)添加之組別，可有效提升長臂大蝦之增重率、日成長率、蛋白質效率及飼料轉換率 (Felix and Brindo, 2014)。不只是藻類發酵，del Carmen Flores-Miranda 等人投餵給予白蝦以發酵處理之浮萍 (*Lemnoideae* sp.) 作為添加劑之飼料，對於其成長性能有正面的影響 (del Carmen Flores-Miranda *et al.,* 2015)。本研究中針對不同時期之白蝦苗投餵添加 0.5 %小葉蕨藻發酵副產物之功能性蝦飼料 (FCBM 0.5)後，相較於其餘處理組別 (FM 及 FCBM 0.25)，對於白蝦苗 (幼蝦及亞成蝦) 如增重率、日成長率及飼料轉換率等有較佳的成長表現。

未來期望將添加於功能性蝦飼料中小葉蕨藻發酵副產物之比例提高，並進行投餵實驗，以達到副產物之價值最大化，未來不論是美妝業及保健食品加工業等相關生產鏈萃取獲得小葉蕨藻 (海葡萄)的萃取液後，所剩下的副產物，便能大量回收再利用 (臺灣業者推估藻渣年產量約 2-7 噸)，如此便可達到強化資源再利用，增進其產業價值。據先前研究報導，於飼料中添加免疫調節劑可有效提升受病原感染後蝦體之活存率 (Kongnum and Hongpattarakere, 2012；Yatip *et al.,* 2018；Tseng *et al.,* 2009)。因此可採集白蝦養殖現場常見之病原，如副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)或白點病毒 (White spot syndrome virus, WSSV)等進行活體感染實驗，觀察白蝦經由攝取實驗之小葉蕨藻功能性蝦飼料後是否可增強病原抵抗能力以提升白蝦之活存率。期許達成有效的疾病防治，便能做到減少疾病相關用藥及友善養殖環境等，進而助長白蝦養殖產業的發展。

五、參考文獻

1. 冉繁華、杜健瑋、劉昱秀、陳映妤、陳秀男，2006。鰻魚養殖之健康管理。水產試驗所特刊。8: 155-166。行政院農業委員會漁業署，2018。漁業統計年報。
2. 洪郁嵐，黃培安，吳純衡，2014。海藻發酵物之製程技術與應用。水試專訊47，32-34 頁。
3. 施建宏。2008。臺灣蕨藻之調查與養殖研究。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文。89 頁。
4. 張朝盛，2019。飼料中添加 *Lactobacillus reuteri* 和 *Lactobacillus* sp.對白蝦水質、成長及非特異性免疫之影響。國立臺灣海洋大學水產養殖學系碩士論文。
5. 曾品敦，2019。飼料添加胚芽乳酸菌及嗜酸乳酸菌對白蝦水質、成長及非特異性免疫之影響。國立台灣海洋大學水產養殖研究所碩士論文。
6. 楊登傑，2011。益生菌發酵槽技術建立與水質處理之應用。國立台灣海洋大學水產養殖系碩士論文。
7. Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W., Li, H. 2007. Effects of dietary beta-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Fish and Shellfish Immunology. 22(4):394-402.
8. Aly, S. M., Ahmed, Y. A. G., Ghareeb, A. A. A., Mohamed, M. F. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish Shellfish Immunol, 25 (2008), pp. 128-136.
9. A.O.A.C. (Association of Office Analytic Chemists) , 1995. Official Methods of Analysis 16th ed. A.O.A.C., Arlington, VA.
10. Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., Griffth, D.R.W. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. Journal of Fish Diseases, 18 (1995), pp. 93-96.
11. Bénédicte, C., Thomas, W., Reddy, C. R. K., 2018. Protocols for Macroalgae Research. CRC Press, London pp. 4-10.
12. Bricknell, I., Dalmo, R. A. Fish and Shellfish Immunology. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. 19(5):457-472.
13. Cano-Gomez, A., Bourne, D. G., Hall, M. R., Owens, L., Høj, L., 2009. Molecular identification, typing and tracking of *Vibrio harveyi* in aquaculture systems: current methods and future prospects. Aquaculture. 287, 1-10.

