

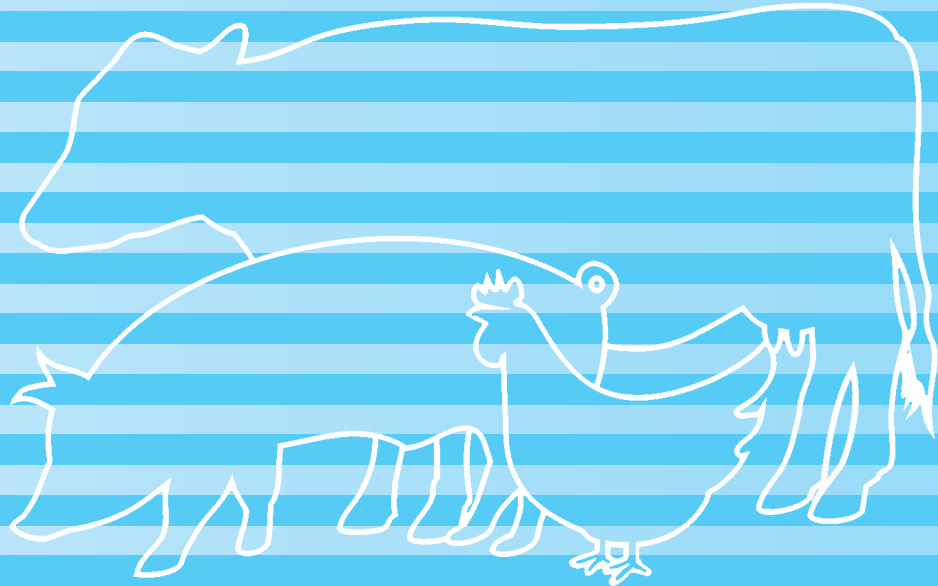
ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR

畜產研究

第五十九卷 第二期 中華民國一十五年 六月 季刊

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 59 No. 2 June 2026



農業部畜產試驗所

TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH INSTITUTE,
MINISTRY OF AGRICULTURE

畜
產
研
究

第
五
十
九
卷

第
二
期

農
業
部
畜
產
試
驗
所

畜產研究編審委員會

主任委員：黃振芳

審查委員：方珍玲 王治華 王建鎧 王政騰 王聖耀 王翰聰 成游貴 江信毅
余 祺 余 碧 吳勇初 吳建平 吳錫勳 李固遠 李春芳 李淵百
李滋泰 李德南 沈朋志 辛坤鎰 辛岱倫 周明顯 林原佑 林資哲
姜中鳳 洪國翔 唐品琦 徐濟泰 張仲彰 張秀鑾 張啟聖 莊士德
許奕婷 許振忠 郭猛德 陳立人 陳志峰 陳志銘 陳怡綦 陳明汝
陳彥伯 陳洵一 陳銘正 陳億乘 彭劭于 黃三元 黃大駿 黃文理
黃文達 黃木秋 黃永芬 黃秀琳 楊國泰 萬一怒 廖宗文 趙清賢
鄭永祥 鄭裕信 盧啟信 顏念慈 蘇忠楨

(以姓名筆劃為序)

編輯委員：李宗育 林正鏞 林秀蓮 涂榮珍 洪哲明 洪靖崎 陳翠妙 張世融
廖仁寶 (以姓名筆劃為序)

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

EDITOR-IN-CHIEF: J. F. HUANG

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

C. L. FANG	Z. H. WANG	C. K. WANG	C. T. WANG	S. Y. WANG
H. T. WANG	Y. G. CHENG	X. Y. JIANG	C. YU	P. YU
Y. C. WU	J. P. WU	H. H. WU	G. Y. LEE	C. F. LEE
Y. P. LEE	T. T. LEE	D. N. LI	P. C. SHEN	K. Y. HSIN
D. L. XIN	M. S. CHOU	Y. Y. LIN	Z. Z. LIN	Z. F. JIANG
G. X. HONG	P. C. TANG	J. T. HSU	S. H. CHANG	H. L. CHANG
C. S. CHANG	S. T. CHUANG	Y. T. HSU	C. C. HSU	M. D. KUO
L. R. CHEN	C. F. CHEN	C. M. CHEN	C. Y. CHEN	M. J. CHEN
Y. P. CHEN	S. E. CHEN	M. Z. CHEN	Y. C. CHEN	S. Y. PENG
S. Y. HUANG	D. J. HUANG	W. L. HUANG	W. D. HUANG	M. C. HUANG
Y. F. HUANG	H. L. HUANG	K. T. YANG	Y. N. WAN	C. W. LIAO
C. H. CHAO	T. M. CHEN	Y. X. ZHENG	C. H. LU	N. C. YAN
J. J. SU				

EDITORS:

C. Y. LEE	C. Y. LIN	H. L. LIN	J. C. TU	C. M. HUNG
C. C. HUNG	T. M. Chen	S. R. CHANG	R. B. LIAW	



畜產研究

編者：農業部畜產試驗所
發行人：黃振芳
發行所：農業部畜產試驗所
地址：臺南市新化區牧場 112 號
電話：(06) 5911211
網址：www.tlri.gov.tw
編輯\印製者：沐福商行
電話：0985-187287
出版日期：中華民國 115 年 6 月出版
定價：新臺幣 200 元

展售處：

國家書店松江門市：臺北市中山區松江路 209 號 1 樓

五南文化廣場：臺中市北屯區軍福 7 路 600 號

國家網路書店：www.govbook.com.tw

GPN : 2005200015

ISSN : 0253-9209

DOI : 10.6991/JTLR

畜產研究

第 59 卷第 2 期

中華民國 115 年 6 月

目 錄

	頁
1. 燕麥在不同成熟期之芻料品質與青貯調製研究 劉建甫、王紓愍、朱明宏	107
2. 紅羽土雞種蛋孵化率關聯基因型分析研究 朱家德、賴永裕、鄧學極、劉宗霖、吳明哲、張秀鑾、楊鎮榮、林德育	120
3. 生乳樣品使用不同抑菌保存劑及保存條件對於自動生菌數分析儀檢驗能力試驗樣品穩定度之影響 陳玥彤、楊明桂、葉亦馨、陳怡璇、涂柏安	131
4. 盤固草生物炭添加對芻料燕麥青貯品質及其應用潛力之研究 王紓愍、劉建甫、陳嘉昇	143
5. 蘭嶼豬繁殖階段飼料之研發 陳益隆、吳昇陽、楊舜堯、李士昕、章嘉潔	154
6. 評估低粗蛋白飼糧於畜試雜交土雞之生長後期生長性能與溫室氣體排放 李雁鈴、洪靖崎、黃培峻、魏良原、張經緯	166
7. 自動電動化與傳統柴油 TMR 餵飼系統對酪農場經營成本之影響 陳怡璇、施意敏、陳玥彤、楊明桂、蕭振文、黃明雅、涂柏安	174
8. 番鴨誘導多能性幹細胞株應用於水禽小病毒疫苗生產之研究 劉振發、陳裕信、江兆弘、曲鳳翔	187
9. 飼糧中不同粗蛋白質含量對荷蘭泌乳牛碳排放量之影響 范耕榛、張俊達、賴京佑、李佳蓉、謝怡慧、洪兮雯、徐濟泰、程梅萍	197
10. 太陽麻及盤固草混植栽培模式之建立 蔡立中、張世融、李姿蓉、林正斌	209
11. 酵素處理於食用包裝原料性質及食品保鮮影響之綜論 黃寂槐、葉瑞涵、吳鈴彩、郭卿雲	220
12. 以乳脂肪酸組成作為泌乳牛飼糧營養監控之探討 王思涵、李佳馨、廖曉涵、張俊達、蕭振文	235
13. 日糧中補充益生菌對泌乳羊於臺灣熱季乾物質採食量、泌乳量及乳成分之影響 鄭閔謙、王紓愍、潘昭治	245
14. 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 黃憲榮、林正鏞、許晉賓、陳國隆	253
15. 苜蓿與燕麥混植生產技術探討 陳嘉昇、劉信宏、游翠凰、王紓愍	266

燕麥在不同成熟期之芻料品質與青貯調製研究⁽¹⁾

劉建甫⁽²⁾ 王紓愨⁽³⁾ 朱明宏⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：114 年 6 月 4 日；接受日期：114 年 7 月 21 日

摘 要

燕麥 (*Avena sativa* L.) 是營養豐富且本土可種植之芻料，深受反芻動物喜愛。本研究以芻料用燕麥新育成之品系 26 與 43 為試驗材料，分別在乳熟期與糊熟期收穫，經不同萎凋時間 (0、12 及 24 小時) 與乳酸菌添加處理，探討不同成熟期與青貯調製方式對燕麥芻料化學成分與青貯品質之影響。試驗結果顯示，在芻料品質方面，不同品系之間以品系 43 具有較高之粗蛋白質含量 (CP, 9.2%)，較低之酸洗纖維 (ADF, 38.0%)、中洗纖維 (NDF, 57.0%) 及水溶性碳水化合物 (WSC, 3.3%) 含量。不同成熟期之間以乳熟期之 CP、ADF、NDF 及 WSC 含量較高，分別為 8.5、41.2、61.7 及 3.7%。隨著萎凋時間增加，乾物率隨之提升，但 WSC 含量下降，CP、ADF 及 NDF 含量在不同萎凋時間均無顯著差異。在青貯品質方面，品系 26 燕麥在糊熟期經萎凋 24 小時且接種乳酸菌之下，具有最高之乳酸含量 (2.06%) 與最低之丙酸 (0.17%)，品質評分 (56.5) 最高。品系 43 燕麥在糊熟期經萎凋 24 小時且接種乳酸菌之下，具有較高之乳酸含量 (3.07%)、最低之丙酸 (0.04%) 與丁酸 (0.16%) 含量，品質評分 (83.5) 最高。根據試驗結果，在相同成熟期以品系 43 燕麥具有較佳之芻料品質，參試燕麥之青貯品質均以糊熟期、萎凋至較高之乾物率及添加乳酸菌為最佳，又品系 43 優於品系 26，可作為燕麥青貯調製之參考。

關鍵詞：芻料品質、乳酸菌、成熟期、燕麥青貯、萎凋。

緒 言

燕麥 (*Avena sativa* L.) 屬於一年生禾本科作物，廣泛栽培於溫帶與涼爽之亞熱帶地區，因產量高、營養豐富及環境適應性廣，可供人類食用與作為動物飼糧 (Suttie and Reynolds, 2004; Sun *et al.*, 2023)。為了發展酪農業，燕麥過去是臺灣冬季主要青刈芻料作物，栽培面積曾達 440 公頃，但隨著農地政策調整，2000 年後僅剩零星栽培 (黃及陳, 2020)，在此期間畜牧業者轉而使用進口燕麥且需求日益增加。近年因進口乾草價格高漲且供應不穩定，又逢休耕地轉作政策調整，國產芻料栽培出現新契機。臺灣中、北部地區冬季冷涼且潮濕的氣候適合燕麥栽培，具有降低進口燕麥依賴性的生產潛力，但由於莖稈粗壯，燕麥不如纖細的盤固草或百慕達草易於曬乾，因此田間乾燥需時長，天候影響風險大而不宜調製成品質良好的乾草，可藉由青貯方式來保存營養價值 (Zhao *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2022)。

青貯品質的優劣會受到含水率、pH 緩衝能力 (pH buffering capacity)、表面菌相及水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrates) 含量等植體因子影響，又植體因子會因品種、栽培氣候及收穫時的成熟期等不同而產生差異 (Kung *et al.*, 2018)。就燕麥而言，孕穗期 (booting stage) 至抽穗期 (heading stage) 的植株成熟度低、粗蛋白質含量高及纖維含量低，芻料品質佳而動物消化率高，但此成熟期之植體含水率高且 pH 緩衝能力強而不易製成良好青貯，需透過萎凋或添加糖蜜、微生物菌劑等調製方式提升青貯品質 (朱等, 2018; Ma *et al.*, 2023)。考量產量、芻料營養成分、青貯品質及青貯後之乾物質損失率，乳熟期 (milk stage) 至糊熟前期 (early dough stage) 是燕麥製作青貯較理想的成熟期 (Stirling *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2023)。然而，品種特性與栽培氣候的差異均會造成燕麥青貯調製之最適收穫期不同，也連帶影響芻料品質 (Ma *et al.*, 2022; 陳及范, 2024)。

青貯品質雖然會受到植體因子影響，但可藉由萎凋、添加物應用、壓實及密封等調製方式改善 (Borreani *et al.*, 2018; Kung *et al.*, 2018)。萎凋有助於降低青貯材料的水分含量，避免因含水率過高而增加發酵生成丁酸與滲出液產

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2833 號。

(2) 國立臺灣大學生物資源暨農學院附設農業試驗場。

(3) 農業部畜產試驗所南區分所。

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

生的風險，減少發酵後的乾物質損失 (Kung *et al.*, 2018)。在添加物方面，化學添加劑如甲酸、丙酸及苯甲酸鈉 (sodium benzoate) 等可抑制黴菌、酵母菌及梭狀菌 (*Clostridia*) 等不利於青貯發酵的微生物生成；乳酸菌劑添加能加快發酵速率，產生大量乳酸，降低 pH 以抑制不良微生物生長而減少青貯的營養流失 (Yitbarek and Tamir, 2014)；纖維素酶 (cellulase) 與糖蜜的添加則分別將植物細胞壁分解為醣類與提供額外可快速發酵的碳水化合物，兩者均能提供乳酸菌所需養分，促進青貯發酵 (Yitbarek and Tamir, 2014)。

燕麥是適合於臺灣栽培且營養價值優於熱帶牧草的 C3 型植物，為了提升國產芻料的品質與自給率，本研究以本土所選育的芻料用燕麥新品系 26 與 43 為試驗材料，分別在乳熟期與糊熟期收穫，經不同萎凋時間 (0、12 及 24 小時) 與乳酸菌劑處理，探討不同成熟期與青貯調製方式對燕麥芻料營養組成與青貯品質之影響，作為日後芻料用燕麥生產與調製之參考。

