

飼糧添加二階段混合羽毛粉—大豆粕發酵產品對肥育期豬隻屠體性狀及脂肪酸組成之影響⁽¹⁾

黃憲榮⁽²⁾⁽⁶⁾ 林正鏞⁽³⁾ 許晉賓⁽⁴⁾ 陳國隆⁽⁵⁾

收件日期：114 年 8 月 27 日；接受日期：114 年 11 月 25 日

摘 要

本研究旨在探討飼糧添加二階段發酵羽毛粉—大豆粕混合產品 (Two-stage fermented feather meal and soybean meal, TSFP) 對豬隻屠體性狀及脂肪酸組成之影響。本發酵產品為羽毛粉—大豆粕先以 *Bacillus subtilis* var. *natto* N21、*B. amyloliquefaciens* Da16 (Da16)、*B. sp.* Da15 (Da15)、*Providencia rettgeri* strain Da6 (Da6) 及 *B. aryabhatai* Da2 (Da2) 好氧發酵 2 天，第二階段發酵，加入 *B. coagulans* L12 (L12) 菌液並混合均勻後，於室溫下進行厭氧發酵 5 天後，烘乾製成 TSFP。試驗使用 80 頭 (平均體重 78.2 ± 0.15 kg) 雜交肥育豬 (杜洛克 × 高畜黑豬)，公母各半，依體重與性別逢機分置於 4 處理組，即飼糧中添加 3% 魚粉、0、2.5 及 5% 之 TSFP 組。每處理 5 重複，每重複 4 頭，試驗期 9 週，飼料及飲水採任食。結果顯示，添加 5% TSFP 組之豬隻背最長肌紅色度顯著大於 3% 魚粉組及 0% TSFP 組 ($P < 0.05$)，皮下脂肪的飽和脂肪酸方面，添加 2.5 及 5% TSFP 組之 $C_{14:0}$ 及飽和脂肪酸 (SFA) 含量顯著較 3% 魚粉組低 ($P < 0.05$)。添加 5% TSFP 組之 $C_{16:0}$ 含量，顯著較其他處理組為低 ($P < 0.05$)。不飽和脂肪酸方面，添加 5% TSFP 組之 $C_{18:1}$ 及單不飽和脂肪酸 (MUFA) 含量顯著較 3% 魚粉組高 ($P < 0.05$)。5% TSFP 組之不飽和脂肪酸 (USFA) 含量顯著較 3% 魚粉組及 0% TSFP 組為高 ($P < 0.05$)。在屠宰率、背脂厚度、瘦肉率、屠後肌肉 pH 值、肌肉化學組成、肉質性狀及感官評分等，各處理組間則無顯著差異。綜上所述，於飼糧中添加 5% TSFP 組取代 3% 魚粉組具有提升肌肉紅色度及不飽和脂肪酸含量及降低飽和脂肪酸含量之效果。

關鍵詞：屠體性狀、脂肪酸組成、發酵羽毛粉、肥育豬。

緒 言

羽毛之粗蛋白 (crude protein, CP) 含量高達 85%，其中角蛋白約占 90%，角蛋白中雙硫鍵、氫鍵及疏水性作用溶解性低且難以被酵素分解 (Farag and Hassan, 2004; Zhang *et al.*, 2009; NRC, 2012)，且胺基酸組成不平衡 (Moritz and Latshaw, 2001; Gessesse *et al.*, 2003; Chiba, 2010)，使得羽毛在單胃動物飼糧用量受限。目前產業以高溫高壓製造水解羽毛粉為主，但因其蒸餾過程中會使一些胺基酸流失或變性，進而對單胃動物消化率及利用率有不良影響 (Moritz and Latshaw, 2001; Gessesse *et al.*, 2003)。目前在豬隻的建議使用量不超過 5% (Hung, 2003)。

微生物發酵可消化分解蛋白質及碳水化合物，減少基質中抗營養物質及改善營養價值 (Hong *et al.*, 2004; Ward *et al.*, 2006; Sukanuma *et al.*, 2007)。由於發酵產物具有改善動物生長、提高飼料適口性及保存性之效果，因此應用於動物飼料已有多年發展 (Yeh *et al.*, 2018)。目前以微生物發酵植物性蛋白應用在豬隻飼糧改善生長性能等已有許多文獻證實 (Jones *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2010; Yuan *et al.*, 2017)。但在羽毛粉之發酵應用研究則較少。已有文獻證實藉由微生物發酵基質，可將難以利用之大分子轉化為易消化小分子，並降低基質之抗營養物質含量，進而改善動物體對於營養物之吸收及利用率 (Shi *et al.*, 2017; Yeh *et al.*, 2018)。羽毛為家禽廢棄物，其特殊的結構鍵結及角蛋白含量

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2846 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

(3) 農業部畜產試驗所技術服務組。

(4) 農業部畜產試驗所動物營養組。

(5) 嘉義大學動物科學系。

(6) 通訊作者，E-mail: hjhuang@mail.tlri.gov.tw。

高，較不易被蛋白酶降解 (Wang *et al.*, 2016; Peng *et al.*, 2019)，因而難以大量應用於豬隻飼糧中 (Hung, 2003)。利用菌株生產分解羽毛酵素，具有將羽毛粉改善至類似黃豆粉之潛力 (Guo *et al.*, 2013)。Huang *et al.* (2021) 於第一階段以與試驗相同之蛋白質分解菌株 (*Bacillus subtilis* var. *natto* N21, *B. subtilis* *aryabhattai* Da2 and Da15, *B. amyloliquefaciens* Da6, Da16) 好氧發酵羽毛 2 天，並以產酸能力強之 *B. coagulans* L12 厭氧發酵 5 天，製成二階段發酵產物，添加 2.5 或 5% 二階段發酵產物均較對照組及魚粉組顯著改善肥育豬之日增重及飼料轉換率。Huang *et al.* (2014) 將羽毛粉與大豆粕以 2:3 混合後做為原料，與 Yeh *et al.* (2018) 同樣條件之二階段方式發酵，其添加 5% 發酵產物於生長豬則具有促進生長性狀之功效，可完全取代優質魚粉。本研究目的在探討應用 *B. subtilis* var. *natto* N21、*B. subtilis* *aryabhattai* Da2 及 Da15、*B. amyloliquefaciens* Da6、Da16 及 *B. coagulans* L12 (L12) 進行二階段混合羽毛粉—大豆粕發酵產品對肥育豬隻屠體性狀及脂肪酸組成之影響。

材料與方法

I. 試驗菌株

本試驗以自行篩選並確認效果良好之蛋白質分解能力強之芽孢桿菌 *B. subtilis* var. *natto* N21 (Bac) 及具有角蛋白分解能力之篩選菌株 *B. amyloliquefaciens* Da16 (Da16)、*B. sp.* Da15 (Da15)、*Providencia rettgeri strain* Da6 (Da6) 及 *B. aryabhattai* Da2 (Da2) 搭配產酸能力佳、生長速率快之 *B. coagulans* L12 (L12) 作為共生細菌來源，進行二階段混合式發酵產品。