14. del Carmen Flores-Miranda, M., Luna-González, A., Cortés-Espinosa, D. V., Álvarez-Ruiz, P., Cortés-Jacinto, E., Valdez-González, F. J., Escamilla-Montes, R., González-Ocampo, H. A. (2015). Effects of diets with fermented duckweed (*Lemna* sp.) on growth performance and gene expression in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture International, 23(2), 547-561.
15. Douillet, P. A., Langdon, C. J. Use of probiotics for the culture of larvae of the *Pacific oyster* (Crassostrea gigas Thunberg). Aquaculture, 119 (1994), pp. 25-40.
16. Felix, N., & Brindo, A. (2014). Effects of raw and fermented seaweed, *Padina tetrastomatica* on the growth and food conversion of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 1(4), 108-113.
17. Fuller, R. Probiotics – the scientific basis. Chapman and Hall, London (1992).
18. Gao, S., Pan, L., Zhang, M., Huang, F., Zhang, M., He, Z. (2020). Screening of bacterial strains from the gut of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their efficiencies in improving the fermentation of soybean meal. FEMS microbiology letters, 367(2), fnaa017.
19. Guiry, M.D., Guiry, G. M., 2019. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.
20. Kongnum, K., & Hongpattarakere, T. (2012). Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. Fish & Shellfish Immunology, 32(1), 170-177.
21. Kumar, R., Mukherjee, S. C., Ranjan, R., Nayak, S. K. Enhanced innate immune parameters in *Labeo rohita* (Ham.) following oral administration of *Bacillus subtilis*. Fish Shellfish Immunol, 24 (2008), pp. 168-172.
22. Lunger, A.N., Craig, S.R., McLean, E. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. Aquaculture, 257 (2006), pp. 393-399.
23. Liang, W.-S., Fang, T.-Y., Lin, H.-T., Liu, T.C., Lu, W.-J., Tzou, W.-S., Tang, S.-J., Lin, F.-P., Liu, S.-M., and Pan, C.-L. (2015). Cloning, expression, and characterization of *Pseudomonas vesicularis* MA103 β-1, 3-xylanase in *Escherichia coli* ClearColi BL21 (DE3). Fisheries Science 81, 1135-1143.
24. Maeda, R., Ida, T., Ihara H., Sakamoto, T. Immunostimulatory activity of

polysaccharides isolated from Caulerpa lentillifera on macrophage cells. Biosci Biotechnol Biochem. 2012;76 (3):501-5.

25. Manas, H. M., Deshmukhe, G., Venkateshwarlu, G., Jaiswar, A.K., Siddaiah, G.M. Nutritional profile of some important *Caulerpa* J.V. Lamouroux species along Maharashtra and Gujarat coast, India. Journal of Fisheries and Life Sciences. (2017) 2. 30-34.
26. Menz, A., Blake, B.F. Experiments on the growth of *Penaeus vannamei* Boone. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 48 (1980), pp. 99-111
27. Nayak, S. K., Swain, P., Mukherjee, S. C. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham).Fish Shellfish Immunol, 23 (2007), pp. 892-896.
28. Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H., 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Aquaculture, 243: 241-254.
29. Purivirojkull, W. Application of Probiotic Bacteria for Controlling Pathogenic Bacteria in Fairy Shrimp *Branchinella thailandensis* culture. Turk. J. Fish. Aquat. Sci., 13: 187–196 (2013).
30. Ruiz, C. M., Roman, G., Sanchez, J. L. A marine bacterial strain effective in producing antagonisms of other bacteria. Aquaculture International, 4 (1996), pp. 289-291.
31. Selvaraj, V., Sampath, K., Sekar, V. 2009. Administration of lipopolysaccharide increases specific. Aquaculture. 286.
32. Stentiford, G. D., Bonami, J. R., Alday-Sanz, V., 2009. A critical review of susceptibility of crustaceans to Taura syndrome, Yellowhead disease and White Spot Disease and implications of inclusion of these diseases in European legislation. Aquaculture. 291, 1-17.
33. Tanna, B., Choudhary, B., Mishra, A. Metabolite profiling, antioxidant, scavenging and anti-proliferative activities of selected tropical green seaweeds reveal the nutraceutical potential of *Caulerpa* spp. Algal Research 36 (2018) 96–105.
34. Tseng, D. Y., Ho, P. L., Huang, S. Y., Cheng, S. C., Shiu, Y. L., Chiu, C. S., Liu, C. H. (2009). Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20. Fish & Shellfish

Immunology, 26(2), 339-344.

35. Wang, L. U., Chen, J. C., 2005. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. Fish and Shellfish Immunology. 18, 269-278.
36. Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., Phromkunthong, W. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. Plant Foods Hum Nutr. 2009; 64(3): 218-23.
37. Yatip, P., Teja, D. N. C., Flegel, T. W., Soowannayan, C. (2018). Extract from the fermented soybean product Natto inhibits *Vibrio* biofilm formation and reduces shrimp mortality from *Vibrio harveyi* infection. Fish & Shellfish Immunology, 72, 348-355.
38. Yu, C. I., Song, Y. L., 2000. Outbreaks of Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. Fish Pathology. 35, 21-24.