材料與方法

I. 栽培與收穫

參試之燕麥為農業部畜產試驗所南區分所 (以下簡稱南區分所) 選育作為芻料用品系 26 與 43，分別為晚熟型 (late maturity) 與中熟型 (medium maturity) 燕麥。參試燕麥在 2020 年 11 月 19 日種植於南區分所恆春場區試驗田，試驗採完全隨機設計 (completely randomized design, CRD)，以 2 品系燕麥作為試驗處理，每種處理 4 重複，試驗區域分為 8 個小區，小區面積 3 m × 3 m，採撒播方式種植。試驗田區以臺肥硝磷基黑旺特 1 號有機質複合肥料 (N : P₂O₅ : K₂O = 20 : 5 : 10) 500 kg ha⁻¹ 作為基肥，不施用追肥，利用中耕培土及人工除草進行雜草防除。當燕麥成熟期達乳熟期 (milk stage) 與糊熟期 (dough stage)，每小區分別刈割 1 m²，所收穫燕麥作為植體芻料化學成分測定與後續之青貯試驗。

II. 植體芻料化學成分測定

不同品系、成熟期及萎凋時間之燕麥在青貯前進行取樣，樣品以 60°C 烘乾至恆重後計算乾物率。烘乾後的樣品研磨成粉 (篩網孔徑 1 mm) 進行植體芻料化學成分測定，分析項目包含粗蛋白質 (crude protein, CP)、酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF)、中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 及水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrates, WSC) 含量。分析方法如下：CP 定量參照 AOAC (2019) 之方法，ADF 及 NDF 的測定參考 Vogel *et al.* (1999) 以 ANKOM²⁰⁰ 纖維分析儀 (ANKOM²⁰⁰ fiber analyzer, USA) 進行。WSC 測定以 80% 酒精萃取樣品乾粉，混合萃取液並除去酒精後定量，依蔥酮 (anthrone) 呈色法測定 (Morris, 1948)。

III. 青貯試驗

分別收穫 2 種成熟期之不同品系燕麥，採收後之燕麥分別經 0、12 及 24 小時萎凋，萎凋處理後之植株細切至約 2 – 4 cm，分別以下列方式進行青貯試驗，對照組：青貯時無任何添加劑；接種組：青貯時添加商用乳酸菌劑 (*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*，接種量為 2 × 10⁸ cfu kg⁻¹ 材料鮮重)。材料均勻混合後密封於真空塑膠袋內，每袋裝填 1 kg，每種處理 3 重複，於室溫下存放 5 個月後開封，測定青貯發酵品質。

IV. 青貯品質測定

取 20 g 開封後之青貯樣品加蒸餾水 180 mL，打碎過濾後以酸鹼度計測定青貯酸鹼值。利用氣體層析儀依 Jones and Kay (1976) 的方法測定青貯之乙酸、丙酸、丁酸及乳酸含量。青貯品質以 Flieg 氏評分法 (Flieg's score) 表示，Flieg 氏評分法以青貯中乳酸、乙酸及丁酸各佔所測定揮發性脂肪酸與乳酸總合之當量百分比，將三項數值依 Woolford (1984) 評分公式加總計算，40 分以下表示青貯失敗、40 – 60 分為可接受、60 – 80 分為好的青貯、80 分以上為發酵優良的青貯。

V. 數據統計分析

試驗數據以 SAS 統計軟體 (Statistical Analysis System, SAS 9.4, SAS Institute, Cary, NC, USA) 進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，如達顯著差異，各處理平均值再以最小顯著差異 (least significance difference, LSD) 進行檢定，比較各處理平均值之間是否達差異顯著。

結 果

I. 燕麥青貯前之芻料化學成分

參試燕麥的乾物質、CP、ADF 及 WSC 含量均顯著受到品系、成熟期及萎凋處理彼此間之交感效應、各別主效應影響，但萎凋處理主效應對參試燕麥之 CP、ADF 及 NDF 含量無顯著影響 (表 1)。由萎凋時間與成熟期之交感效應分析結果顯示 (表 2)，參試燕麥乾物率均以乳熟期在未經萎凋下之乾物率最低，品系 26 與 43 分別為 24.5 與 17.8%；糊熟期經萎凋 24 小時之乾物率最高，品系 26 與 43 分別為 50.0 與 44.2%。品系 26 以糊熟期經萎凋 12 小時之 CP 含量最高、ADF 及 NDF 含量較低，分別為 8.0、41.1 及 61.4%。品系 43 以糊熟期經萎凋 24 小時之 CP 含量最高、ADF 及 NDF 含量較低，分別為 9.8、36.7 及 54.2%。在相同萎凋時間下，兩品系之 CP 含量在不同成熟期之差異不顯著，或以乳熟期之含量較高於糊熟期，惟品系 26 經萎凋 12 小時之糊熟期 CP 高於乳熟期；品系 26 之 ADF 與 NDF 含量在不同成熟期之差異均不顯著，品系 43 之 ADF 與 NDF 含量則均以乳熟期高於糊熟期；品系 26 之 WSC 含量除萎凋 12 小時以糊熟期高於乳熟期，其餘在不同成熟期之差異不顯著，品系 43 之 WSC 含量則均以乳熟期高於糊熟期。在相同成熟期下，隨著萎凋時間增加，乾物率隨之提升，但 CP、ADF 及 NDF 含量變化不顯著，WSC 含量則降低。

表 1. 品系、成熟期及萎凋時間對燕麥青貯前之乾物率芻料化學成分之統計差異顯著性

Table 1. Statistical significances of cultivar, maturity stage and wilting time on dry matter and forage chemical composition of oats before ensiling

Source of variation	DM [†]	CP	ADF	NDF	WSC
----- P > F -----					
Cultivar (C)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	<0.001
Maturity stage (M)	< 0.001	0.003	< 0.001	< 0.001	<0.001
Wilted time (W)	< 0.001	0.062	0.173	0.294	<0.001
C × M	< 0.001	0.006	0.035	< 0.001	<0.001
C × W	< 0.001	< 0.001	0.021	0.006	<0.001
M × W	< 0.001	0.001	0.037	0.097	<0.001
C × M × W	0.007	<0.001	0.002	0.057	<0.001

[†] DM, dry matter; CP, crude protein; ADF, acid detergent fiber; NDF, neutral detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrates.

比較各別主效應對燕麥青貯前乾物率與化學成分之影響 (表 3)，燕麥之間以品系 43 具有較高之 CP 含量 (9.2%)，較低之乾物率 (30.1%)、ADF (38.0%)、NDF (57.0%) 及 WSC (3.3%) 含量。不同成熟期之間以糊熟期的乾物率較高 (38.4%)，但 CP、ADF、NDF 及 WSC 含量均以乳熟期較高，分別為 8.5、41.2、61.7 及 3.7%。隨著萎凋時間增加，乾物率隨之提升，但 WSC 含量下降，CP、ADF 及 NDF 含量在不同萎凋時間均無顯著差異。

II. 不同調製處理之燕麥青貯發酵產物含量與品質

除了發酵後之丙酸含量不受到品系主效應影響外，燕麥青貯之 pH、揮發性脂肪酸含量及品質評分均顯著受到品系、成熟期、菌劑接種及萎凋時間之交感效應、各別主效應影響 (表 4)。品系 26 與 43 之糊熟期燕麥經 24 小時萎凋後之青貯具有最高品質評分，分別為 55.5 與 68.3，其青貯發酵後均具有較高之乳酸含量，且乙酸、丙酸及丁酸含量均較低 (表 5)。然而，兩品系之乳熟期燕麥經 12 小時以內之萎凋，燕麥青貯評分均低於 20，其發酵後之乳酸含量均顯著偏低 (< 0.07%)，乙酸、丙酸及丁酸含量均顯著較高。在相同成熟期下，隨著萎凋時間增加，兩品系燕麥之青貯品質與發酵後之乳酸含量均提升，除品系 43 乳熟期萎凋之丙酸顯著增加外，其餘之乙酸、丙酸及丁酸含量均降低。在相同萎凋時間下，糊熟期之兩品系燕麥青貯的乙酸、丙酸及丁酸含量均低於乳熟期，但其乳酸含量均高於乳熟期，因而具有較高之青貯品質評分 (表 5)。

比較品系、成熟期、菌劑接種及萎凋時間之各別主效應對燕麥青貯發酵產物含量及品質之影響 (表 6)，雖然品系 43 具有較高之乙酸 (1.25%) 與丁酸 (2.63%) 含量，但其乳酸含量 (0.96%) 亦較高，因而具有較高之青貯品質評分 (34.0)。不同成熟期之間以糊熟期具有較高之乳酸含量 (1.48%)、較低之乙酸 (0.58%)、丙酸 (0.35%) 及丁酸 (1.75%) 含量，其青貯品質評分較高 (44.3)。當燕麥經乳酸菌劑接種後青貯，具有較高之乳酸含量 (1.28%)、較低之乙酸 (0.96%)、丙酸 (0.41%) 及丁酸 (2.26%) 含量，其青貯品質評分 (39.0) 顯著高於未接種之燕麥青貯 (27.3)。隨著萎凋時間增加，燕麥青貯發酵生成之乙酸、丙酸及丁酸含量下降，乳酸含量增加，青貯品質評分亦隨之顯著提高。

表 2. 燕麥在不同品系、萎凋時間及成熟度之青貯前乾物率與芻料化學成分

Table 2. Dry matter content and forage chemical composition of forage oat under different cultivars, wilting times and maturity stages before ensiling

Cultivar	Wilted time	DM [†]			CP			ADF			NDF			WSC	
		Milk	Dough	%	Milk	Dough	%	Milk	Dough	%	Milk	Dough	%	Milk	Dough
26	0	24.5 ^{cb}	29.4 ^{ca}	7.4 ^{aa}	7.4 ^{ba}	41.6 ^{aa}	40.6 ^{aa}	62.0 ^{aa}	62.2 ^{ba}	4.8 ^{aa}	4.2 ^{aa}				
	12	37.8 ^{bb}	41.6 ^{ba}	7.2 ^{ab}	8.0 ^{aa}	44.9 ^{aa}	41.1 ^{aa}	64.9 ^{aa}	61.4 ^{aa}	2.1 ^{cb}	3.6 ^{ba}				
	24	39.8 ^{ab}	50.0 ^{aa}	7.6 ^{aa}	6.8 ^{cb}	42.5 ^{aa}	42.4 ^{aa}	64.5 ^{aa}	63.6 ^{aa}	3.3 ^{ba}	3.3 ^{ca}				
43	0	17.8 ^{cb}	27.0 ^{ca}	9.4 ^{aa}	7.7 ^{cb}	39.8 ^{aa}	36.1 ^{ab}	60.4 ^{aa}	54.7 ^{ab}	5.2 ^{aa}	2.8 ^{ab}				
	12	24.7 ^{bb}	38.4 ^{ba}	9.5 ^{aa}	9.1 ^{ba}	39.2 ^{aa}	37.1 ^{ab}	59.3 ^{aa}	53.9 ^{ab}	3.5 ^{ba}	2.7 ^{ab}				
	24	28.4 ^{ab}	44.2 ^{aa}	9.6 ^{aa}	9.8 ^{aa}	39.2 ^{aa}	36.7 ^{ab}	59.3 ^{aa}	54.2 ^{ab}	3.4 ^{ba}	2.1 ^{bb}				

[†] DM, dry matter; CP, crude protein; ADF, acid detergent fiber; NDF, neutral detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrates.

[‡] Means within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 3. 品系、成熟期及萎凋時間對燕麥青貯前乾物率與芻料化學成分之影響

Table 3. Effect of cultivar, maturity stage and wilting time on the dry matter content and forage chemical composition of oats before ensiling

		DM [†]	CP	ADF	NDF	WSC
		%	% of DM			
Cultivar	26	37.2 ^{ac}	7.4 ^b	42.2 ^a	63.1 ^a	3.6 ^a
	43	30.1 ^b	9.2 ^a	38.0 ^b	57.0 ^b	3.3 ^b
Maturity stage	Milk	28.8 ^b	8.5 ^a	41.2 ^a	61.7 ^a	3.7 ^a
	Dough	38.4 ^a	8.1 ^b	39.0 ^b	58.3 ^b	3.1 ^b
Wilted time	0 hr	24.7 ^c	8.0 ^a	39.5 ^a	59.8 ^a	4.3 ^a
	12 hr	35.6 ^b	8.5 ^a	40.6 ^a	59.9 ^a	3.0 ^b
	24 hr	40.6 ^a	8.4 ^a	40.2 ^a	60.4 ^a	3.0 ^b

[†] DM, dry matter; CP, crude protein; ADF, acid detergent fiber; NDF, neutral detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrates.

[‡] Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

表 4. 品系、成熟期、菌劑接種及萎凋時間對燕麥青貯之 pH、揮發性脂肪酸含量及青貯評分之統計差異顯著性

Table 4. Statistical significances of cultivar, maturity stage, inoculation and wilting time on pH, volatile fatty acids content and Flieg's score of oat silage

Source of variation	pH	A [†]	P	B	L	Score
----- P > F -----						
Cultivar (C)	< 0.001	< 0.001	0.152	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Maturity stage (M)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Inoculation (I)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Wilted time (W)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × M	0.016	< 0.001	0.049	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × I	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × W	0.010	< 0.001	< 0.001	0.726	< 0.001	< 0.001
M × I	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.003	< 0.001	< 0.001
M × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
I × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × M × I	< 0.001	< 0.001	0.028	0.471	< 0.001	< 0.001
C × M × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × I × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
M × I × W	< 0.001	0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
C × M × I × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score.