II. 發酵產品之製備

發酵製程參考 Chen *et al.* (2009) 之方法。以 1:1 的比例混合豆粕和羽毛粉作為發酵基質，將發酵基質外加 30% 之水分，並以 121°C 滅菌 30 分鐘，然後將其冷卻至 45°C。將 10⁶ CFU/g 的五種芽孢桿菌菌株中混合，並與 50% w/w 滅菌水一起接種於基質，靜置冷卻後進行發酵。發酵分為二階段：第一段發酵為原料中加入 *B. subtilis* var. *natto* (Bac)、*B. amyloliquefaciens* Da16 (Da16)、*B. sp.* Da15 (Da15)、*Providencia rettgeri strain* Da6 (Da6) 及 *B. aryabhattai* Da2 (Da2) 等 5 種菌粉，並調整發酵原料之菌數至 10⁶ CFU/g feed，外加水份 10%，於 37°C 下好氧發酵 2 天。第二段發酵為調整第一階段發酵原料之 *B. coagulans* L12 (L12) 菌液，使經第一階段發酵之原料含 L12 菌數達 10⁶ CFU/g feed，外加水份 10%，於室溫 25°C 下，使用不鏽鋼密封性良好的容器，注入二氧化碳惰性氣體，進行厭氧發酵 5 天，發酵完畢後，放入 65°C 烘箱乾燥至水分達到 12% 以下，即成二階段混合型發酵產品。成品外觀呈淡黃色，無刺激味。

III. 動物飼養管理及試驗設計

本研究之動物試驗於農業部畜產試驗所南區分所屏東場區 (屏東內埔) 進行，動物之使用與飼養管理之操作係依據該機構之「實驗動物照護及使用委員會」核准 (IACUC, 編號 101005) 之試驗準則進行。試驗選用 80 頭 (平均體重 78.2 ± 0.15 kg) 杜洛克 × 高畜黑豬雜交肉豬，每處理 5 重複，每重複 4 頭，公母各半，依體重與性別隨機分置於 4 處理組，即飼糧中分別含 3% 魚粉、0、2.5 及 5% TSFP 組。在等粗蛋白質及代謝能基礎下 (CP = 15.5%; ME = 3,265 kcal/kg)，試驗期間 9 週，採任食及自由供應飲水。飼料配方參考如表 1。

IV. 測定項目及成分分析方法

(i) 發酵產品理化性狀

1. pH 值分析：1 g 飼料與 9 mL 滅菌水震盪混合後予以靜置，而後以 pH meter (Digital pH meter, Goodly, Taiwan) 直接測定 pH 值。
2. 發酵原料菌數分析：先以滅菌生理食鹽水對樣品進行序列稀釋。取 0.1 mL 稀釋液塗抹於 Tryptone Soya agar (TSA, Himedia[®])，放置於 37°C 培養 24 小時後計算菌落數作為總菌數。相關理化性狀結果列於表 2。

(ii) 一般成分分析

背最長肌之水分、粗蛋白質及、總能量、灰分、鈣含量、磷含量分析是依 AOAC (2000) 所述方法進行。將去皮、去骨及去除脂肪之左側胸肉，置於 -20°C 下冷凍。測定時將肌肉樣品置於 4°C 冰箱解凍 24 小時，將胸肉絞碎後，取樣測定之。水分之測定使用空氣乾燥法，脂肪之測定使用 Soxhlet 脂肪萃取器以乙醚萃取之，蛋白質測定使用凱式氮法 (Kjeldahl) 測定氮百分率，氮百分率轉換至蛋白質百分率以 6.25 為轉換係數。

1. 水分：將水分測定皿洗淨後，以 105°C 下烘乾 2 小時，取出放入乾燥器，使恢復至室溫後秤重。取 1 g 樣品經秤後放入測定皿，之後放入烘箱 105°C 乾燥 5 小時，取出後放入乾燥器，恢復至室溫後秤重。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. Composition of experiment diets (as-fed basis)

Ingredient, %	3% FM	TSFP, %		
		0	2.5	5
Corn grain	76.44	73.84	74.95	75.71
Soybean meal, 44%	17.96	22.84	18.98	15.50
Fish meal (Peru), 65%	3.00	0.00	0.00	0.00
TSFP	0.00	0.00	2.50	5.00
Limestone (36%)	0.85	0.90	0.90	0.90
Dicalcium phosphate	0.64	1.00	1.04	1.05
Soybean oil	0.56	0.82	0.98	1.14
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
Choline chloride 50%	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamin premix ^a	0.10	0.10	0.10	0.10
Mineral premix ^b	0.10	0.10	0.10	0.10
L-Lys • HCl (78%)	0.00	0.02	0.07	0.11
DL-Met	0.00	0.03	0.03	0.04
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
Analyzed composition, %				
CP	15.39	15.56	15.57	15.52
Ca	0.63	0.66	0.67	0.67
Total P	0.49	0.51	0.51	0.52
Lys	0.81	0.85	0.85	0.84
Met	0.30	0.31	0.32	0.32

^a Supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 400 IU; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 2 mg; Vitamin B₁, 2.6 mg; Vitamin B₂, 2 mg; Pantothenic acid, 30 mg; Niacin, 30 mg; Pyridoxine, 3 mg; Vitamin B₁₂, 0.04 mg; Folic acid, 0.6mg; Biotin, 0.2 mg.

^b Supplied per kilogram of diet: Supplied per kilogram of diet: Fe (FeSO₄ • 7H₂O) 80 mg; Cu (CuSO₄ • 5H₂O), 5 mg; Mn (MnSO₄), 6 mg; Zn (ZnO), 45 mg; I (KI), 0.2 mg; Se (NaSeO₃), 0.1 mg; Co (CoSO₄ • H₂O), 0.35 mg.

表 2. 二階段混合發酵產品理化性狀

Table 2. Physicochemical characteristics of two-stage fermented feather meal-soybean meal

Item	Initial	First stage	Second stage	After dried
pH value	5.76 ± 0.01	7.60 ± 0.01	6.13 ± 0.01	5.97 ± 0.04
Total bacteria analysis, log CFU/g feed	1.02 ± 0.04	8.14 ± 0.07	8.53 ± 0.06	7.52 ± 0.01
Lactic acid, mg/g feed	2.53 ± 0.19	—	—	12.19 ± 0.22
Fe, ppm	100.03 ± 10.4	—	—	412.03 ± 38.6
Dry matter, %	—	—	—	94.6 ± 0.21
Crude ash, %/DM	—	—	—	4.63 ± 0.11
Crude protein, %/DM	—	—	—	57.2 ± 0.92
Gross energy, kcal/kg/DM	—	—	—	3,156 ± 148
Calcium, %/DM	—	—	—	0.25 ± 0.01
Total phosphorus, %/DM	—	—	—	0.54 ± 0.01

Means ± SE (n = 3).