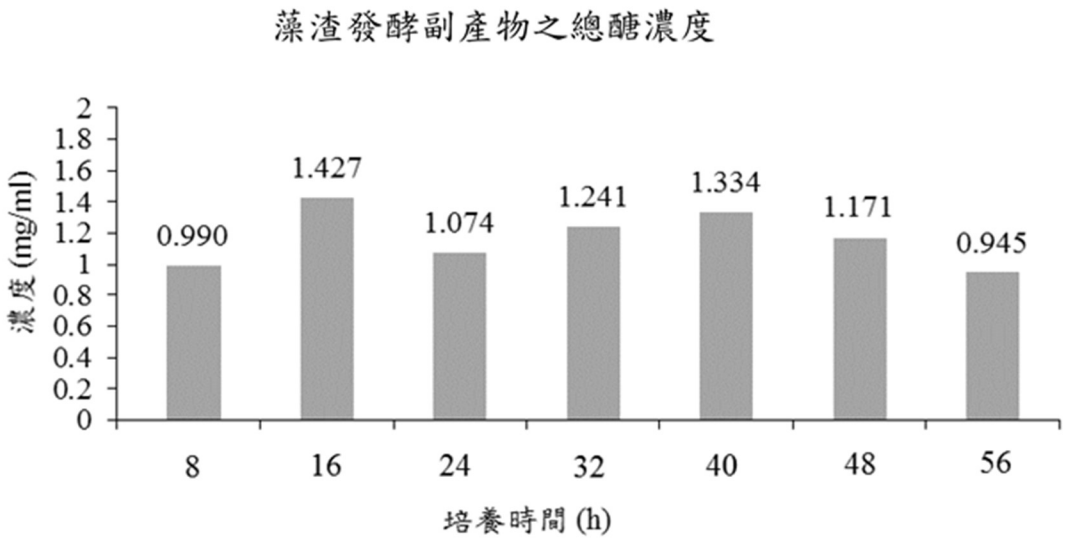


圖 一、小葉蕨藻副產物經枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 發酵不同時間後總醣濃度。小葉蕨藻副產物其發酵時間分別為 8、16、24、32、40、48 及 56 小時，總醣濃度單位以 mg/ml 表示。

表 一、小葉蕨藻副產物經枯草桿菌發酵後之副產物及發酵液之醣類分析。

小葉蕨藻副產物發酵後之副產物及發酵液多醣組成分析，單位以 % (W/W)。

多醣之醣組成分分析 % (W/W)					
樣品名稱	Mannose 甘露糖	Glucose 葡萄糖	Galactose 半乳糖	Xylose 木糖	Others (3 % 以下不標示)
發酵副產物	NA	NA	NA	95.5	0.5
發酵液	27.4	49.9	22.7	NA	NA

表 二、小葉蕨藻功能性飼料之營養成分分析。

功能性飼料為 0 %、0.25 % 及 0.5 % (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)。分析項目水分、灰分、粗脂質及粗蛋白，單位以 % 表示。

分析項目	小葉蕨藻副產物		小葉蕨藻功能性飼料		
(%)	發酵前	發酵後	FM	FCBM 0.25	FCBM 0.5
水分	4.21	8.40	4.68	4.20	3.08
灰分	15.41	18.46	12.51	12.62	12.78
粗脂質	1.29	1.42	6.42	6.62	7.01
粗蛋白	22.33	25.76	45.66	45.17	45.67

表 三、投餵不同濃度小葉蕨藻功能性飼料對幼蝦苗生長之影響。

功能性飼料為 0 %、0.25 % 及 0.5 % (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)。幼蝦苗成長分析項目為 IW、FW、SGR、WG、SGR、WG、FCR 及 SR

Parameter	FM	FCBM 0.25	FCBM 0.5
IW (g)	3.89±0.10	3.84±0.05	3.88±0.11
FW (g)	15.20±0.31	14.37±0.35	15.37±0.72
WG (%)	294.15±19.4	273.66±9.21	301.73±8.84
SGR (%)	2.63±0.10	2.53±1.95	2.67±0.06
FCR (%)	2.39±0.11	2.46±0.08	2.33±0.07
SR (%)	98.3	96.6	96.6

IW = Initial weigh；FW = Final weight；SGR = Specific growth rate；

WG = Weight gain；FCR = Feed conversion ratio；SR = Survival rate

表 四、投餵不同濃度小葉蕨藻功能性飼料對亞成蝦苗生長之影響。

功能性飼料為 0 %、0.25 % 及 0.5 % (FM、FCBM 0.25 及 FCBM 0.5)。亞成蝦苗成長分析項目為 IW、FW、SGR、WG、SGR、WG、FCR 及 SR

Parameter	FM	FCBM 0.25	FCBM 0.5
IW (g)	6.01±0.03	6.01±0.01	6.00±0.01
FW (g)	18.20±0.11	18.46±0.60	18.51±1.07
WG (%)	202.77±1.95	206.87±15.12	208.38±18.17
SGR (%)	2.13±0.02	2.15±0.10	2.16±0.06
FCR (%)	2.67±0.03	2.59±0.08	2.59±0.22
SR (%)	97.5	96.25	96.25

IW = Initial weigh；FW = Final weight；SGR = Specific growth rate；

WG = Weight gain；FCR = Feed conversion ratio；SR = Survival rate

附錄

成果照片

蝦母袋

引進白蝦苗於溫室環境蓄養一週

亞成蝦-成長試驗場所及設備

幼蝦-成長試驗場所及設備

白蝦攝食情形

消化良好並拖糞之白蝦

小葉蕨藻功能性飼料

烘箱及灰化爐

凱氏氮分解爐