由表 6 顯示，參試燕麥在糊熟期之青貯品質顯著優於乳熟期。在品系 26 方面，糊熟期青貯除了丙酸含量，其 pH、揮發性脂肪酸含量及品質評分均顯著受到菌劑接種與萎凋時間之交感效應、各別主效應影響（表 7）。燕麥未經萎凋且無乳酸菌接種下，品系 26 青貯之乙酸 (0.87%)、丙酸 (0.80%) 及丁酸 (3.08%) 含量最高、乳酸含量 (0.05%) 最低，品質評分最低 (19.5)。經萎凋 24 小時且接種乳酸菌，具有最高之乳酸含量 (2.06%) 與最低之丙酸 (0.17%)，其品質評分 (56.5) 最高。品系 43 在糊熟期青貯之 pH、揮發性脂肪酸含量及品質評分亦均顯著受到菌劑接種與萎凋時間之交感效應、各別主效應影響（表 8），未經萎凋且無乳酸菌接種下，品系 43 青貯之乙酸 (1.05%) 與丙酸 (0.86%) 含量最高、乳酸含量 (0.06%) 最低，品質評分最低 (18.5)。經萎凋 24 小時且接種乳酸菌下，具有較高之乳酸含量 (3.07%)、最低之丙酸 (0.04%) 與丁酸 (0.16%) 含量，其品質評分 (83.5) 最高。

表 5. 燕麥在不同品系、萎凋時間及成熟期之青貯 pH、揮發性脂肪酸含量及 Flieg 評分
 Table 5. pH, volatile fatty acids content and Flieg's score of oat silage with different cultivars, maturity stages, and wilting times

Cultivar	Wilted time	pH			A [†]			P			B			L			Score	
		Milk	Dough	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough	Milk	Dough
----- % of DM -----																		
26	0	5.3 ^{BB‡}	5.4 ^{AA}	0.73 ^{AB}	1.07 ^{AA}	0.59 ^{AB}	4.02 ^{AA}	3.02 ^{AB}	0.02 ^{BB}	0.17 ^{BA}	16.0 ^{BB}	20.5 ^{CA}	26	5.3 ^{BA}	45.3 ^{BA}	55.5 ^{AA}	33.3 ^{AB}	1.67 ^{AA}
	12	5.7 ^{BA}	5.1 ^{BB}	0.41 ^{BB}	0.87 ^{AA}	0.25 ^{BB}	2.54 ^{BA}	1.29 ^{BB}	0.07 ^{BB}	1.81 ^{AA}	19.0 ^{BB}	45.3 ^{BA}						
	24	5.6 ^{AA}	5.2 ^{BB}	0.20 ^{BB}	0.57 ^{BA}	0.19 ^{BB}	1.49 ^{AA}	0.77 ^{CB}	1.03 ^{AB}	1.67 ^{AA}	33.3 ^{AB}	55.5 ^{AA}						
43	0	5.0 ^{BB}	5.2 ^{AA}	0.84 ^{AB}	0.60 ^{BA}	0.66 ^{AA}	4.23 ^{AA}	3.67 ^{AB}	0.02 ^{BB}	0.06 ^{BA}	13.0 ^{BB}	20.3 ^{CA}	43	51.8 ^{BA}	68.3 ^{AA}	31.0 ^{AB}	2.35 ^{AA}	
	12	5.4 ^{AA}	4.8 ^{BB}	0.62 ^{ABB}	0.91 ^{AA}	0.24 ^{BB}	3.44 ^{ABAA}	1.29 ^{BB}	0.01 ^{BB}	2.50 ^{BA}	20.0 ^{BB}	51.8 ^{BA}						
	24	5.6 ^{AA}	4.8 ^{BB}	0.49 ^{BB}	0.87 ^{AA}	0.17 ^{BB}	2.66 ^{BA}	0.51 ^{CB}	0.83 ^{AB}	2.35 ^{AA}	31.0 ^{AB}	68.3 ^{AA}						

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score.

[‡] Means within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 6. 品系、成熟期、菌劑接種及萎凋時間對燕麥青貯 pH、揮發性脂肪酸含量及 Flieg 評分之影響

Table 6. Effect of cultivar, maturity stage, inoculation and wilting time on pH, volatile fatty acids content and Flieg's score of oat silage

		pH	A [†]	P	B	L	Score
Cultivar	26	5.4 ^{ab}	0.93 ^b	0.59 ^a	2.18 ^b	0.84 ^b	32.3 ^b
	43	5.1 ^b	1.25 ^a	0.57 ^a	2.63 ^a	0.96 ^a	34.0 ^a
Maturity stage	Milk	5.4 ^a	1.60 ^a	0.81 ^a	3.06 ^a	0.33 ^b	22.0 ^b
	Dough	5.1 ^b	0.58 ^b	0.35 ^b	1.75 ^b	1.48 ^a	44.3 ^a
Inoculation	CK	5.4 ^a	1.22 ^a	0.75 ^a	2.55 ^a	0.52 ^b	27.3 ^b
	LAB	5.1 ^b	0.96 ^b	0.41 ^b	2.26 ^b	1.28 ^a	39.0 ^a
Wilted time	0 hr	5.2 ^b	1.74 ^a	0.73 ^a	3.73 ^a	0.07 ^b	17.4 ^c
	12 hr	5.3 ^a	0.88 ^b	0.57 ^{ab}	2.14 ^b	1.10 ^a	34.0 ^b
	24 hr	5.3 ^a	0.65 ^b	0.45 ^b	1.34 ^c	1.55 ^a	48.1 ^a

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score; CK, blank control; LAB, inoculation of lactic acid bacteria.

[‡] Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

討 論

燕麥之芻料品質會受到品種、播種期、栽培地點及收穫時的植株成熟期等因素影響 (Kim *et al.*, 2006; Coblenz *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2023)。Hameed *et al.* (2014) 研究顯示，燕麥在相同之成熟期收穫，品種特性差異會造成芻料品質的不同，其差異來自於芻料用燕麥為叢生多分蘗型，單株分蘗數、每分蘗之葉片數及每分蘗葉面積大小在品種間差異大；單株分蘗數、每分蘗之葉片數及每分蘗葉面積較高之燕麥具有較高之 CP 含量與較低之粗纖維含量，芻料品質較佳。此外，當燕麥在抽穗後收穫，不同品種間的穗占全株比重差異大且穀粒充實時間不一，又品種間的主分蘗與次分蘗生長時序不同，造成營養生長與生殖生長交雜而影響芻料品質 (Chapko *et al.*, 1991; David *et al.*, 2010)。本研究參試之 26 與 43 燕麥品系分屬晚熟與中熟之不同成熟群 (maturity group)，但因品系 43 之葉片數與穀粒較多 (資料尚未發表)，在相同成熟期下以品系 43 之芻料品質較佳 (表 2 及表 3)。

隨著植株成熟度增加，燕麥之 CP 含量隨之顯著降低 (陳及范, 2024; Ma *et al.*, 2023)。在穀粒灌漿期 (grouting stage) 前，燕麥之 ADF 與 NDF 含量隨之提高，當穀粒開始灌漿充實後，ADF 與 NDF 含量會因穀粒中澱粉及碳水化合物累積而漸趨下降 (陳及范, 2024; Stirling *et al.*, 2022; Kiliçalp and Türk, 2023)。Swan 與 Saia 燕麥之 WSC 含量在孕穗期 (boot stage) 前變化均不顯著，在孕穗期後則隨著穀粒充實而逐漸增加 (陳等, 2021; 陳及范, 2024)，但 Stirling *et al.* (2022) 以 Cantara 燕麥進行試驗，其 WSC 含量自孕穗期後顯著下降，在乳熟期雖有提升，但後續隨著植株成熟度增加而降低，顯示品種差異會造成芻料品質之不同。本研究參試燕麥之 CP、ADF、NDF 及 WSC 含量均以乳熟期高於糊熟期 (表 3)，此結果與前人研究相符。然而，Coblenz *et al.* (2012) 以不同春播型燕麥 (spring oat) 進行試驗，燕麥植株成熟度愈高會造成 ADF、NDF 及木質素含量愈高，其 CP 含量、NDF 消化率及總可消化養分愈低，由前人與本研究結果顯示，品種特性與植株成熟期之交感效應會造成各芻料化學成分之變動趨勢不盡相同。此外，在相同成熟期下，本研究參試燕麥之 ADF 與 NDF 含量均略高於前人研究，CP 與 WSC 含量均較低 (陳及范, 2024; Stirling *et al.*, 2022)，推測除品種效應之外，播種期、栽培地點之氣候、收穫時之成熟期及各因子彼此間之交感效應 (Kim *et al.*, 2006; Kiliçalp and Türk, 2023) 均是造成芻料化學成分差異之因素。

萎凋有助於降低燕麥含水量，顯著提升乾物率使其能製成良好青貯，但亦會造成芻料化學成分變動。Gomes *et al.* (2019) 與 Liu *et al.* (2020) 研究均顯示，萎凋時間延長會使燕麥 ADF 與 NDF 含量增加，但 CP 與 WSC 含量下降。隨著萎凋時間增加，本研究參試燕麥之 WSC 含量下降，與前者研究相符，但 CP、ADF 及 NDF 含量在不同萎凋時間下均無顯著差異 (表 2 及表 3)，此結果雖與前者研究不同，卻與 Saia 燕麥之萎凋試驗結果相似 (朱等，

2018)。Rotz and Muck (1994) 指出，萎凋過程中芻料化學成分會受到植體與微生物之呼吸作用影響，主要是 WSC 降解，但澱粉亦會水解生成 WSC，受到呼吸作用與澱粉水解的綜合效應，短暫萎凋時間下的 WSC 含量可能變化不大甚至增加；CP、ADF、NDF 及木質素等在微生物呼吸降解與植體含水率降低導致濃度增加之兩者消長下亦可能出現含量差異不大。然而，當萎凋時間愈長，易消化養分之含量下降愈顯著，不易消化之纖維含量將顯著增加(Kuter *et al.*, 2023)。

燕麥由於品種特性與收穫成熟期之差異，營養成分會有所不同而造成青貯發酵產物與品質之差異，其中乾物率、WSC 含量及植體 pH 緩衝能力之間的相互作用是決定青貯發酵品質的重要因素(Zhao *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2022; Stirling *et al.*, 2022)。為了製成發酵品質良好之青貯，禾本科植物之乾物率適合範圍為 25% – 35%，乾物率過低 (< 25%) 易產生滲出液且增加梭菌 (*Clostridia*) 代謝乳酸發酵生成丁酸的機率，進而造成乾物質損失；乾物率過高 (> 50%) 則會限制發酵，導致總產酸量低而使青貯 pH 不易下降(Kung *et al.*, 2018)。WSC 含量應高於 5%，促使乳酸菌發酵生成乳酸而快速降低青貯 pH (McDonald *et al.*, 1991)，pH 緩衝能力則應低於 250 mEq kg⁻¹ DM，利於微生物發酵產酸後青貯 pH 可快速下降(Kung *et al.*, 2018)。本研究參試燕麥在乳熟期之青貯評分均顯著低於 40 分(表 5)，青貯 pH 均高於 5.0，丙酸與丁酸含量偏高，尤其未經萎凋處理之丁酸含量均達 4.0% 以上且乳酸含量顯著偏低 (< 0.1%)，顯示不佳的青貯品質高機率來自於梭菌發酵，此與 Xu *et al.* (2022) 以高含水率燕麥進行青貯之結果相似。此外，乳熟期燕麥經萎凋 12 與 24 小時雖可達到良好青貯之乾物率範圍(表 2)，但 WSC 含量略低 (< 4%)，又相較於其他成熟期，乳熟期燕麥之 pH 緩衝能力較高(Stirling *et al.*, 2022)，推測在受到 pH 緩衝能力與 WSC 含量之影響下，造成參試燕麥經凋後的青貯品質仍不佳(表 5)。

燕麥青貯品質除了受到乾物率、WSC 含量及 pH 緩衝能力之影響外，隨著青貯時間延長 (60 – 90 天)，即便達到發酵穩定狀態，在微生物相持續變動之下，青貯之乳酸含量漸趨下降，乙酸、丙酸、丁酸及氨態氮 (NH₃-N) 含量均漸趨上升，造成乾物質損失漸增(Cheng *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2024)。本試驗之青貯時間達 5 個月，青貯之丙酸與丁酸含量(表 5)均顯著高於多數前人研究，除了高機率來自於梭菌發酵作用所造成(Kung *et al.*, 2018)，在 pH 未能降至 4.2 以下(表 6)也難以限制不良微生物，因而長時間青貯下的微生物相變動可能是影響青貯品質之因素，有待探討不同青貯時間對於微生物族群及發酵產物含量之影響。

在糊熟期方面，燕麥品系 26 與 43 在未經萎凋之乾物率分別為 29.4 與 27.0% (表 2)，雖然均達到良好青貯之乾物率範圍，但即使添加乳酸菌，青貯之 pH 仍高於 5.0、丁酸含量達 3.0% 以上且乳酸含量顯著偏低 (< 0.3%)，青貯評分分別為 21.5 與 22.0 (表 7 及表 8)，顯示梭菌的發酵作用應是造成青貯品質不良之原因。隨著萎凋時間增加，燕麥乾物率隨之顯著提升，雖然 WSC 含量漸減(表 2)，但青貯評分仍隨之顯著提升，尤其經萎凋 24 小時，品系 26 與 43 之乾物率分別達 50.0 與 44.2%，青貯評分仍均達 53 分以上(表 7 及表 8)，顯示影響參試燕麥青貯品質的主要因子應為乾物率，糊熟期之青貯品質亦顯示相同趨勢(表 5)，又在乾物率較高之下其青貯品質較理想，此與 Kuter *et al.* (2023) 以萎凋方式調製之燕麥青貯研究相似。此外，在高乾物率下，乳酸菌劑添加可顯著提升青貯之乳酸含量與品質評分，尤其品系 43 經萎凋 12 與 24 小時且接種菌劑之青貯評分分別可達 79.0 與 83.5，又不同品系間的菌劑添加效果差異可能來自於芻料化學成分與初始附著於植體之菌相不同(Zhao *et al.*, 2018; Yin *et al.*, 2022)。