2. 粗蛋白質：稱取樣品 1 g，放入分解瓶內並記錄之，加入混合之催化劑（含水硫酸銅及硫酸鋅 10：1 比例混合）8.8 g，加入 15 mL 之濃硫酸，置於分解爐上加熱（410°C），直到呈青綠色透明後，再加熱 30 分鐘，取出分解瓶待冷後，加入 50 mL 蒸餾水，並再冷卻至室溫。取 4% 硼酸溶液 15 mL，放入 200 mL 三角瓶，並加入 2 滴指示劑，之後連接凱氏氮蒸餾裝置（Kjeldahl system-1002, Foss Tector, 自動消化分解系統），使冷凝器下端浸入三角瓶之硼酸溶液內，將 40% 氫氧化鈉溶液 80 mL 慢慢加入分解瓶內，使其內容物呈強鹼性，之後立即蒸餾，直至餾出液達 75 mL 為止，並用少量蒸餾水洗滌冷凝器下端，然後以 0.1 N 硫酸標準溶液滴定至終點。另與本試驗同時做空白試驗。
3. 總能：物質完全燃燒所放出的熱量，即為該物質所含的熱量，一般稱總熱量（Gross heat）或總能。測定方法如下：將樣品粉碎使能通過 20 網目的篩網，稱取約 1 g 之樣品打成粒狀，秤量已洗淨且烘乾之燃燒皿重量，然後秤量樣品加燃燒皿之重量再扣除燃燒皿量，即得樣品重量。將樣品置於熱量計（Parr-1261, Parr Instrument Company, USA）中燃燒之，記錄最後測得總能、著火線燃燒長度及沖洗液之滴定量，並計算樣品的總能。
4. 灰分：將瓷坩堝洗淨放在 105°C 烘乾 1 小時，取出放入乾燥器，恢復至室溫後秤重之，加入 1 g 之樣品，移入灰化爐中，加熱至 600°C，燃燒 6 小時，之後關閉電源待溫度降至 150°C 時，將坩堝取出放入乾燥器，恢復至室溫後秤重。
5. 鈣：將灰化後之坩堝加入 3N HCl 10 mL，置於電墊板中加熱至呈澄清狀，冷卻過濾後定量至 50 mL。樣品稀釋至適當倍數後加入 1,500 ppm 釳液（減少鈣和其他元素結合），以原子吸收光譜儀（Analyst, PERKIN ELMER, USA）測定其濃度。
6. 總磷：將灰化後之坩堝加入 3N HCl 10 mL，置於電墊板中加熱至呈澄清狀，冷卻過濾後定量至 50 mL。取 5 mL 樣品加入 3 mL 二次水及 2 mL 釳鉬酸作用，靜置 10 分鐘後，以分光光度計（Backman, DU640i, USA）測定。

(iii) 屠體性狀

試驗結束時（表 3），每處理組選取 6 頭（閩公及母豬各半）進行屠宰。屠宰前豬隻經一日禁食，並供應清潔飲水。於屠宰前秤活體重、屠宰後計算屠體重量，並移入 0 - 4°C 之冷藏庫冷藏 24 小時，隨即依台灣區肉品發展基金會（1992 年 8 月出版）之肉豬屠體部位肉分切規格方式進行屠體分切。

(iv) 屠體後背最長肌之 pH 值、感官品評及背最長肌一般組成

pH 值為利用金屬鑽孔器於背最長肌測定點（近 11 肋處），鑽至中心處，使用微電腦 pH 測定儀（HI 8424, Hanna instruments, Italy）插入背最長肌中心處，以測定其 pH 值，每個屠體測定三點求其平均值，測定時間為屠後 45 min（pH 1 h）及屠後 24 hr（pH 24 h）。感官品評（Sensory evaluation）為背最長肌經 80°C 水浴 30 分鐘後修整並取適當大小，由具品評經驗團隊，依嫩度（Tenderness）、風味（Flavor）及多汁性（Juiciness）等 3 項評分（採 10 分制，1 分最差而 10 分最佳）。一般組成分析為採集背最長肌樣品依 AOAC（2000）訂定之方式，測定試驗樣品中含有之水分、灰分、粗脂肪及粗蛋白質。

(v) 屠體背最長肌之肌肉色澤與品質評分測定

1. 肌肉色澤值參考 Means *et al.* (1987) 方法以色差計（Color reader, Minolta Co., Ltd., Japan）測定屠體背最長肌第 10 - 11 肋骨間腰眼面積表面之亮度值（Lightness, L value）、紅色值（Redness, a value）及黃色值（Yellowness, b value）。
2. 肌肉品質評分依美國國家豬生產協會（NPPC, 1991）之豬肉品質鑑定圖譜，測定背最長肌之肉色、緊實度（firmness）及大理石紋（marbling）評分。肉色分數由 1 - 6 表示數值越低表示顏色越淡，數值越高表示顏色越深。緊實度分數區分為 5 級，1 表示非常軟及滲水嚴重；2 表示軟及滲水；3 表示微軟及滲水輕微；4 表示具適中的硬度及乾燥度；5 表示硬度及乾燥度高。大理石紋的分數區分 10 級，1 表示幾乎無大理石紋；2 表示有少量大理石紋；3 表示有中度量大理石紋；4 表示稍具多量大理石紋；10 表示具有多量大理石紋。
3. 腰眼面積：於第 10 與 11 肋骨處切開之背最長肌之橫切面，以描圖紙繪之，再以葉面積測定儀（Portable Area Meter, LI-3000, U.S.A）測定面積，單位為平方公分。
4. 保水性（Water-holding capacity）：依據 AOAC（1987）及 Dagbjartsson and Solberg（1972）之方法。稱取 5 g 樣品，混合 10 g 的水，放入 50 mL 離心管秤重，用試管震盪器震盪 1 min，以 2,000 xg 於 15°C 下離心 10 min 後倒掉上澄液，並秤取下層沈澱樣品重。（保水性（%）= 離心後沈澱樣品重 / 原樣品重 × 100）。
5. 滴水失重率（Drip loss）：依 Honikel（1998）方法進行，以「（原始肉重 - 冷藏後肉重） / 原始重」× 100，重量百分比組成方式表示。

6. 蒸煮失重 (Cooking loss)：依 Florene *et al.* (1994) 之方法修飾之，以「(原始肉重 - 熟肉重) / 原始重」× 100，重量百分比組成方式表示。

表 3. 二階段混合發酵產品對肥育豬之屠體分切率性狀之影響

Table 3. Effect of diets supplemented with Two-stage fermented feather meal-soybean meal on carcass cutability characteristics in finishing pigs

Item	3% FM	TSFP, %			SEM
		0	2.5	5	
Period, 9 WK (Trial)					
Initial weight, kg	78.17	78.44	78.13	78.15	0.65
Finish weight, kg	111.24 ^c	111.90 ^c	115.58 ^b	118.79 ^a	1.20
Empty body					
Slaughter weight, kg	108.03 ^b	108.17 ^b	110.43 ^{ab}	113.14 ^a	1.89
Hot carcass weight, kg	92.57 ^b	93.08 ^b	94.9 ^{ab}	97.23 ^a	1.71
Dressing, %	85.68	86.08	85.93	85.97	0.10
Carcass length, cm	100.23	100.68	101.25	102.65	1.12
Back fat thickness, cm					
First rib	2.90	2.92	2.72	2.70	0.21
Last rib	2.21	2.15	2.19	2.10	0.15
Last lumba	2.59	2.52	2.52	2.51	0.16
Average	2.57	2.53	2.48	2.44	0.11
10st rib		2.01	1.93	1.91	0.23
Lean meat, %	49.74	49.76	49.49	50.06	0.08
Fat, %	15.99	14.75	15.10	14.35	0.12
Bone, %	15.31 ^{ab}	16.41 ^a	15.50 ^{ab}	14.99 ^b	0.05

The data were given as mean (n = 6).

^{a, b} Means with the different superscripts differed significantly (P < 0.05).