為了推動本土芻料燕麥的生產，近年積極投入栽培、營養組成分析及調製利用研究(朱等, 2018; 陳等 2021; 陳及范, 2024)，但國內迄今僅育成芻料用燕麥臺大選一號，因其早熟特性而產量略顯不足，為滿足農民收益，致使現行生產與相關研究之材料多為國外育成品種。陳及范 (2024) 研究顯示，Swan 與 Mount one 燕麥之青貯品質均以孕穗期 (boot stage) 為最佳，Saia 燕麥則以抽穗期 (heading stage) 之青貯品質最佳，但三種燕麥在孕穗期與抽穗期之乾物產量約僅為乳熟期或糊熟前期之 50%。考量產量收益與青貯品質，以國內育成之芻料用燕麥新品系 26 與 43 為試驗材料，透過萎凋提升至較高之乾物率並添加乳酸菌，可顯著提升燕麥在糊熟期之青貯品質，增加本土芻料燕麥之供應穩定性。

表 7. 燕麥品系 26 在糊熟期於不同萎凋時間及接種處理下之青貯 pH、揮發性脂肪酸含量及 Flieg 評分
 Table 7. pH, volatile fatty acids content and Flieg's score of oat Line 26 silage at the dough stage under different wilting times and inoculations

Wilted time	pH			A [†]			P			B			L			Score		
	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB
0 hr	5.4 ^{aa} ‡	5.5 ^{aA}	5.5 ^{aA}	0.87 ^{aA}	0.60 ^{bB}	0.60 ^{bB}	0.80 ^{aA}	0.38 ^{aB}	0.38 ^{aB}	3.08 ^{aA}	2.96 ^{aA}	2.96 ^{aA}	0.05 ^{cB}	0.29 ^{bA}	0.29 ^{bA}	19.5 ^{cB}	21.5 ^{cA}	21.5 ^{cA}
12 hr	5.1 ^{cA}	5.0 ^{bA}	5.0 ^{bA}	0.38 ^{bA}	0.44 ^{bA}	0.44 ^{bA}	0.31 ^{bA}	0.19 ^{bb}	0.19 ^{bb}	1.23 ^{bA}	1.34 ^{bA}	1.34 ^{bA}	1.63 ^{aA}	1.99 ^{aA}	1.99 ^{aA}	44.0 ^{bA}	46.5 ^{bA}	46.5 ^{bA}
24 hr	5.3 ^{bA}	5.0 ^{bb}	5.0 ^{bb}	0.20 ^{cB}	0.38 ^{aA}	0.38 ^{aA}	0.21 ^{bA}	0.17 ^{bA}	0.17 ^{bA}	0.63 ^{cA}	0.91 ^{cA}	0.91 ^{cA}	1.28 ^{bb}	2.06 ^{cA}	2.06 ^{cA}	54.5 ^{aA}	56.5 ^{aA}	56.5 ^{aA}
SOV	pH			A			P			B			L			Score		
Inoculation (I)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.304	0.304	0.304	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Wilted time (W)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.042	0.042	0.042	0.001	0.001	0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
I × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	0.001	0.001	0.095	0.095	0.095	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	0.001	0.001

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score; CK, blank control; LAB, inoculation of lactic acid bacteria.
[‡] Means within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 8. 燕麥品系 43 在糊熟期於不同萎凋時間及接種處理下之青貯 pH、揮發性脂肪酸含量及 Flieg 評分
 Table 8. pH, volatile fatty acids content and Flieg's score of oat Line 43 silage at the dough stage under different wilting times and inoculations

Wilted time	pH			A [†]			P			B			L			Score		
	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB	CK	LAB	LAB
0 hr	5.1 ^{ba‡}	5.2 ^{ba}	5.2 ^{ba}	1.05 ^{aa}	0.63 ^{bb}	0.46 ^{ab}	0.86 ^{aa}	0.46 ^{ab}	0.46 ^{ab}	3.26 ^{ab}	4.07 ^{aa}	0.06 ^{ca}	0.06 ^{ca}	0.06 ^{ca}	0.06 ^{ca}	18.5 ^{cb}	22.0 ^{ca}	22.0 ^{ca}
12 hr	5.3 ^{aa}	4.4 ^{bb}	4.4 ^{bb}	0.43 ^{bb}	0.81 ^{aa}	0.06 ^{bb}	0.42 ^{ba}	0.06 ^{bb}	0.50 ^{bb}	2.08 ^{ba}	0.50 ^{bb}	0.84 ^{bb}	0.84 ^{bb}	4.17 ^{aa}	4.17 ^{aa}	24.5 ^{bb}	79.0 ^{ba}	79.0 ^{ba}
24 hr	5.1 ^{ba}	4.5 ^{bb}	4.5 ^{bb}	0.31 ^{cb}	0.68 ^{ba}	0.04 ^{bb}	0.30 ^{ca}	0.04 ^{bb}	0.16 ^{cb}	0.85 ^{ca}	0.16 ^{cb}	1.63 ^{ab}	1.63 ^{ab}	3.07 ^{ba}	3.07 ^{ba}	53.0 ^{ab}	83.5 ^{aa}	83.5 ^{aa}
SOV	pH			A			P			B			L			Score		
Inoculation (I)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.002	0.002	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Wilted time (W)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
I × W	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.032	0.032	0.032	0.032	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

[†] A, acetic acid; P, propionic acid; B, butyric acid; L, lactic acid; Score, silage quality of Flieg's score; CK, blank control; LAB, inoculation of lactic acid bacteria.
[‡] Means within each column (in lowercase letter) and within each row (in uppercase letter) with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

結 論

本研究顯示燕麥芻料品質會受到品系與成熟期之影響，在相同成熟期下，不同品系之間以品系 43 之 CP 含量較高，ADF、NDF 及 WSC 含量較低；乳熟期具有較高之 CP 與 WSC 含量，但其 ADF 與 NDF 含量較高。燕麥青貯品質會受到品系、成熟期、萎凋時間及乳酸菌劑添加之影響，參試燕麥之青貯品質均以糊熟期、萎凋至乾物率 40 – 50% 及添加乳酸菌為最佳，又品系 43 優於品系 26，可作為青貯調製之參考。

誌 謝

本研究承蒙國立臺灣大學農藝學系黃永芬副教授及其研究團隊提供燕麥種原並參與新品系燕麥之育成，謹此併致謝忱。

參考文獻

- 朱明宏、王紓愍、游翠凰、陳嘉昇。2018。黑燕麥在不同收穫期之芻料產量、品質及青貯調製研究。畜產研究 51：16-23。
- 陳勃聿、范耕榛。2024。不同收穫期對燕麥青貯之影響。畜產研究 57：212-221。
- 陳嘉昇、黃永芬、游翠凰、王紓愍。2021。芻料燕麥營養成分變動之探討。畜產研究 54：116-125。
- 黃永芬、陳嘉昇。2020。燕麥。新編臺灣雜糧作物(一)：雜糧作物之特性。財團法人豐年社，臺北市，第 106-139 頁。
- A. O. A. C. 2019. Official Methods of Analysis. 21st ed. Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlingmt, VA.
- Borreani, G., E. Tabacco, R. J. Schmidt, B. J. Holmes, and R. E. Muck. 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. J. Dairy Sci. 101: 3952-3979.
- Chapko, L. B., M. A. Brinkman, and K. A. Albrecht. 1991. Genetic variation for forage yield and quality among grain oat genotypes harvested at early heading. Crop Sci. 31: 874-878.
- Cheng, Q., L. Chen, L. Y. Chen, P. Li, and C. Chen. 2022. Effects of LAB inoculants on the fermentation quality, chemical composition, and bacterial community of oat silage on the Qinghai-Tibetan Plateau. Microorganisms 10: 787.
- Coblentz, W. K., M. G. Bertram, N. P. Martin, and P. Berzaghi. 2012. Planting date effects on the nutritive value of fall-grown oat cultivars. Agron. J. 104: 312-323.
- David, D. B., J. L. Nörnberg, E. B. Azevedo, G. Brüning, J. D. Kessler, and F. R. Skonieski. 2010. Nutritional value of black and white oat cultivars ensiled in two phenological stages. Rev. Bras. Zootecn. 39: 1409-1417.
- Gomes, A. L. M., F. A. Jacovaci, D. C. Bolson, L. G. Nussio, C. C. Jobim, and J. L. P. Daniel. 2019. Effects of light wilting and heterolactic inoculant on the formation of volatile organic compounds, fermentative losses and aerobic stability of oat silage. Anim. Feed Sci. Technol. 247: 194-198.
- Hameed, S., M. Ayub, M. Tahir, S. Khan, and M. Bilal. 2014. Forage yield and quality response of oat (*Avena sativa* L.) cultivars to different sowing techniques. Int. J. Mod. Agric. 3: 25-33.
- Jones, D. W. and J. J. Kay. 1976. Determination of volatile fatty acid C1-C6 and lactic acid in silage juice. J. Sci. Food Agric. 27: 1005-1014.
- Kiliçalp, N. and T. Türk. 2023. Cultivar and harvest stage effects on nutritive value of whole crop oat (*Avena sativa* L.) silages. J. Agric. Nat. 26: 437-449.
- Kim, J. D., S. G. Kim, S. J. Abuel, C. H. Kwon, C. N. Shin, K. H. Ko, and B. G. Park, 2006. Effect of location, season and variety on yield and quality of forage oat. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 19: 970-977.
- Kung, L., R. D. Shaver, R. J. Grant, and R. J. Schmidt. 2018. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. J. Dairy Sci. 101: 4020-4033.
- Kuter, E., U. Ahsan, B. Tosun, D. M. Karagöz, H. Gümüş, I. Raza, M. Guvenc, and Ö. Akkaş. 2023. Biomass yield, quality, nutrient composition, and feeding value of oat (*Avena sativa*) silage subjected to different wilting durations and/or inoculant application. Trop. Anim. Health Prod. 55: 299.

- Liu, Q. H., J. X. Wu, Z. H. Dong, S. R. Wang, and T. Shao. 2020. Effects of overnight wilting and additives on the fatty acid profile, α -tocopherol and β -carotene of whole plant oat silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 260: 114370.
- Ma, J., H. Dai, H. Liu, and W. Du. 2022. Effect of cutting stages and additives on the fermentation quality of triticale, rye and oat silage in Qinghai-Tibet plateau. *Agronomy* 12: 3113.
- Ma, J., H. Dai, H. Liu, and W. Du. 2023. Effects of harvest stages and lactic acid bacteria additives on the nutritional quality of silage derived from triticale, rye, and oat on the Qinghai-Tibet Plateau. *Peer J.* 11: e15772.
- McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Chalcombe, Marlow, UK.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- Rotz, C. A. and R. E. Muck. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In: *Forage quality, evaluation, and utilization*, Eds. G. C. Fahey, Jr. *et al.* Am. Soc. Agron., Madison, WI. pp. 828-868.
- Stirling, S., J. E. Diaz, J. L. Repetto, M. Pla, J. M. Arroyo, and C. Cajarville. 2022. Growth stage and ensiling: impact on chemical composition, conservation quality and in situ ruminal degradability of whole-crop oat. *J. Sci. Food Agric.* 102: 2783-2791.
- Sun, L., Y. Xue, Y. Xiao, R. Te, X. Wu, N. Na, N. Wu, M. Qili, Y. Zhao, and Y. Cai. 2023. Community synergy of lactic acid bacteria and cleaner fermentation of oat silage prepared with a multispecies microbial inoculant. *Microbiol. Spectr.* 11: e0070523.
- Suttie, J. M. and S. G. Reynolds. 2004. *Fodder oats: A world overview*. Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.
- Vogel, K. P., J. F. Pedersen, S. D. Masterson, and J. J. Toy. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.* 39: 276-279.
- Wang, S., C. Ding, J. Tian, Y. Cheng, N. Xu, W. Zhang, X. Wang, M. Nazar, and B. Liu. 2024. An evaluation of storage length on ensiling characteristics, bacterial community compositions, co-occurrence networks, and their functional shifts and pathogenic risk in high-moisture oat silage. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 11: 173.
- Woolford, M. K. 1984. Factors affecting silage in and out of the silo. In: M. K. (eds.), *The silage fermentation*. Marcel Dekker, Inc. pp. 133-155. New York, USA.
- Xu, J., K. Zhang, Y. Lin, M. Li, X. Wang, Q. Yu, H. Sun, Q. Cheng, Y. Xie, C. Wang, P. Li, C. Chen, F. Yang, and Y. Zheng. 2022. Effect of cellulase and lactic acid bacteria on the fermentation quality, carbohydrate conversion, and microbial community of ensiling oat with different moisture contents. *Front. Microbiol.* 13: 1013258.
- Yin, X., J. Zhao., S. Wang, Z. Dong, J. Li, and T. Shao. 2022. Separating the chemical and microbial factors of oat harvested at two growth stages to determine the main factor on silage fermentation. *J. Appl. Microbiol.* 132: 4266-4276.
- Yitbarek, M. B. and B. Tamir. 2014. Silage additives: review. *Open J. Appl. Sci.* 4: 258-274.
- Zhao, G. Q., Z. L. Ju, J. K. Chai, T. Jiao, Z. F. Jia, D. P. Casper, L. Zeng, and J. P. Wu. 2018. Effects of silage additives and varieties on fermentation quality, aerobic stability and nutritive value of oat silage. *J. Anim. Sci.* 96: 3151-3160.

Study on forage quality and ensiling treatments of oat at different maturity stages ⁽¹⁾

Chien-Fu Liu ⁽²⁾ Shu-Min Wang ⁽³⁾ and Ming-Hung Chu ⁽³⁾⁽⁴⁾

Received: Jun. 4, 2025; Accepted: Jul. 21, 2025

Abstract

Oat (*Avena sativa*) is a nutritious forage that can be locally cultivated, and is well accepted by ruminants. In this study, two newly developed forage oat lines, designed as Line 26 and Line 43, were used as experimental materials. Both lines were harvested at the milk and dough stages, and subjected to different wilting durations (0, 12, and 24 hours) with or without lactic acid bacteria inoculation to investigate the effects of harvest maturity stages and ensiling treatments on the chemical composition and silage quality of oat. The results showed that, in terms of forage quality, line 43 had a higher crude protein (CP) content (9.2%) and lower levels of acid detergent fiber (ADF, 38.0%), neutral detergent fiber (NDF, 57.0%), and water soluble carbohydrates (WSC, 3.3%) as compared to line 26. Between the two maturity stages, the milk stage exhibited higher contents of CP (8.5%), ADF (41.2%), NDF (61.7%), and WSC (3.7%), compared to other maturity stages. As wilting duration increased, dry matter content increased accordingly, while WSC content decreased. However, CP, ADF, and NDF did not differ significantly among various wilting durations. Regarding silage quality, Line 26 oats harvested at the dough stage, wilted for 24 hours and inoculated with lactic acid bacteria had the highest lactic acid content (2.06%) and the lowest propionic acid content (0.17%), resulting in the highest Flieg's score (56.5). Similarly, Line 43 oats under the same treatment conditions exhibited higher lactic acid content (3.07%), and the lowest levels of propionic acid (0.04%) and butyric acid (0.16%), achieving the highest Flieg's score (83.5). Based on the results, Line 43 demonstrated superior forage quality compared to Line 26 at the same maturity stage. For both oat lines tested, the best silage quality of Line 43 was achieved when harvested at the dough stage, wilted to a higher dry matter content, and inoculated with lactic acid bacteria, with Line 43 consistently outperforming Line 26. These results may serve as a useful reference for optimizing oat ensiling practices.