(vi) 屠體背最長肌之脂肪酸組成分析

1. 樣品前處理：採集左側屠體之第 10 - 11 肋骨間背最長肌，先去筋膜及脂肪後，切成 2 cm 寬之正方形肉塊，使用絞肉機 (Butcher Boy, TCA-12)、通過 3/16 吋之絞盤，絞碎、混合後採樣測定。
2. 樣品經冷凍乾燥機冷凍乾燥後，以研鉢磨成細粉後依照蘇等 (2006) 參考 Sukhija and Palmquist (1988) 方法，之簡易萃取轉酯化步驟，將總脂質脂肪酸甲基酯化。
3. 甲基化處理：取樣品 5 g 於 -70°C 之冷凍箱預凍 24 小時後，置入冷凍乾燥機 (Yamato, Neocool, Japan) 中經 24 - 48 小時乾燥後，採 0.2 g 放入螺旋試管中，加入 2 mL 之 Benzene 及 3 mL 之 Methanolic HCl，置於 70°C 之水浴槽中，水浴 2 小時後取出，冷卻至室溫。加入 6% 之 K₂CO₃ 5 mL，再加入 Benzene 2 mL 混合，然後置於離心機 (Ultracentrifuge CR5B2, HITACHI, JAPAN)，以 1,500 xg 離心 5 分鐘。取上層液加入 1 g 之無水硫酸鈉及適量之活性炭，以 0.45 μm 尼龍濾膜 (MILLIPORE Cat No. SLHV 013) 過濾後置於 -40°C 之冷凍箱凍存備用。
4. 氣相層析儀條件設定：A. 取經甲基化之樣品 1 μL 注射至氣相層析儀 (Hitachi G-5000) 中分析脂肪酸組成。B. 氣相層析儀分析條件 (A) 管柱：不銹鋼材質，尺寸 2 m × 2 mm ID，載體 100/120 chromosorb WAW，液相 10% SP 2330。(B) 載體氣壓力：N₂ (1.2 kgf/cm²)。(C) 檢測器：火焰離子檢測器 (flame ionization detector, FID)。(D) 注入口 (injector) 溫度：240°C。(E) 檢測器 (detector) 溫度：250°C。(F) 起始溫度：160°C，維持 8 分鐘。(G) 升溫速率：2°C / min。(H) 最終溫度：210°C，維持 15 分鐘。
5. 脂肪酸組成採用 PEAK-ABC 層析積分處理及數據擷取系統分析處理，並以脂肪酸標準品 (Sigma, AOSC No.6) 之脂肪酸甲基酯含量比較對照判讀而得。

V. 統計分析

試驗獲得之資料，利用統計分析系統 (SAS, 2002)，以一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行變方分析，後經 Tukey 多重比較法 (Tukey test) 測試各組平均值差異之顯著性。

結果與討論

I. 二階段混合發酵產品之理化性狀及營養成分

本試驗所製作之二階段混合發酵產品理化性狀，列於表 2 所示。在 pH 值方面，*B. subtilis natto* 適宜在 pH 中性下生長 (Wu *et al.*, 2013)。*B. subtilis natto* 繁殖過程中隨著鹼性代謝產物的產生 (如：納豆激酶)，培養環境會趨向鹼性 (Allagheny *et al.*, 1996)，此與本試驗第一階段發酵後 pH 值由 5.76 上升至 7.30 結果相符。經過第二階段發酵 pH 值可下降至 6.13。在菌數方面，經過滅菌之後原料中總菌數為 1.02 log CFU/g feed，在第一階段發酵後總菌數升高，達到 8.14 log CFU/g feed，而第二階段發酵過後，達到 8.53 log CFU/g feed。在經過 65°C 乾燥之後，pH 值下降至 5.97，總菌數則保持在 7.52 log CFU/g feed。而在產酸方面主要為乳酸，發酵產品之乳酸含量可達 12.33 mg/g feed，並散發乳酸味。其次為醋酸，經乾燥後則未有醋酸檢出。*B. coagulans* L12 (L12) 具有孢子化之能力，此可避免飼料經乾燥、打粒時溫度升高而造成之死亡。營養成分分析結果，2 次平均值為：乾物質 94.6%、灰分 4.63%、粗蛋白質 57.2%、總能 3,156 kcal/kg/DM、鈣 0.25% 及總磷 0.54%。

芽孢桿菌 *subtilis* var. *natto* N21 (Bac) 主要以分解植物蛋白為主，並非針對羽毛，因此筆者等自行篩選具有角蛋白分解能力強之 *B. amyloliquefaciens* Da16 (Da16)、*B. sp.* Da15 (Da15)、*B. Providencia rettgeri strain* Da6 (Da6) 及 *B. aryabhatai* Da2 (Da2) 再結合 *B. subtilis* var. *natto* N21 (Bac)，此五菌株作為發酵羽毛 大豆粕產物之一階段菌株。N21 菌株主要分離自大豆粕中，其蛋白酶分解能力強，可作為玉米—大豆粕為主飼糧中發酵分解蛋白之菌株，可將大分子蛋白質分解成小分子蛋白或胜肽 (Chen *et al.*, 2009; Yeh *et al.*, 2018)。此菌株並非針對角蛋白所篩選，而 Da2、Da6、Da15 及 Da16 等四株菌均為自羽毛廢棄物所篩選出的菌株，具有分泌高角蛋白酶及分解羽毛之能力。Peng *et al.* (2019) 以 *B. licheniformis* BBE11-1 及 *Stenotrophomonas. maltophilia* BBE11-1 共培養方式提高對羽毛降解效率。此與本試驗結果相似 (Huang *et al.*, 2021)，以共培養方式，可於第二天將羽毛降解率提高至 74%，因此以混合菌株作為羽毛粉—大豆粕發酵原料之第一階段好氧菌株有助於提高羽毛之降解率。

利用 *Kocuriarosea* LPB3 對羽毛粉進行發酵，結果顯示發酵後羽毛粉之 Lys、Met、His、Ala、Cys、Tyr、Thr 及 Glu 胺基酸含量上升，且胺基酸消化率亦有改善 (Bertsch *et al.*, 2005)。而 Lei *et al.* (2011) 以 *B. subtilis* var. *natto* N21 及 *S. cerevisiae* Y10 兩階段發酵羽毛粉，經過二階段發酵之後發酵原料 pH 值可降低至 5.46，其中 N21 菌數可達約 10⁷ CFU/g feed，而 Y10 可達 10⁸ CFU/g feed，其成因為經過第一階段菌株發酵之後，菌株會利用基質中的蛋白質做為其碳、氮源，而對其中氮元素進行氨化作用 (Ammonification)，將含氮的物質經分解產生氨，因此在第一階段發酵之後，會使 pH 值升高，同時第一階段發酵菌種之菌數也會上升。而第二階段加入酵母菌，在厭氧環境下，酵母菌生長同時會產酸，因而造成發酵基質中 pH 值下降，而菌數上升的情況，而本試驗與作者分析有相似結果。*Bacillus* sp. 及 *B. coagulans* 具有孢子化形成能力 (Gandhi, 1994; Sanders *et al.*, 2001)，可抵禦高溫高壓及低 pH 值 (Palop *et al.*, 1999)。在低溫 (55°C) 烘乾處理對之類芽孢桿菌菌數影響較小，但總乳酸菌數則降低至 7.52 log CFU/g。*B. coagulans* L12 (L12) 是一種產乳酸之菌，但正式名稱為 *B. coagulans*，其生產芽孢能幫助菌體抵禦高溫及乾燥環境中存活。