Key words: Forage quality, Lactic acid bacteria, Maturity stage, Oat silage, Wilt.

(1) Contribution No. 2833 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Experimental Farm, College of Bioresources and Agriculture, National Taiwan University, Taipei 106032, Taiwan, R. O. C.

(3) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 946004, Taiwan, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: mmchu@mail.tlri.gov.tw.

紅羽土雞種蛋孵化率關聯基因型分析研究⁽¹⁾

朱家德⁽²⁾ 賴永裕⁽²⁾ 鄧學極⁽³⁾ 劉宗霖⁽⁴⁾ 吳明哲⁽²⁾ 張秀鑾⁽⁵⁾ 楊鎮榮⁽²⁾ 林德育⁽²⁾⁽⁶⁾

收件日期：113 年 10 月 8 日；接受日期：114 年 8 月 1 日

摘 要

種蛋孵化率是影響紅羽土雞供給量與經濟效益的關鍵因素之一。本研究以 100 隻紅羽土雞種母雞作為試驗動物，收集第 30、35、40、45、50、55 及 60 週齡共計 2,243 顆種蛋作為種蛋孵化率檢測使用。運用競爭性交替基因特異性聚合酶鏈鎖反應 (Kompetitive Allele-Specific PCR, KASP™) 技術，來檢測種母雞之 *OCX-32*、*OC-116*、*OCX-36*、*PLCZ1*、*IIPR2*、*IAPP*、*ABCC9*、*KCNJ8* 和 *CACNA1C* 等 9 個可能與蛋殼厚度具相關的基因之 SNP 點。應用 SAS 統計分析軟體進行基因型與性能資料的關聯性分析，並以 Bonferroni 檢定來進行多重均值校正。試驗結果顯示紅羽土雞種母雞於第 30、35、40、45、50、55 及 60 週齡受精種蛋孵化率依序為 88.1、90.2、85.4、85.5、80.7、72.9 及 68.3%，且第 55 與 60 週齡種蛋孵化率較第 50 週齡顯著下降 7.8 與 12.4% ($P < 0.05$)。候選基因 SNP 點位與性狀表現的關聯性分析部分，發現 *OCX-32* 基因 A type 可顯著提升 5.3% 全期檢測週齡受精種蛋孵化率 ($P < 0.05$)，並增加 22.3% 檢測週齡總產蛋數 ($P < 0.05$)。然而，其餘 8 個候選基因對受精種蛋孵化率之影響，皆未達統計顯著水準。未來，會持續擴大選育族群的性狀資料收集與候選基因 SNP 點位的關聯性分析，驗證 *OCX-32* 基因對受精種蛋孵化率及繁殖性狀之影響程度，提升遺傳標識分析準確度。

關鍵詞：紅羽土雞、孵化率、候選基因、單核苷酸鹼基多態性、競爭性交替基因特異性聚合酶鏈鎖反應。

緒 言

種蛋孵化率是影響紅羽土雞供給量與經濟效益的關鍵因素之一，如能提升 0.1% 種蛋孵化率，仍可讓種雞生產者從中獲得更多的利潤，並有效降低孵化場生產雛雞的經濟成本 (Nowaczewski *et al.*, 2022)。Bennett (1992) 研究蛋殼厚度對商用白肉雞種蛋孵化率的影響，結果發現 Arbor Acre 及 Hubbard 商用肉種雞厚蛋殼組於不同產蛋週齡的種蛋孵化率分別為 84% (30 – 35 週齡)、85.8% (40 – 45 週齡)、84.1% (45 – 50 週齡) 及 75.3% (55 – 56 週齡)，皆顯著優於蛋殼較薄之肉種雞種蛋孵化率 (78.4、82.6、77.2 及 65.8%， $P < 0.05$)。Liao *et al.* (2013) 研究純種洛島白蛋雞品系 (pureline Rhode Island White layer) 蛋殼厚度對種蛋孵化率的影響，發現種蛋孵化率與蛋殼厚薄程度存在顯著正相關 ($r = 0.3$, $P < 0.05$)，並且高孵化率 (高於 90%) 較低孵化率 (低於 75%) 種蛋蛋殼厚度厚 6.2% (316.60 ± 4.42 vs. $298.23 \pm 10.79 \mu\text{m}$, $P < 0.05$)。近年，商用白肉雞 (Ross 308 broiler, Aviagen, USA) 自第 25 – 54 週齡的受精種蛋孵化率已達 90.4 – 94.2% (Damaziak *et al.*, 2021)。

行政院農業委員會 (農業部前身) 於 2001 年委託畜產試驗所、國立中興大學、國立嘉義大學及國立屏東科技大學執行臺灣商用土雞性能檢測試驗，分析結果顯示紅羽土雞與黑羽土雞的受精種蛋孵化率分別為 84.5 及 86.1% (李等, 2001)。林等 (2008) 於臺灣土雞不同雜交組合之種蛋受精率、孵化率及胚胎死亡率之比較研究，發現紅羽土雞、黑羽土雞、中興大學土雞品系 (NCHU-DL2) 及畜試土雞 (TLRI-B) 之受精種蛋孵化率分別為 62.0、57.2、75.7 及 68.7%。杜 (2013) 於臺灣土雞種蛋品質與孵化參數分析研究，結果顯示花東雞 (Hua-Tung chicken)、信義雞 (Hsin-Yi chicken)、竹崎雞 (Ju-Chi chicken)、金門雞 (Quemoy chicken)、名古屋雞 (Nagoya chicken) 及石岐雞 (Shek-Ki chicken) 的種蛋孵化率分別為 88.8、87.6、88.5、83.6、87.4 及 83.1%。綜合上述研究報告顯示，臺灣土雞

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2834 號。
(2) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(3) 坤諦生技股份有限公司。
(4) 國立成功大學生物科技與產業科學系。
(5) 國立屏東科技大學動物科學與畜產系。
(6) 通訊作者，E-mail: lin0429@mail.tlri.gov.tw。

62.0 – 88.8% 種蛋孵化率相較商用白肉雞 90.4 – 94.2% 種蛋孵化率為低，顯示臺灣土雞種蛋孵化率性能表現仍有改進的空間。

基因選種是加速物種性能改進的重要工具之一。Chakraborty *et al.* (2022) 指出基因選種能增加肉牛 (熱帶氣候之繁殖性狀)、豬 (飼料效率) 及白肉雞 (體重) 等物種性能表現遺傳改進分別為 15 – 44%、23 – 91% 及 20%。在雞第 9 號染色體的 *OCX-32* 基因被認為是能影響蛋殼強度之數量性狀基因座之一 (Takahashi *et al.*, 2009)。*OCX-32* 基因 exons 1, 2, 4 及 6 區域之單核苷酸鹼基多態性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 有可能是影響蛋殼品質之關鍵，並且可作為商用雞種選拔蛋殼品質性狀之參考依據 (Takahashi *et al.*, 2010)。Mann *et al.* (2002) 指出 *OC-116* 基因可能是影響蛋殼性能的關鍵候選基因之一。Dunn *et al.* (2009) 發現 *OC-116* 基因 exon 4 區域之 SNP 可顯著影響蛋殼厚度、蛋殼彈性係數及蛋型指數等蛋殼品質性能表現 ($P < 0.05$)。Cordeiro *et al.* (2013) 發現 *OCX-36* 基因 cDNA 第 211 位置有一 SNP 造成相對應的氨基酸改變 (proline/serine)，並對雞蛋抵抗金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) 感染的性能表現有顯著差異存在 ($P < 0.05$)。Li *et al.* (2021) 運用全基因組關聯性分析 (genome-wide association study, GWAS) 研究 839 隻白來航 (White Leghorn, WL) 和東鄉雞 (Dongxiang, DX) 雜交 F2 代影響蛋殼碳酸鈣結構的基因，結果發現第 1 號染色體上的 *voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1 C (CACNA1C)*、*islet amyloid polypeptide (IAPP)*、*inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2 (ITPR2)*、*1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase zeta-1 (PLCZ1)*、*ATP-binding cassette sub-family C member 9 (ABCC9)* 和 *ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 8 (KCNJ8)* 等 6 個候選基因連鎖的特定 SNP 點位可顯著影響蛋殼碳酸鈣結構。

競爭性交替基因特异性聚合酶鏈鎖反應 (Kompetitive Allele-Specific PCR, KASP™) 技術是由 LGC 公司 (Laboratory of the Government Chemist, LGC, UK) 開發之新一代 SNP 基因檢測技術，此技術具有高通量、低錯誤率、低成本及基因型檢測效率高等優點，被廣泛應用在雞 (Seo *et al.*, 2016)、荷蘭牛 (Zhang *et al.*, 2020) 及綿羊 (Astuti *et al.*, 2023) 等動物的分子標識輔助選拔研究。KASP™ 基因型檢測技術是藉由兩股 5' 端各自帶有 FAM/HEX-labelled 標記螢光與 3' 端分別能辨識突變點鹼基之引子和一股反向引子所構成之 primer mix，並利用帶有兩種不同螢光訊號的兩條 quancher 抑制螢光探針 master mix，對位點進行 PCR 擴增反應，再利用即時螢光核酸定量分析儀 (StepOnePlus™ Real-time PCR System, Thermo Fisher Scientific, USA) 吸光值測定相對應 PCR 產物擴增螢光強度，以判定基因型 (Semagn *et al.*, 2013)

本研究旨在運用 KASP™ 基因型檢測技術，檢測影響蛋殼品質的 9 個候選基因之 SNP 點位，分析影響紅羽土雞蛋殼厚度候選基因對種蛋孵化率的影響，期作為提升種蛋孵化率基因選種的遺傳標識 (genetic marker)，加速種蛋孵化率遺傳改進效率。

材料與方法

本試驗於農業部畜產試驗所遺傳生理組執行影響種蛋孵化率候選基因之基因型檢測與關聯性分析。試驗動物飼養於南部民間畜牧場，試驗動物之使用、飼養及試驗內容皆依據畜產試驗所實驗動物管理小組審查同意書進行 (IACUC 畜試動字 112-34 號)。

I. 試驗動物與飼料配方

以民間畜牧場自家育成第 15 世代 600 隻紅羽土雞種母雞為試驗族群，逢機選取 100 隻種母雞進行種蛋孵化檢測，且試驗期間從 30 至 60 週皆無種母雞死亡，試驗期間各階段飼糧營養分析值如表 1。

II. 採血及基因體 DNA 萃取及純化

本研究採集試驗雞隻翼下靜脈採集血液約 0.5 – 1.0 mL，置入 K₂EDTA 採血管 (BD Vacutainer® Blood Collection Tube, Becton, Dickinson and Company, USA)，混合後供基因體 DNA (genomic DNA, gDNA) 萃取使用。以 gDNA 快速萃取套組 (EasyPure Genomic DNA mini Kit, TransGen Biotech, China) 萃取試驗雞隻 gDNA 後，經乾燥並加入適量 Tris-EDTA 緩衝液進行隔夜回溶，再利用微量分光光譜儀 (NanoDrop™ 2000c Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, USA) 測定 gDNA 濃度，將符合品質標準 OD 260/280 ratios 為 1.8 – 2.0 的 gDNA，並調整濃度為 100 – 150 ng/μL，供作 PCR 反應之模板。

III. 影響蛋殼厚度候選基因之 KASP™ 基因型檢測方法

研究使用影響蛋殼厚度候選基因之 SNP 遺傳標識資訊，列於表 2 (Dunn *et al.*, 2009; Takahashi *et al.*, 2010; Cordeiro *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021)。KASP™ 測定利用 FAM (– 520 nm) 或 HEX (– 610 nm) 螢光標記引子鑑別

不同基因座 SNP 點位不同類型的核苷酸，純合型分別由 FAM 和 HEX 螢光標示為藍色和紅色，雜合型則呈現 FAM/HEX 螢光標示為綠色。*OCX-32* 與 *PLCZ1* 基因的交替基因鑑定，腺嘌呤 (A) 純合型為藍色，胞嘧啶 (C) 純合型為紅色，AC 雜合型為綠色。*OC-116* 基因的交替基因鑑定，CC 純合型為藍色，鳥糞嘌呤 (G) 純合型為紅色，CG 雜合型為綠色。*OCX-36* 基因的交替基因鑑定，胸腺嘧啶 (T) 純合型為藍色，CC 純合型為紅色，TC 雜合型為綠色。*ITPR2* 基因的交替基因鑑定，CC 純合型為藍色，TT 純合型為紅色，TC 雜合型為綠色。*IAPP* 基因的交替基因鑑定，TT 純合型為藍色，CC 純合型為紅色，CT 雜合型為綠色。*ABCC9* 和 *CACNA1C* 基因的交替基因鑑定，GG 純合型為藍色，AA 純合型為紅色，GA 雜合型為綠色。*KCNJ8* 基因的交替基因鑑定，CC 純合型為藍色，AA 純合型為紅色，AC 雜合型為綠色 (圖 1)。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. The composition of the experimental diets

Ingredient	1 st stage	2 nd stage	3 th stage	4 th stage	5 th stage
	0 – 3 weeks	4 – 6 weeks	7 – 8 weeks	9 – 23 weeks	24 weeks –
ME, kcal/kg	3,127	3,248	3,232	2,823	2,933
Crude protein, %	19.96	18.63	18.22	14.87	17.28
Crude fat, %	7.77	9.31	8.58	3.91	4.90
Crude fiber, %	2.33	2.39	2.40	3.21	2.37
Calcium, %	0.85	0.80	0.72	0.90	2.53
Available phosphorus, %	0.25	0.23	0.23	0.40	0.29
Lysine, %	1.18	1.09	1.02	0.72	1.00
Methionine, %	0.41	0.44	0.44	0.34	0.38

IV. 種蛋孵化出雛資料庫建置

民間牧場使用商用孵化設備 (Super J, Jamesway Incubator Company, Canada) 進行種蛋孵化作業，第 0 – 18 天孵化溫度為 37.7°C 相對濕度 80%，第 19 – 21 天孵化溫度 37.2°C 相對濕度 70%，於第 18 天進行照蛋，收集試驗紅羽土雞種母雞群第 30、35、40、45、50、55 及 60 週齡種蛋孵化過程 21 天紀錄，另收集包括產蛋數、無精蛋、早期發育中止及晚期發育中止等，並於第 21 天記錄雞雛啄殼未出及成功出雛等數據資料。

V. 候選基因 SNP 與種蛋孵化性能資料關聯性分析

為分析 100 隻紅羽土雞種母雞在不同週齡 (30、35、40、45、50、55 及 60 週齡) 間受精種蛋孵化率的差異，本研究採用線性混合模型 (linear mixed model, LMM) 進行統計分析。所有統計分析均使用 SAS 統計分析軟體 (statistics analysis system, SAS 9.4 TS1M6, 2016) 的 PROC MIXED 程序執行。在模型中，週齡被設定為固定效應 (fixed effect)，以評估不同時間點對孵化率的影響；而個別母雞則被設定為隨機效應 (random effect)，以控制個體間的變異。分析結果以最小平方均值 (least squares means, LSMeans) 呈現，並採用 Bonferroni 法進行多重比較校正以控制第一型錯誤率。

候選基因之基因型與種蛋孵化率之關聯性分析，以 SAS 統計分析軟體 PROC GLM 進行一般線性模式 (general liner model, GLM) 分析，若經變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 達顯著差異水準 ($P < 0.05$)，則以最小平方均值比較處理組間差異，並且運用 Bonferroni 檢定來進行多重均值比較分析校正。關聯性分析模式如下

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

Y_{ij} 為性狀測定值；

μ 為群體均值；

G_i 為基因位點效應；

e_{ij} 為殘差效應。

表 2. 利用 KASP™ 檢測方法檢測影響蛋殼厚度 9 個候選基因多態性點位及螢光引子資訊
 Table 2. Detail information of genetic markers from nine candidate genes and FAM/HEX-labelled primers designed for KASP™ arrays

Candidate gene	SNP ID	Chromosome	Allele	FAM -labelled allele-specific primer (5' - 3')	HEX-labelled allele-specific primer (5' - 3')
<i>OCX-32</i> ¹	rs312935827	9	A/C	GAGGTACATGTGACAGACGTTTCAT	AGGTACATGTGACAGACGTTTCAG
<i>OC-116</i> ²	rs16400777	4	C/G	CTCTCCCTTGCCCTGAC	GCTCTCTCCCTTGCCCTGAC
<i>OCX-36</i> ³	rs313649603	20	T/C	TGGCTGGATATGGAGCAGCAGA	TGGCTGGATATGGAGCAGCAGG
<i>PLCZ1</i> ⁴	rs314759160	1	A/C	ATTAAATTACTGTATTATTAAGGCTGATTCTA	ATTAAATTACTGTATTATTAAGGCTGATTCTC
<i>ITPR2</i> ⁴	rs314403945	1	T/C	CTCCCCCTTACCCCATTCCTCTGCC	CTCCCCCTTACCCCATTCCTCTGCT
<i>IAPP</i> ⁴	rs312653027	1	C/T	CTCAGCAAATATTTGGCTTCCCAGAGA	AGCAAATATTTGGCTTCCCAGAGG
<i>ABCC9</i> ⁴	rs314985144	1	G/A	TGCTGTCTCACTTAGATGAAAGTGATC	TTGCTGTCTCACTTAGATGAAAGTGATT
<i>KCNJ8</i> ⁴	rs15301807	1	A/C	CTACAGAAACATTTATCCCTGATATTGC	CCTACAGAAACATTTATCCCTGATATTGA
<i>CACNA1C</i> ⁴	rs315771606	1	G/A	TGAATCCTTACATGAAACCCTAACTAATAAG	CTTGAATCCTTACATGAAACCCTAACTAATAAAA

¹ Takahashi *et al.*, 2010; ² Dunn *et al.*, 2009; ³ Cordeiro *et al.*, 2013; ⁴ Li *et al.*, 2021.

結果與討論

運用 KASP™ 技術建置基因型檢測平臺，可有效降低候選基因之基因型鑑定所需的成本和時間 (Chang *et al.*, 2021)。本研究成功建立 KASP™ 基因型檢測技術鑑定 9 個候選基因的不同基因型 (圖 1)，不同的基因型依據 x 軸與 y 軸的不同螢光及強度可以很明顯地區分。Chang *et al.* (2021) 將 KASP™ 方法與聚合酶連鎖反應-限制酶片段長度多型性 (PCR-RFLP) 做基因型結果驗證試驗，比對結果顯示 2 種方法所鑑定的基因型 100% 相同。因此，KASP™ 方法應可符合我國種畜禽動物發展以 SNP 分子標識輔助選拔之需。

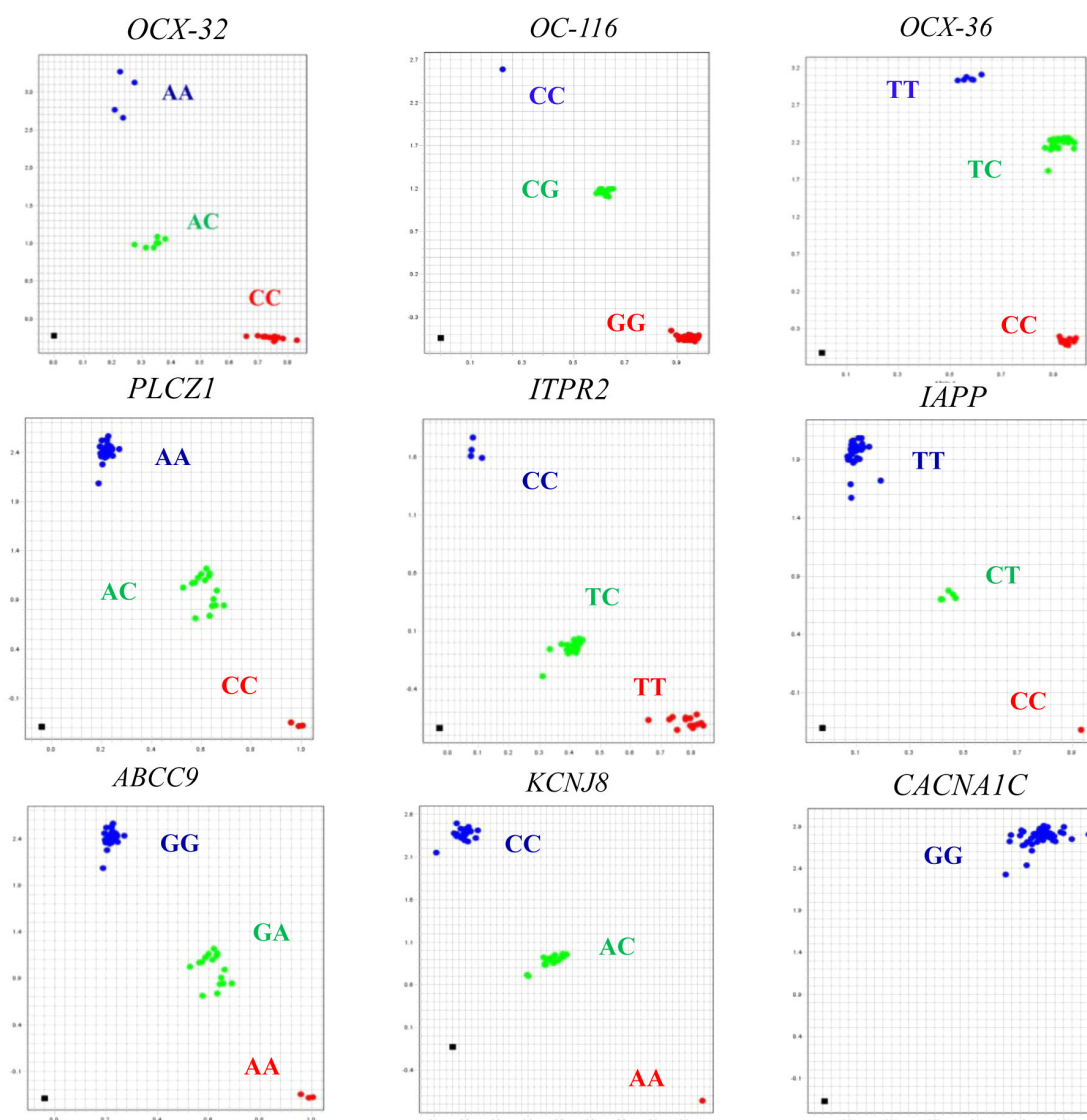


圖 1. KASP™ 基因型檢測技術分析 9 個遺傳標識之基因型分布圖。

OCX-32、*OC-116*、*OCX-36*、*PLCZI*、*ITPR2*、*IAPP*、*ABCC9*、*KCNJ8* 和 *CACNA1C* 基因的基因型結果按順序列出。X 軸顯示了不同水平的 HEX 螢光染料 (紅色)，Y 軸顯示了不同水平的 FAM 螢光染料 (藍色)。標記為藍色和紅色的基因型樣本是不同的純合子；標記為綠色 (FAM/HEX) 的是雜合子。黑色是空白對照樣本。

Fig. 1. The genotyping cluster plots of nine genetic markers by the KASP™ assay.

The genotyping results of *OCX-32*, *OC-116*, *OCX-36*, *PLCZI*, *ITPR2*, *IAPP*, *ABCC9*, *KCNJ8*, and *CACNA1C* genes are listed sequentially. The X-axis illustrated the different levels of fluorophores HEX marked red, and the Y-axis showed the different levels of fluorophores FAM marked blue. The genotyped samples marked blue and red color are different homozygotes; those marked green (FAM/HEX) are heterozygous. Black is the control sample.

本研究收集 100 隻紅羽土雞種母雞於第 30、35、40、45、50、55 及 60 週齡種蛋，共計 2,243 顆。各週齡收集種蛋數、無精蛋、早期發育中止及晚期發育中止、雛雞啄殼未出及成功出雛等數據資料如表 3，試驗期間總計收集 99 顆無精蛋、2,144 顆受精蛋、136 顆早期孵化中止蛋、92 顆晚期孵化中止蛋、11 顆雛雞啄殼未出，以及 1,905 顆

成功出雛等性狀表現紀錄。

不同週齡間受精種蛋孵化率之線性混和模型分析結果顯示(表4)，100隻紅羽土雞種母雞於第30、35、40、45、50、55及60週齡受精種蛋孵化率之線性混和模型數值依序分別為88.1、90.2、85.4、85.5、80.7、72.9及68.3%。第30、35、40、45、50週齡受精種蛋孵化率無顯著水準差異，第55及60週齡受精種蛋線性分析孵化率相較於30-50週齡，受精種蛋孵化率差異達差異顯著水準($P < 0.05$)，並且第55與60週齡受精種蛋線性孵化率較第50週齡顯著下降7.8(80.7 - 72.9%)與12.4%(80.7 - 68.3%)。相較於Hubbard Flex與Ross 308商用肉雞於55-60週齡平均87.4與88.4%受精種蛋孵化率(Damaziak *et al.*, 2021)，臺灣紅羽土雞的受精種蛋孵化率仍有改善的空間。

有關100隻紅羽土雞種母雞共2,144顆受精種蛋孵化率與9個候選基因之一般線性模式分析的結果如表5所示。*OCX-32*基因之AA基因型顯著影響第50週齡受精種蛋孵化率($P < 0.05$)，並較BB基因型提升28.4%(91.6 - 63.2%)種蛋孵化率。若將具有A交替基因的樣本分類為A type(AA與AB基因型)而BB基因型者屬於B type，則*OCX-32*基因A type可顯著提升第30、40及50週齡受精種蛋孵化率達17.0(91.0 - 74.0%)、14.0(87.8 - 73.8%)及21.1%(84.3 - 63.2%)。Damaziak *et al.* (2021)研究分析2個商用肉雞品種(8個Hubbard Flex選育族群；22個Ross 308選育族群)第25-60週齡種蛋孵化紀錄(7,839,250顆Hubbard Flex種蛋；57,167,060顆Ross 308種蛋)，相較於本研究所記錄的1個紅羽土雞選育族群2,243顆種蛋數量，仍需要增加紅羽土雞種雞與種蛋孵化之紀錄數量，才能取得更精準的遺傳標識分析結果。

經美國農業部農業研究署(U.S Department of Agriculture - Agricultural Research Service, USDA-ARS)遺傳育種學家Dr. Hans H. Cheng與美國加州大學戴維斯分校(University of California-Davis, UC Davis)動物科學系Prof. Huaijun Zhou的試驗指導，認為現有收集資料量比較合適的分析應為匯總各檢測週齡後，再進行候選基因與性狀間的關聯性分析。依據分析建議彙整第30、35、40、45、50、55及60週齡檢測種蛋資料後，進一步分析候選基因SNP與全期檢測週齡性能表現的結果顯示，*OCX-32*基因A type可以顯著提升5.3%(88.8 - 83.5%)全期檢測週齡受精種蛋孵化率與增加22.3%全期檢測週齡總產蛋數((21.9 - 17.9) / 17.9 × 100%)。