II. 屠體分切率性狀

二階段混合發酵產品對肥育豬之屠體分切率性狀之影響，如表 3 所示。添加 5% TSFP 組其屠宰體重及屠體重量顯著較 3% 魚粉組及 0% TSFP 組高 (P < 0.05)，而添加 5% TSFP 組其骨骼比例顯著較 0% TSFP 組低 (P < 0.05)。屠宰率、背脂厚度、瘦肉率及脂肪率方面，於各組間均無差異。Chen *et al.* (2009) 指出經過發酵處理後的飼料可使大分子分解或轉化為較小的分子，而更容易為動物吸收，本試驗添加 5% TSFP 組，其與 3% 魚粉組之屠體平均背脂厚度，在統計上雖無差異，但能降低 5.3% 平均背脂厚度與脂肪比例現象，有降低脂肪堆積情形。

III. 屠後肌肉 pH 值變化、感官評分及一般組成

二階段混合發酵產品對屠後背最長肌之 pH 變化、感官評分及一般組成之影響，如表 4 所示。豬隻屠宰後 45 min (Postmortem 45 min)、24 小時 (Postmortem 24 min) 之里肌肉 pH 值及嫩度 (Tenderness)、多汁性

(Juiciness)、風味 (Flavor) 之感官評分與肌肉一般組成 (水分、粗蛋白、粗脂肪及灰分)，於各組間均無差異。

肌肉脂肪 (Intramuscular fat) 含量高者有較佳之食肉品質，且肉質嫩度與肌肉脂肪含量呈正相關，Wood *et al.* (1996) 指出豬背最長肌中的脂肪及飽和脂肪酸含量，與肉質風味、多汁性及嫩度呈正相關。豬隻屠宰後，肌肉內儲存之肝醣，會迅速進行無氧醣解作用轉變成為乳酸，堆積於肌肉內導致 pH 值快速降低，豬隻屠宰後 45 min 之肌肉 pH 值常用於預測水樣肉 (PSE, pale soft exudative pork) 之發生機率，通常屠宰後 45 min 之 pH 值若低於 5.8 時，極可能於 24 hr 後成為 PSE 肉 (Smith and Wilson, 1978)。此外，肌肉之 pH 會影響保水性，豬隻肌肉的正常 pH 值約為 7.4，正常豬肉在屠宰後 6 – 8 小時的 pH 值約為 5.6 – 5.7，而屠宰後 24 小時的 pH 值約為 5.3 – 5.7 (林, 2001)，本試驗屠宰後之背最長肌之 pH 值數據皆高於 5.8，不易成為 PSE 肉。然而，有研究認為利用屠宰後 24 小時之里肌肉 pH 值作為評估豬肉品質應較為客觀，但可用屠宰後 45 min 之 pH 值作為輔助之用 (Wal *et al.*, 1983)。而肌肉 pH 值亦與多種肉品質有顯著相關性，較高的 pH 值對肌肉嫩度、多汁性和香味之感官品評改善有正相關，且能降低肉質蒸煮失重現象 (Van Laack *et al.*, 2001)。

表 4. 二階段混合發酵產品對屠後背最長肌之 pH 變化、感官評分及一般組成之影響

Table 4. Effect of diets supplemented with two-stage fermented feather meal-soybean meal on postmortem pH, sensory score characteristics and proximate composition of *Longissimus dorsi* muscle

Item	3% FM	TSFP, %			SEM
		0	2.5	5	
Longissimus pH					
Postmortem 45 min	5.88	5.94	6.15	6.10	0.23
Postmortem 24 h	5.59	5.60	5.75	5.75	0.21
Chemical compositions, %					
Moisture	73.42	72.48	72.47	72.76	0.40
Crude protein	23.35	23.52	23.32	23.11	0.28
Crude fat	2.76	2.74	2.62	2.58	0.17
Ash	1.17	1.16	1.15	1.16	0.03
Sensory score					
Sensory tenderness score [#]	6.58	6.56	6.56	6.53	0.19
Sensory juiciness score [#]	5.94	5.78	5.89	5.80	0.21
Sensory flavor score [#]	2.96	2.83	2.89	2.88	0.14

The data were given as mean (n = 6).

Sensory (tenderness, juiciness and flavor) score[#]: 1–10 scale.

IV. 背最長肌之色澤及品質評分

二階段混合發酵產品對背最長肌之色澤及肉質評分之影響，如表 5 所示。隨著提高 TSFP 添加量，能增加背最長肌之紅色度 (Redness, a)，以添加 5% TSFP 組顯著較 3% 魚粉組及 0% TSFP 組高 (P < 0.05)。Miltenburg *et al.* (1992) 指稱，L 值與肌肉中鐵及血肌質 (hematin) 含量呈顯著負相關，而紅色度 (a 值) 則呈顯著正相關。故本試驗提高 TSFP 添加量，其紅色度增加之主要因素應與 TSFP 之分析鐵質含量達 412.03 ppm (未發酵飼料為 100.03 ppm 含量) 有關 (表 2 所示)。背最長肌之 L 值、b 值、保水性、滴水失重、蒸煮失重、緊實度評分及腰眼面積於各處理間則無顯著差異。

肥育豬飼糧添加 0.02% 益生菌 (至含 1×10^9 cfu/g *B. coagulance*, 5×10^8 cfu/g *B. lichenformis*, and 1×10^9 cfu/g *B. subtilis*)，其肌肉 pH 值、腰眼面積、緊實度評分、蒸煮失重、保水性及背脂厚度無顯著差異 (Balasubramanian *et al.*, 2016)，與本試驗有相似結果。Apple *et al.* (2003) 指出豬隻肥育期日糧中添加羽毛粉至 6%，將使肉色等級顏色、肉質中紅色值及黃色值逐漸顯著降低，但在本試驗則是發現添加發酵產品能增加紅色度。飼糧添加 0.2% 益生菌 (至少含 1.0×10^{10} viable spores/g of *B. subtilis* endospores 及 1.0×10^9 viable spores/g of *C. butyricum* endospores) 可增加肌肉之紅色度 (Meng *et al.* 2010)。Yan and Kim (2011) 之研究指出，葡萄果渣經啤酒酵母菌發酵後添加於肥育豬飼糧中 (添加 3%)，其肌肉之紅色度及黃色度顯著較對照組 (無添加) 高，對亮度則無顯著差

異，與本試驗有相似結果。Szabo *et al.* (2001) 於肥育期豬隻飼糧不同蛋白質來源之研究發現，魚粉組與大豆粕組 (等蛋白能量) 之屠體重、瘦肉重、脂肪重、屠宰後 4 小時及 24 小時之背最長肌 (*Longissimus dorsi* muscle) 之顏色評分及亮度值，兩組間無顯著差異，本試驗結果與其相似。顯示餵飼肥育期豬隻之蛋白質來源，大豆粕比魚粉不僅價格較低廉，且對肉質色澤與品質評分無差異。

表 5. 二階段混合發酵產品對背最長肌之色澤及肉質評分之影響

Table 5. Effect of diets supplemented with two-stage fermented feather meal-soybean meal on meat color and meat quality score of *Longissimus dorsi* muscle

Item	3% FM	TSFP, %			SEM
		0	2.5	5	
Meat color					
L (lightness)	50.14	50.00	49.44	49.10	0.79
a (redness)	2.82 ^b	2.78 ^b	3.13 ^{ab}	3.24 ^a	0.16
b (yellowness)	5.89	5.74	5.89	6.00	0.23
Muscle meat quality score¹					
Color score at 0 min	3.00	2.90	3.20	3.25	0.17
Color score at 20 min	3.25	3.15	3.30	3.4	0.25
Marbling score at 0 min	3.15	3.00	3.35	3.35	0.31
Marbling score at 20 min	3.20	3.15	3.70	3.70	0.37
Firmness score	3.60	3.58	3.67	3.70	0.2
LM area ² , cm ²	38.31	38.16	39.56	40.57	1.69
WHC ³ , %	49.21	49.01	50.36	51.27	1.53
Drip loss, %	28.78	28.65	26.62	25.93	1.58
Cook loss, %	19.30	19.13	19.62	19.46	1.57

The data were given as mean (n = 6).

^{a, b} Means with the different superscripts differed significantly (P < 0.05).

Lightness = measure of lightness to darkness (larger number indicates a lighter color); redness = measure of redness (larger number indicates a more intense red color) and yellowness = measure of yellowness (larger number indicates more yellow color).

¹ Muscle meat quality score: Color score: 1 represents pale, 6 represents dark; Marbling: 1 represents rare, 10 represents plenty; Firmness score: 1 represents soft, 5 represents firm. (National Pork Producers Council, 1991).

² LM area = Longissimus muscle area at the 10th rib.

³ WHC = water-holding capacity.

飼糧中添加 0.2% 益生菌 (至少含 1.0×10^{10} viable spores/g of *B. subtilis* endospores 及 1.0×10^9 viable spores/g of *Clostridium butyricum* endospores) 並不影響肌肉之保水性、滲出液、蒸煮失重、緊實度評分及腰眼面積，但肌肉顏色評分 (Meat color score) 及大理石紋評分 (Marbling score) 則顯著增加 (Meng *et al.*, 2010)。Ellis *et al.* (1996) 及 Le Dividich *et al.* (1987) 指出腰眼面積之增加取決於攝食之代謝能，而大理石紋評分則能藉由提高營養攝食量而增加，而 Santos and Gomez (1983) 指出在生長肥育豬利用發酵產物取代大豆粕的試驗中，屠體性狀並無顯著差異，上述結果皆與本試驗發現相同。

V. 背最長肌之肌肉脂肪酸組成

二階段混合發酵產品對背最長肌之脂肪酸組成之影響，如表 6 所示。飽和脂肪酸方面，添加 2.5 及 5% TSFP 組之肉豆蔻酸 (Myristic acid; C_{14:0}) 及飽和脂肪酸 (Saturated fatty acid, SFA) 含量顯著較 3% 魚粉組低 (P < 0.05)。添加 5% TSFP 組之棕櫚酸 (Palmitic acid; C_{16:0}) 含量，顯著較其他處理組為低 (P < 0.05)。不飽和脂肪酸方面，添加 5% TSFP 組之油酸 (Oleic acid; C_{18:1}) 及單不飽和脂肪酸 (Monounsaturated fatty acid, MUFA) 含量顯著較 3% 魚粉組高 (P < 0.05)。5% TSFP 組之不飽和脂肪酸 (Unsaturated fatty acid, USFA) 含量顯著較 3% 魚粉組及 0%

TSFP 組為高 ($P < 0.05$)。3% 魚粉組之飽和脂肪酸 (SFA) / 不飽和脂肪酸 (USFA) 比例顯著較 5% TSFP 組為高 ($P < 0.05$)。

表 6. 二階段混合發酵產品對背最長肌之脂肪酸組成之影響

Table 6. Effect of diets supplemented with Two-stage fermented feather meal-soybean meal on the fatty acid composition of *Longissimus dorsi* muscle

Item	3% FM	TSFP, %			SEM
		0	2.5	5	
SFA					
C _{14:0}	2.53 ^a	2.29 ^{ab}	2.22 ^b	2.16 ^b	0.14
C _{16:0}	25.61 ^a	24.71 ^a	24.80 ^a	23.29 ^b	0.65
C _{18:0}	14.94	14.46	14.17	14.43	0.47
C _{20:0}	1.12	1.09	1.05	1.06	0.07
C _{22:0}	0.64	0.64	0.62	0.66	0.04
MUFA					
C _{16:1}	5.56	5.86	6.26	6.22	0.60
C _{18:1}	36.37 ^b	37.15 ^{ab}	37.14 ^{ab}	38.23 ^a	0.85
C _{20:1}	1.33	1.35	1.37	1.33	0.05
PUFA					
C _{18:2}	11.38	11.84	12.04	12.22	1.13
C _{18:3}	0.53	0.61	0.39	0.35	0.21
SFA ¹	44.83 ^a	43.19 ^{ab}	42.80 ^b	41.66 ^b	0.97
MUFA ²	43.26 ^b	44.36 ^{ab}	44.77 ^{ab}	45.78 ^a	1.07
PUFA ³	11.91	12.45	12.43	12.57	1.27
USFA ⁴	55.17 ^b	56.81 ^{ab}	57.20 ^{ab}	58.34 ^a	0.96
SFA/USFA ⁵	0.81 ^a	0.76 ^{ab}	0.78 ^{ab}	0.71 ^b	0.03
Iodine Value (IV) ⁶	58.70	60.67	60.84	61.9	1.83

The data were given as mean (n = 6).

^{a, b} Means with the different superscript differed significantly ($P < 0.05$).

¹ SFA : saturated fatty acid (C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0} + C_{20:0} + C_{22:0}).

² MUFA : monounsaturated fatty acid (C_{16:1} + C_{18:1} + C_{20:1}).

³ PUFA : polyunsaturated fatty acid (C_{18:2} + C_{18:3}).

⁴ USFA : unsaturated fatty acid (C_{16:1} + C_{18:1} + C_{20:1} + C_{18:2} + C_{18:3}).

⁵ SFA/USFA : saturated fatty acid (C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0} + C_{20:0} + C_{22:0}) / unsaturated fatty acid (C_{16:1} + C_{18:1} + C_{20:1} + C_{18:2} + C_{18:3}).

⁶ Iodine Value (IV) = C_{16:1} × 0.95 + C_{18:1} × 0.86 + C_{18:2} × 1.732 + C_{18:3} × 2.616 + C_{20:1} × 0.785 + C_{22:1} × 0.723 (A.O.C.S, 1998).