*OCX-32*蛋白質主要位於蛋殼最外層的角度層(cuticle layer)，基因所產生的蛋白質由輸卵管末端的上皮細胞所分泌，在輸卵管的峽部和子宮區域具高表現量，最終沈積到蛋殼中，其表現量隨蛋殼形成時間延長而遞增，且具有終止蛋殼鈣化的功能(Gautron *et al.*, 2001; Mikšić *et al.*, 2007; Le Roy *et al.*, 2021)。Berrang *et al.* (1999)研究指出蛋殼為禽類產出的獨特礦物質化結構，其功能為防護蛋內容物免除物理性衝擊、細菌入侵及調控雞胚胎發育所需空氣與水分。細菌一旦穿透雞蛋的外部結構蛋殼後，會導致孵化率下降和雛雞受到污染。Xing *et al.* (2007)研究指出，*OCX-32*重組蛋白質可顯著抑制牛羧肽酶(bovine carboxypeptidase)與枯草芽胞桿菌(*Bacillus subtilis*)的生長，並推測*OCX-32*蛋白質為禽類胚胎發育提供保護，增強蛋殼的抗菌特性。綜合上述研究報告，筆者推論*OCX-32*蛋白質的抗菌特性間接解釋本研究發現*OCX-32*基因與受精種蛋孵化率關聯性。

Uemoto *et al.* (2009)研究結果也發現，*OCX-32*基因 exon 2, 3, and 4 區域之SNP可顯著影響169 - 280日齡產蛋比例(egg production ratio)、蛋殼黃色色度b值(yellowness)及蛋中肉斑發生頻率(frequency of meat spots of eggs)。Isfandiari *et al.* (2020)的研究亦印證*OCX-32*基因與產蛋性狀間的關聯性，報告中指出*OCX-32*基因 exon 3 區域之SNP可顯著影響初產日齡($P = 0.02$)。上述前人研究發現*OCX-32*基因SNP與產蛋數量性狀間的關聯性，與本研究分析*OCX-32*基因 exon 6 區域之SNP(rs312935827)對全期檢測週齡總蛋數有顯著影響之關聯結果相似，筆者推論*OCX-32*基因應為產蛋性狀相關的候選基因之一，值得持續進行種雞基因育種研究。

本試驗研究報告中，有關*OC-116*、*OCX-36*、*PLCZ1*、*ITPR2*、*IAPP*、*ABCC9*、*KCNJ8*及*CACNA1C*等8個候選基因與全期檢測週齡種蛋孵化率的關聯性分析，發現SNP皆未有顯著影響關聯性存在，會造成本試驗研究結果與其他學者的試驗結果不盡相同，或許是因本研究所驗證的9個候選基因SNP源自來亨雞(White Leghorn)、洛島紅(Rhode Island Red)、褐色蛋雞品系(ISA brown strain)及東鄉雞(Dongxiang, DX)等4個不同雞種族群，筆者推論可能是因為不同試驗雞種具有不同的品種特異性，導致影響不同雞種性狀性能表現之遺傳標識，無法一體適用於臺灣性有色肉雞-紅羽土雞試驗族群。

結 論

目前分析結果已找到一個影響紅羽土雞受精種蛋孵化率之*OCX-32*候選基因SNP點位。未來仍需要擴大種蛋的收集數量，以利驗證*OCX-32*基因對紅羽土雞受精種蛋孵化率與其他繁殖性狀的影響程度。

表 3. 第 30 至 60 週齡紅羽土雞種蛋收集紀錄

Table 3. The information of collected eggs between 30 to 60 weeks of age from red-feather country chicken

Item	Weeks of age										Overall
	30 th	35 th	40 th	45 th	50 th	55 th	60 th				
Number of collected eggs	299	286	401	375	305	325	252				2,243
Number of non-fertilized eggs	13	8	15	9	17	15	22				99
Number of fertilized eggs	286	278	386	366	288	310	230				2,144
Number of Early dead embryos	13	10	24	24	16	25	24				136
Number of late dead embryos	15	11	14	8	11	12	21				92
Number of hatching failures	0	1	4	5	1	0	0				11
Number of hatched chicks	258	256	344	329	260	273	185				1,905

Sample size = 100.

表 4. 紅羽土雞種母雞 30 - 60 週齡受精種蛋孵化率之線性混合模型分析結果

Table 4. The comparison of fertilized eggs hatchability between 30 - 60 weeks from 100 red-feather country chickens by linear mixed model analysis (LSMeans ± SE)

Hatchability of fertilized eggs, %	Weeks of age									
	30 th	35 th	40 th	45 th	50 th	55 th	60 th			
	88.1 ± 2.5 ^a	90.2 ± 2.0 ^a	85.4 ± 2.3 ^a	85.5 ± 2.6 ^a	80.7 ± 3.3 ^a	72.9 ± 3.7 ^b	68.3 ± 4.0 ^c			

^{a, b, c} LSMMeans within a row lacking a common superscript differ (P < 0.05).

Sample size = 100.

表 5. 紅羽土雞 (N = 100) 受精種蛋孵化率與候選基因型之一般線性模型分析

Table 5. The association analyses between genotypes and hatchability of fertilized eggs from 100 red-feather country chickens by linear model analysis (LSMeans \pm SE)

Candidate genes	Genotype	N	Hatchability of fertilized eggs, %										Overall	Egg number
			30 th week	35 th week	40 th week	45 th week	50 th week	55 th week	60 th week	Overall				
<i>OCX-32</i>	AA	34	86.8 \pm 4.3 ^{ab}	89.7 \pm 3.5	87.5 \pm 4.0	86.2 \pm 4.5	91.6 \pm 5.5 ^a	78.0 \pm 6.5	72.1 \pm 6.9	89.8 \pm 1.6	22.2 \pm 0.8 ^a			
	AB	49	93.9 \pm 3.6 ^a	89.1 \pm 2.9	88.0 \pm 3.3	84.9 \pm 3.8	79.3 \pm 4.6 ^{ab}	71.2 \pm 5.4	67.3 \pm 5.8	88.0 \pm 1.4	21.6 \pm 0.7 ^a			
	BB	17	74.0 \pm 6.0 ^b	94.1 \pm 5.0	73.8 \pm 5.6	85.6 \pm 6.4	63.2 \pm 7.8 ^b	67.4 \pm 9.1	63.2 \pm 9.8	83.5 \pm 2.3	17.9 \pm 1.2 ^b			
A type*	A type*	83	91.0 \pm 2.7 ^a	89.4 \pm 2.3	87.8 \pm 2.5 ^a	85.4 \pm 2.9	84.3 \pm 3.6 ^a	74.0 \pm 4.1	69.3 \pm 4.4	88.8 \pm 1.0 ^a	21.9 \pm 0.5 ^a			
	B type	17	74.0 \pm 6.0 ^b	94.1 \pm 5.0	73.8 \pm 5.6 ^b	85.6 \pm 6.4	63.2 \pm 7.9 ^b	67.4 \pm 9.1	63.7 \pm 9.7	83.5 \pm 2.3 ^b	17.9 \pm 1.2 ^b			
<i>OC-116</i>	AB	35	91.9 \pm 4.3	87.9 \pm 3.5	84.6 \pm 4.0	89.0 \pm 4.4	74.3 \pm 5.6	74.4 \pm 6.3	70.0 \pm 6.8	87.9 \pm 1.6	21.7 \pm 0.8			
	BB	65	86.0 \pm 3.2	91.4 \pm 2.5	85.9 \pm 2.9	83.5 \pm 3.2	84.2 \pm 4.1	72.1 \pm 4.7	67.4 \pm 5.0	87.9 \pm 1.2	20.9 \pm 0.6			
<i>OCX-36</i>	AA	36	90.0 \pm 4.3	87.0 \pm 3.4	87.3 \pm 3.9	89.6 \pm 4.3	86.8 \pm 5.6	77.0 \pm 6.3	65.0 \pm 6.7	89.3 \pm 1.6	21.5 \pm 8.4			
	AB	47	86.5 \pm 3.7	92.6 \pm 3.0	82.3 \pm 3.4	85.3 \pm 3.8	78.1 \pm 4.9	70.8 \pm 5.5	70.9 \pm 5.9	86.7 \pm 1.4	21.4 \pm 7.3			
	BB	17	88.2 \pm 6.3	90.2 \pm 5.0	90.0 \pm 5.7	77.2 \pm 6.3	75.0 \pm 8.1	70.0 \pm 9.1	68.1 \pm 9.8	88.1 \pm 2.3	19.9 \pm 1.2			
<i>PLCZI</i>	AA	13	84.6 \pm 7.2	80.8 \pm 5.6	85.0 \pm 6.6	70.0 \pm 7.1	70.5 \pm 9.3	79.2 \pm 10.5	82.1 \pm 11.1	84.9 \pm 2.7	19.6 \pm 1.4			
	AB	51	90.4 \pm 3.6	92.6 \pm 2.8	84.7 \pm 3.3	88.7 \pm 3.6	82.0 \pm 4.7	71.7 \pm 5.3	68.1 \pm 5.6	88.1 \pm 1.4	21.4 \pm 0.7			
<i>ITPR2</i>	BB	36	86.1 \pm 4.3	90.0 \pm 3.4	86.6 \pm 4.0	86.4 \pm 4.3	82.5 \pm 5.6	72.4 \pm 6.3	63.7 \pm 6.7	88.6 \pm 1.6	21.4 \pm 0.8			
	AA	62	86.7 \pm 3.3	89.2 \pm 2.6	82.1 \pm 3.0	84.9 \pm 3.3	77.2 \pm 4.3	69.9 \pm 4.8	69.8 \pm 5.1	87.2 \pm 1.2	21.3 \pm 0.6			
	AB	32	90.6 \pm 4.6	92.2 \pm 3.7	90.5 \pm 4.1	84.6 \pm 4.6	86.1 \pm 5.9	78.3 \pm 6.7	62.8 \pm 7.1	88.6 \pm 1.7	21.3 \pm 0.9			
<i>IAPP</i>	BB	6	88.9 \pm 10.6	88.9 \pm 8.4	92.5 \pm 9.5	95.8 \pm 10.7	77.8 \pm 13.7	75.0 \pm 15.4	83.3 \pm 16.4	90.9 \pm 4.0	19.8 \pm 2.1			
	AB	1	100.0 \pm 25.8	100.0 \pm 20.6	100.0 \pm 23.6	100.0 \pm 26.2	100.0 \pm 33.5	100.0 \pm 37.5	100.0 \pm 40.1	100.0 \pm 9.6	20.0 \pm 5.0			
	BB	99	88.0 \pm 2.6	90.1 \pm 2.1	85.3 \pm 2.4	85.3 \pm 2.6	80.5 \pm 3.4	72.6 \pm 3.8	68.0 \pm 4.0	87.8 \pm 1.0	21.2 \pm 0.5			
<i>ABCC9</i>	AA	45	91.5 \pm 3.7 ^{ab}	93.1 \pm 3.0	87.5 \pm 3.5	86.9 \pm 3.9	83.1 \pm 5.0	74.5 \pm 5.6	68.9 \pm 6.0	89.0 \pm 1.4	21.8 \pm 0.7			
	AB	34	78.2 \pm 4.3 ^a	90.2 \pm 3.5	79.2 \pm 4.0	80.8 \pm 4.5	75.5 \pm 5.7	73.1 \pm 6.5	71.6 \pm 6.9	86.1 \pm 1.0	19.8 \pm 0.8			
	BB	21	96.8 \pm 5.4 ^b	83.7 \pm 4.4	91.0 \pm 5.1	90.0 \pm 5.7	84.0 \pm 7.3	69.1 \pm 8.2	61.9 \pm 8.8	88.3 \pm 2.1	22.1 \pm 1.1			
<i>KCNJ8</i>	AA	12	83.3 \pm 7.2 ^{ab}	91.7 \pm 6.0	88.3 \pm 6.8	79.2 \pm 7.6	80.6 \pm 9.7	75.4 \pm 10.8	83.3 \pm 11.6	87.4 \pm 2.8	19.3 \pm 1.4			
	AB	40	96.3 \pm 4.0 ^a	89.0 \pm 3.3	89.1 \pm 3.7	85.3 \pm 4.1	81.6 \pm 5.3	77.7 \pm 5.9	68.5 \pm 6.3	88.3 \pm 1.5	22.8 \pm 0.8			
	BB	48	82.5 \pm 3.6 ^b	90.8 \pm 3.0	81.6 \pm 3.4	87.2 \pm 3.8	80.0 \pm 4.9	68.3 \pm 5.4	64.4 \pm 5.8	87.6 \pm 1.4	20.4 \pm 0.7			
<i>CACNA1C</i>	AA	100	88.1 \pm 2.6	90.2 \pm 2.0	85.4 \pm 2.3	85.5 \pm 2.6	80.7 \pm 3.3	72.9 \pm 3.7	68.3 \pm 4.0	87.9 \pm 9.6	21.2 \pm 0.5			

a, b, c LSMMeans within a genetic marker column lacking a common superscript differ (P < 0.05). * A type is the combination between AA and AB genotype.