由表 6 之結果顯示 TSFP 組能降低 C_{14:0}、C_{16:0} 及 SFA 與提高 C_{18:1}、MUFA、USFA 含量。Yan and Kim (2011) 指出肥育豬飼糧中添加 3% 葡萄皮渣，經 *S. boulardii* 發酵後之葡萄皮渣，其肌肉脂肪酸之棕櫚酸、硬脂酸 (Stearic acid; C_{18:0})、花生酸 (Arachidic acid; C_{20:0}) 及 SFA 含量顯著降低，但顯著增加次亞麻油酸 (Linoleic acid; C_{18:2})、多不飽和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) 及 PUFA/SFA 比值。益生菌如 *S.* 之添加，能增加肉雞中胸肌部位之次亞麻油酸和不飽和脂肪酸含量，其原因為該等益生菌能刺激增加腸道發酵而影響微生物代謝產物之菌群數量及活性 (Endo *et al.*, 1999)。上述結果皆與本試驗增加飼糧 TSFP 之結果類似。此外，脂肪酸中的飽和與單不飽和脂肪酸對於肉類的風味呈正相關，多不飽和脂肪酸則呈負相關 (Fisher *et al.*, 2000)。本試驗對於感官品評特性中的風味無顯著增加，顯示適當添加二階段混合型 TSFP 於動物餵飼，不影響肉質之風味。

結 論

飼糧中添加 5% TSFP 組取代 3% 魚粉組具有提升背最長肌之紅色度及不飽和脂肪酸含量，與降低飽和脂肪酸含量之效果，且適當添加二階段混合發酵產品於動物餵飼，不影響肉質之風味。

參考文獻

- 林高塚。2001。肉品加工之基礎與技術。華香園出版社，臺北市。
- 蘇天明、劉建甫、邱啟明、蔡金生、廖宗文、盧金鎮。2006。不同品種與屠宰體重對豬隻背最長肌化學組成分、肉色及脂肪酸組成之影響。畜產研究 39：111-119。
- AOAC. 1987. Official methods of analysis of AOAC International, 14th edition. Association of Official Analytical Chemistry. Washington, D. C.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th edition. Association of Official Analytical Chemistry. Maryland, USA.
- Allagheny, N., Z. A. Obanu, G. C. Platt, and J. D. Owens. 1996. Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation.
- Apple, J. K., C. B. Boger, D. C. Brown, C. V. Maxwell, K. G. Frozen, W. J. Roberts, and Z. B. Johnson. 2003. Effect of feather meal on live animal performance and carcass quality and composition of growing-finishing swine. J. Anim. Sci. 81: 172-181.
- Balasubramanian, B., T. Li, and I. H. Kim. 2016. Effects of supplementing growing- finishing pig diets with *Bacillus spp.* probiotic on growth performance and meat-carcass grade quality traits. R. Bras. Zootec. 45: 93-100.
- Bertsch, B., C. A. Ogden, K. Sidhu, H. Le-Niculescu, R. Kuczynski, and A. B. Niculescu. 2005. Convergent functional genomics: a Bayesian candidate gene identification approach for complex disorders. Methods. 37: 274-279.
- Chen, K. L., W. L. Kho, C. F. Yung, C. W. Hsieh, and B. C. Weng. 2009. Effects of *Bacillus subtilis natto* and *Saccharomyces cerevisiae* mixture fermented feed on the growth performance enhancement of broilers. Poult. Sci. 88: 309-315.
- Chiba, L. I. 2010. By product feeds: Animal origin. In Encyclopedia of Animal Science, 2nd ed. (ed. Pond, W. G, and Bell, A. W.). CRC Press: New York, NY, USA, pp. 169-174.
- Dagbjartsson, B. and M. Solberg 1972. A simple method to determine the water-holding capacity of muscle foods. J. Food Sci. 37: 499-500.
- Ellis, M., A. J. Webb, P. J. Avery, and I. Brown. 1996. The influence of terminal sire genotype, sex, slaughter weight, feeding regimen and slaughter house on growth performance and carcass and meat quality in pigs and on the organoleptic properties of fresh pork. Anim. Sci. 62: 521-530.
- Endo, T., M. Nakano, S. Shimizu, M. Fukushima, and S. Miyoshi. 1999. Effects of a Probiotic on the Lipid Metabolism of Cocks Fed on a Cholesterol-enriched Diet. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63: 1569-1575.
- Farang, A. M. and M. A. Hassan, 2004. Purification, characterization and immobilization of keratinase from *Aspergillus oryzae*. Enzym. Microbial. Technol. 34: 85-93.
- Fisher, A. V., M. Enser, R. I. Richardson, J. D. Wood, G. R. Nute, E. Kurt, L. A. Sinclair, and R. G. Wilkinson. 2000. Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed production systems. Meat Sci. 55: 141-147.
- Florene, G., C. Touraille, A. Oual, M. Renner, and G. Moni. 1994. Relationships between postmortem pH changes and some traits of sensory quality in veal. Meat Sci. 37: 315-325.
- Gandhi, A. B. 1994. Probiotic lactic acid bacteria. East. Pharm. 37-43.
- Gessesse, A., R. Hatti-Kaul, B. A. Gashe, and B. Mattiasson, 2003. Novel alkaline proteases from alkaliphilic bacteria grown on chicken feather. Enzyme Microb. Technol. 32: 519-524.
- Guo, G., J. Chu, J. G. Wang, Q. X. He, and K. C. Liu. 2013. A two-step biotechnological process for improving nutrition value of feather meal by *Bacillus licheniformis* S6. J. Northeast Agric. Univ. 20: 71-77.
- Hong, K. J., C. H. Lee, and S. W. Kim, 2004. *Aspergillus oryzae* GB 107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and soybean meal. J. Food Med. 7: 430-436.

- Honikel, K. O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49: 447-457.
- Huang, H. J., B. C. Weng, Y. D. Hsuuw, Y. S. Lee, and K. L. Chen. 2021. Dietary supplementation of two-stage fermented feather-soybean meal product on growth performance and immunity in finishing pigs. *Animals.* 11: 1527.
- Huang, H. J., H. S. Wang, H. L. Lee, C. B. Hsu, C. H. Wang, C. Y. Lin, B. C. Hsuuw, Y. D. Weng, and K. L. Chen. 2014. Effects of dietary inclusion of two stage mix-probiotics fermented feedstuff on growth performances and immune response of growing pigs. *Journal of Taiwan Livestock Research*, 47: 239-250.
- Hung, P. 2003. List of feed ingredients (including additives). Zuo Huo Dou Zhen Publishing House: Tainan City, Taiwan. pp. 211-213.
- Jones, C. K., J. M. de Rouchey, J. L. Nelssen, M. D. Tokach, S. S. Dritz, and R. D. Goodband. 2010. Effects of fermented soybean meal and specialty animal protein sources on nursery pig performance. *J. Anim. Sci.* 88: 1725-1732.
- Le Dividich, J., J. Noblet, and T. Bikawa. 1987. Effect of environmental temperature and dietary energy concentration on the performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs fed to equal rate of gain. *Livest. Prod. Sci.* 17: 235-246.
- Lei, D. D., Y. J. Hwang, R. H. Yeh, C. C. Huang, and K. L. Chen. 2011. Effect of two stage mix-probiotics fermentation of enzyme digested feather meal on growth performance and carcass traits in broiler. *Poult. Sci.* 88: 309-315.
- Kim, S. W., E. Van Heugten, F. Ji, C. H. Lee, and R. D. Mateo. 2010. Fermented soybean meal as a vegetable protein source for nursery pigs: I. Effects on growth performance of nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 88: 214-224.
- Means, W. J., A. D. Clark, and J. N. Sofos. 1987. Binding, sensory and storage properties of algin/calcium structured beef steaks. *J. Food Sci.* 52: 252-256.
- Meng, Q. W., L. Yan, X. Ao, T. X. Zhou, J. P. Wang, J. H. Lee, and I. H. Kim. 2010. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood in characteristics growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 88: 3320-3326.
- Miltenburg, J. A. G., Th. Wensing, F. J. M. Smulders, and H. J. Breukink. 1992. Relationship between blood hemoglobin, plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *J. Anim. Sci.* 70: 2766-2772.
- Moritz, J. S. and J. D. Latshaw. 2001. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal. *Poult. Sci.* 80: 79-86.
- National Pork Producers Council. 1991. Procedures to Evaluate Market Hogs. 3rd ed. Natl. Pork Prod. Council., Des Moines, IA.
- NRC. 2012. Nutrient Requirements of Swine. 11th ed. National Academy Press: Washington, USA, p. 278.
- Palop, A., J. Raso, R. Pagán, S. Condón, and F. J. Sala, 1999. Influence of pH on heat resistance of spores of *Bacillus coagulans* buffer and homogenized foods. *Int. J. Food Microbiol.* 46: 243-249.
- Peng, Z., X. Mao, J. Zhang, G. Du, and J. Chen. 2019. Effective biodegradation of chicken feather waste by co-cultivation of keratinase producing strains. *Microb. Cell Fact.* 18: 1-11.
- Sanders, M. E., L. Morelli, and S. Bush, 2001. *Lactobacillus sporogenesis* not a *Lactobacillus* probiotic. *ASM News* 67: 385-386.
- Santos, J. and G. Gomez. 1983. Fungal protein produced on cassava for growing rats and pigs. *J. Anim. Sci.* 56: 264-270.
- SAS. 2002. SAS/STAT User's guide: Statistics. Version 9. 1st ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Shi, C., Y. Zhang, Z. Lu, and Y. Wang. 2017. Solid-state fermentation of corn-soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for degrading antinutritional factors and enhancing nutritional value. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8: 1-9.
- Smith, W. C. and A. Wilson. 1978. A note on some factors influencing muscle pH 1 values in commercial pig carcasses. *Anim. Prod.* 26: 229-232.
- Suganuma, T., K. Fujita, and K. Kitahara. 2007. Some distinguishable properties between acid stable and neutral types of α amylases from acid producing Koji. *J. Biosci. Bioeng.* 104: 353-362.
- Sukhija, P. S. and D. L. Palmquist. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36: 1202-1206.
- Szabo, C., A. J. M. Jansman, L. Babinszky, E. Kanis, and M. W. A. Verstegen. 2001. Effect of dietary protein source and lysine:DE ratio on growth performance, meat quality, and body composition of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 2857-2865.
- Wal, van. Der., P. G., G. Eikelenboom, and E. Lambooy. 1983. The effect of electrical stunning on pork quality. Dordrecht,

- biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Prog Mater Sci.* 76: 229-318.
- Ward, O. P., W. M. Qin, J. Dhanjoon, J. Ye, and A. Singh. 2006. Physiology and biotechnology of *Aspergillus*. *Adv. Appl. Microbiol.* 58: 1-55.
- Wood, J. D., S. N. Brown, G. R. Nute, F. M. Whittington, A. M. Perry, S. P. Johnson, and M. Enser. 1996. Effects of breed, feed level and conditioning time on the tenderness of pork. *Meat Sci.* 44: 105-112.
- Wu, F. C., S. Z. Chou, and I. L. Shih. 2013. Factors affecting the production and molecular weight of levan of *Bacillus subtilis natto* in batch and fed batch culture in fermenter. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 44: 846-853.
- Yan, L. and I. H. Kim. 2011. Effect of dietary grape pomace fermented by *saccharomyces boulardii* on the growth performance, nutrient digestibility and meat quality in finishing pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24: 1763-1770.
- Yeh, R. H., C. W. Hsieh, and K. L. Chen. 2018. Screening lactic acid bacteria to manufacture two-stage fermented feed and pelleting to investigate the feeding effect on broilers. *Poultry Sci.* 97: 236-246.
- Yuan, L., J. Chang, Q. Yin, M. Lu, Y. Di, P. Wang, Z. Wang, E. Wang, and F. Lu. 2017. Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets. *Anim Nutr.* 3: 19-24.
- Zhang, B., D. D. Jiang, W. W. Zhou, H. K. Hao, and T. G. Niu. 2009. Isolation and characterization of a new *Bacillus* sp. 50-3 with highly alkaline keratinase activity from *Calotes versicolor* faeces. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 583-590.

Effects of two-stage feather meal-soybean meal fermented product on the carcass traits and fatty acid composition of finishing pigs ⁽¹⁾

Hsien-Juang Huang ^{(2)(6)*} Cheng-Yung Lin ⁽³⁾ Chin-Bin Hsu ⁽⁴⁾ and Kuo-Lung Chen ⁽⁵⁾

Received: Aug. 27, 2025; Accepted: Nov. 25, 2025

Abstract

This study investigated the effects of dietary supplementation with a two-stage fermented feather meal–soybean meal product (TSFP) on carcass traits and fatty acid composition in finishing pigs. TSFP was produced by mixing *Bacillus subtilis* var. *natto* N21, *B. amyloliquefaciens* Da16 (Da16), *B. sp.* Da15 (Da15), *Providencia rettgeri* strain Da6 (Da6), and *B. aryabhatai* Da2 (Da2), followed by two-stage fermentation: aerobic fermentation for 2 days. The microbial solution of *B. coagulans* L12 (L12) to the two-stage fermentation was added and mixed well, which underwent anaerobic fermentation for 5 days under room temperature. The mixture was then oven-dried and prepared into TSFP. Eighty hybrid finishers (Duroc × KHAPS) (average body weight 78.2 ± 0.15 kg) were selected and randomly assigned to four dietary treatments: 3% fish meal, 0, 2.5, and 5% TSFP, with five replicates per group and four pigs per replicate. The feeding trial lasted 9 weeks with *ad libitum* access to feed and water. Results showed that the 5% TSFP group had significantly higher meat redness than the 3% fish meal and 0% TSFP groups ($P < 0.05$). $C_{14:0}$ and SFA of saturated fatty acids for subcutaneous fat were significantly lower in the 2.5% and 5% TSFP groups, when compared to the 3% fish meal group ($P < 0.05$). The $C_{16:0}$ content of 5% TSFP group was significantly lower than other treatment groups ($P < 0.05$). With regards to unsaturated fatty acids, the 5% TSFP group showed significantly higher levels of $C_{18:1}$ and monounsaturated fatty acids (MUFA) than that of 3% fish meal ($P < 0.05$). The total unsaturated fatty acids (USFA) of 5% TSFP were significantly higher than those of 3% fish meal and 0% TSFP groups ($P < 0.05$). No significant differences were observed among groups in dressing percentage, back fat thickness, lean meat percentage, postmortem pH, chemical composition of muscles, physical traits, or sensory scores. In conclusion, 5% TSFP can effectively replace 3% fish meal by improving meat color, enhancing unsaturated fatty acid profiles, and reducing saturated fatty acid content.

Key words: Carcass traits, Fatty acid composition, Fermented feather meal, Finishing pigs.

(1) Contribution No. 2846 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, COA-LRI, PingTung, Taiwan, R. O. C.

(3) Technical Service Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R. O. C.

(4) Animal Nutrition Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R. O. C.

(5) The Graduate Institute of Animal Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, R. O. C.

(6) Corresponding author, E-mail: hjhuang@mail.tlri.gov.tw.