誌 謝

本研究源自農業部科技計畫(112 農科 -2.5.2- 畜 -L1) 經費支持。計畫執行期間受到美國農業部農業研究署 (U.S Department of Agriculture - Agricultural Research Service, USDA-ARS) 遺傳育種學家 Dr. Hans H. Cheng、美國加州大學戴維斯分校 (University of California-Davis, UC Davis) 動物科學系 Prof. Huaijun Zhou 及台灣區種豬產業協會林慕堯先生提供資料處理與關聯性分析等建議；民間牧場吳瀚場長協助種蛋孵化資料收集與紀錄；本所遺傳生理組陳若菁、孫佳韻、陳美如及王芬敏等同仁協助種母雞生物遺傳資源萃取、基因型檢測技術建置及資料彙整等支援，特此誌謝。

參考文獻

- 李淵百、吳憲郎、林旻蓉、涂海南、張秀鑾、項延塏、趙清賢、賴元亮、蘇夢蘭。2001。臺灣商用土雞性能介紹—生長與屠體性能。行政院農業委員會畜產試驗所專輯第 75 號，臺南市，第 8 頁。
- 林旻蓉、張伸彰、趙清賢、謝豪晃、陳添福、王治華、賈玉祥、鄭裕信、陳志峰、范揚廣、李淵百。2008。臺灣土雞群不同雜交組合之種蛋受精率、孵化率及胚胎死亡率的比較。中畜會誌 37：221-231。
- 杜玉河。2013。地方雞種雞蛋品質與孵化參數之研究。國立中興大學動物科學系，碩士學位論文，臺中市。
- Astuti, P. K., D. Gavojdian, D. E. Ilie, G. Wanjala, I. Monori, Z. Bagi, and S. Kusza. 2023. Genetic polymorphism in European and African sheep breeds reared in Hungary based on 48 SNPs associated with resistance to gastrointestinal parasite infection using KASP-PCR technique. *Trop. Anim. Health Prod.* 55: 197-209.
- Bennett, C. D. 1992. The influence of shell thickness on hatchability in commercial broiler breeder flocks. *J. Appl. Poult. Res.* 1: 61-65.
- Bennett, C. D. 1992. The influence of shell thickness on hatchability in commercial broiler breeder flocks. *J. Appl. Poult. Res.* 1: 61-65.
- Berrang, M. E., N. A. Cox, J. F. Frank, and R. J. Buhr. 1999. Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. *J. Appl. Poultry Res.* 8: 499-504.
- Chakraborty, D., N. Sharma, S. Kour, S. S. Sodhi, M. K. Gupta, S. J. Lee, and Y. O. Son. 2022. Applications of omics technology for livestock selection and improvement. *Front. Genet.* 13: 774113-774129.
- Chang, C. C., B. B. I. Silva, H. Y. Huang, C. Y. Tsai, R. J. D. Flores, L. L. Tayo, Y. C. Tyan, M. A. Tsai, G. E. M. Catulin, K. P. Chuang, and J. L. Yang. 2021. Development and validation of KASP assays for the genotyping of racing performance-associated single nucleotide polymorphisms in pigeons. *Genes.* 12: 1383-1392.
- Cordeiro, C. M. M., H. Esmaili, G. Ansah, and M. T. Hincke. 2013. Ovocalyxin-36 is a pattern recognition protein in chicken eggshell membranes. *PLoS One* 8: e84112.
- Damaziak, K., M. Koznaka-Lipka, D. Gozdowski, A. Gołbiewska, and E. Kdziolek. 2021. Effects of broiler breeder strain, age, and eggs preheating profile in single-stage systems on the hatchability of eggs and quality of chicks. *Animal* 15: 100057-100067.
- Dunn, I. C., N. T. Joseph, M. Bain, A. Edmond, P. W. Wilson, P. Milona, Y. Nys, J. Gautron, M. Schmutz, R. Preisinger, and D. Waddington. 2009. Polymorphisms in eggshell organic matrix genes are associated with eggshell quality measurements in pedigree Rhode Island Red hens. *Anim. Genet.* 40: 110-114.
- Gautron, J., M. T. Hincke, K. Mann, M. Panhéleux, M. Bain, M. D. McKee, S. E. Solomon, and Y. Nys. 2001. Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein. (Isolation, amino acid sequencing, cloning, and immunocytochemical localization). *J. Biol. Chem.* 276: 39243-39252.
- Isfandiari, P., M. Dadpasand, H. Kharrati-Koopae, H. Atashi1, A. Gharghi, and A. Niazi. 2020. Bioinformatics, phylogenetic and variant association analysis of Ovocalyxin-32 gene reveals its contribution to egg production traits in native chickens. *Anim. Gene* 17-18: 200108-200132.
- Le Roy, N., L. Stapane, J. Gautron, and M. T. Hincke. 2021. Evolution of the avian eggshell biomineralization protein toolkit - new insights from multi-omics. *Front. Genet.* 12: 672433- 672454.
- Liao, B., H. G. Qiao, X. Y. Zhao, M. Bao, L. Liu, C. W. Zheng, C. F. Li, and Z. H. Ning. 2013. Influence of eggshell ultrastructural organization on hatchability. *Poultry Sci.* 92: 2236-2239.
- Li, Q., Z. Duan, C. Sun, J. Zheng, G. Xu, and N. Yang. 2021. Genetic variations for the eggshell crystal structure revealed by

- genome-wide association study in chickens. *BMC Genom.* 22: 786-798.
- Mann, K., M. T. Hincke, and Y. Nys. 2002. Isolation of ovocleidin-116 from chicken eggshells, correction of its amino acid sequence and identification of disulfide bonds and glycosylated Asn. *Matrix Biol.* 21: 383-387.
- Mikš'ík, I., A. Eckhardt, P. Sedláková, and K. Mikulíková. 2007. Proteins of insoluble matrix of avian (*Gallus gallus*) eggshell. *Connect. Tissue Res.* 48: 1-8.
- Nowaczewski, S., M. Babuszkiewicz, T. Szablewski, K. Stuper-Szablewska, R. Cegielska-Radziejewska, Ł. Tomczyk, S. Kaczmarek, A. Sechman, M. W. Lis, M. Kwaś'niewska, P. Racewicz, Ł. Jarosz, A. Ciszewski, T. Nowak, and M. Hejdysz. 2022. Effect of weight and storage time of broiler breeders' eggs on morphology and biochemical features of eggs, embryogenesis, hatchability, and chick quality. *Animal* 16: 100564-100573.
- SAS Institute Inc. 2016. SAS 9.4 TS1M6 Language Reference: Concepts(3rd. ed.). SAS Institute Inc., USA.
- Semagn, K., R. Babu, S. Hearne, and M. Olsen. 2013. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breeding* 33: 1-14.
- Seo, D., H. B. Park, N. Choi, S. Jin, K. N. Heo, C. Jo, T. Gotoh, and J. H. Lee. 2016. Association of SNPs in *AMY1A* and *AMY2A* genes with chicken meat quality and clinical-chemical traits in chicken. *J. Fac. Agr. Kyushu. U.* 61: 121-125.
- Takahashi, H., D. Yang, O. Sasaki, T. Furukawa, and K. Nirasawa. 2009. Mapping of quantitative trait loci affecting eggshell quality on chromosome 9 in an F2 intercross between two chicken lines divergently selected for eggshell strength. *Anim. Genet.* 40: 779-782.
- Takahashi, H., O. Sasaki, K. Nirasawa, and T. Furukawa. 2010. Association between ovocalyxin-32 gene haplotypes and eggshell quality traits in an F2 intercross between two chicken lines divergently selected for eggshell strength. *Anim. Genet.* 41: 541-544.
- Uemoto, Y., C. Suzuki, S. Sato, S. Sato, T. Ohtake, O. Sasaki, H. Takahashi, and E. Kobayashi. 2009. Polymorphism of the ovocalyxin-32 gene and its association with egg production traits in the chicken. *Poultry Sci.* 88: 2512-2517.
- Xing, J., O. Wellman-Labadie, J. Gautron, and M. T. Hincke. 2007. Recombinant eggshell ovocalyxin-32: Expression, purification and biological activity of the glutathione S-transferase fusion protein. *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochem. Mol. Biol.* 147: 172-177.
- Zhang, Y., D. Liang, H. Huang, Z. Yang, Y. Wang, Y. Yu, L. Liu, S. Zhang, J. Han, and W. Xiao. 2020. *Technical note*: Development and application of KASP assays for rapid screening of 8 genetic defects in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 103: 619-624.

The association analyses between hatchability of fertilized eggs and candidate genes in red-feather country chicken ⁽¹⁾

Chia-Te Chu ⁽²⁾ Yung-Yu Lai ⁽²⁾ Hsueh-Chi Teng ⁽³⁾ Tsung-Lin Liu ⁽⁴⁾ Ming-Che Wu ⁽²⁾
Hsiu-Luan Chang ⁽⁵⁾ Jenn-Rong Yang ⁽²⁾ and Der-Yuh Lin ⁽²⁾⁽⁶⁾

Received: Oct. 8, 2024; Accepted: Aug. 1, 2025

Abstract

Hatchability of fertilized eggs is one of the key factors affecting the market supply and economic efficiency of red-feather country chicken. This study used 100 red-feather country chicken hens as the experimental animals, recording data from 2,243 hatching eggs at 30, 35, 40, 45, 50, 55, and 60 weeks of age as the source for hatchability of fertilized eggs. Using Kompetitive Allele-Specific PCR (KASP™) technology, genotype databases were established for nine candidate genes affecting eggshell thickness, including *OCX-32*, *OC-116*, *OCX-36*, *PLCZ1*, *ITPR2*, *IAPP*, *ABCC9*, *KCNJ8*, and *CACNA1C* genes. Statistical analysis was used to perform association analyses between genotypes and performance data, and Bonferroni correction was applied for multiple comparisons. The research results showed that the hatchability of fertilized eggs from red-feather country breeding hens at 30, 35, 40, 45, 50, 55, and 60 weeks of age were 88.1, 90.2, 85.4, 85.5, 80.7, 72.9, and 68.3%, respectively. Additionally, the hatchability at 55 and 60 weeks of age significantly decreased by 7.8 and 12.4%, compared to 50 weeks. The association analyses between candidate genes and trait performance showed that the A type of the *OCX-32* gene significantly increased the hatchability counted during the tested weeks by 5.3% and improved the number of eggs laid during the tested weeks by 22.3% ($P < 0.05$). However, the effects of the other eight candidate genes on the hatchability of fertilized eggs did not reach statistical significance ($P > 0.05$). In the future, we will continue to expand the collection of trait data from the breeding population and conduct association analyses with candidate genes to verify the effect of the *OCX-32* gene on the hatchability of fertilized eggs and reproductive traits, thereby improving the accuracy of genetic marker analysis.

Key words: Red-feather County Chicken, Hatchability, Candidate genes, Single nucleotide polymorphism, KASP™.

(1) Contribution No. 2834 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Quantum Life Biotechnology Co., Ltd.

(4) Department of Biotechnology and Bioindustry Sciences, National Cheng Kung University, Tainan 701, Taiwan, R. O. C.

(5) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung 912, Taiwan, R. O. C.

(6) Corresponding author, E-mail: lin0429@mail.tlri.gov.tw.

生乳樣品使用不同抑菌保存劑及保存條件對於自動生菌數分析儀檢驗能力試驗樣品穩定度之影響⁽¹⁾

陳珮彤⁽²⁾ 楊明桂⁽²⁾ 葉亦馨⁽²⁾ 陳怡璇⁽²⁾ 涂柏安⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：114 年 5 月 5 日；接受日期：114 年 8 月 1 日

摘 要

臺灣生乳的等級以體細胞數及總生菌數進行評級。若酪農單月生乳中的總生菌數 > 30 萬 /mL 達 3 次，且全年累計達兩個月時，乳品廠得取消收乳契約。總生菌數的高低會影響乳品廠與酪農的收益，發展可靠的總生菌數檢驗能力比對有助於維持生乳計價公平性及廠農間的互信。因此，本研究評估疊氮化二醇 (Azidiol, AZ) 及溴硝丙二醇 (Bronopol, BR) 於不同保存溫度 (4、25 及 37°C) 及保存天數 (0 – 7 天) 對生乳樣品總生菌數之影響，確保總生菌數分析之穩定度。本研究僅針對分析用樣品之保存進行探討，非食品添加應用。實驗中使用 FOSS BactoScan FC 自動生菌數分析儀 (FC) 收集不同保存時間之個別菌落數對數值 (logarithm of individual bacterial count, $\log_{10}IBC$)。結果顯示，未添加抑菌保存劑組於 4°C 下可穩定 $\log_{10}IBC$ 7 天，其數值與對照組無顯著差異；在 4°C，AZ 與 BR 均可在 7 天內穩定生乳 $\log_{10}IBC$ ，其數值與對照組無顯著差異；在 25°C，AZ 僅可以穩定 $\log_{10}IBC$ 1 天，而 BR 可於 2 日內維持 $\log_{10}IBC$ ；在 37°C，AZ 僅於保存當天有效，而 BR 則可穩定 $\log_{10}IBC$ 2 天，而後隨著保存天數增加，兩者之總生菌數顯著增加。綜上所述，冷藏狀態下，AZ 與 BR 皆為保存生乳樣品之良好選擇；若預期配送過程可能失溫，建議使用 BR 進行樣品保存，且仍建議應於能力試驗辦理單位之指定檢驗日盡速檢測完畢，以維持 $\log_{10}IBC$ 檢測之數據穩定度。

關鍵詞：疊氮化二醇、溴硝丙二醇、自動生菌數分析儀。

緒 言

I. 辦理總生菌數能力試驗比對緣由

自 1999 年 6 月起，我國開始以總生菌數作為生乳品質的評級項目。當總生菌數超過 30 萬 /mL 時，會給予酪農警告或是扣款，促使其盡速改善生乳衛生；而當總生菌數超過 30 萬 /mL 的次數於一個月內達 3 次以上時，乳品廠則可能會與酪農取消收乳契約 (農業部, 1999)。然而，夏季生乳收購價及市場價格皆較冬季高，若生乳總生菌數過高的話不僅會影響乳品廠的利潤，也會直接影響酪農的收益。Verdier-Metz *et al.* (2009) 指出，乳腺健康、擠乳前後處理、擠乳機設備及空氣都有可能影響生乳中的總生菌數含量。此外，因著我國近年來逐漸引進自動化擠乳設備，截至 111 年底止臺灣約有 10 戶牧場使用自動擠乳設備 (葉等, 2024)，在設備引進的初期可能有生乳中的總生菌數上升的現象 (Castro *et al.*, 2017)，造成生乳中的總生菌數再次成為討論議題。因此，為了維護乳品廠與酪農間的信任，應定期舉辦品管實驗室間及第三方公正單位的總生菌數檢驗能力試驗活動，同時評估可以有效維持能力試驗，生乳總生菌數穩定至試驗指定檢測日 (配送日約 2 日) 之抑菌保存劑配方，避免能力試驗樣品於寄送時，因保存條件不佳造成的檢測差異。

II. 總生菌數檢驗介紹

牛乳是一種營養成分相當高的乳製品，正因其富含營養，因此也常作為細菌生長的培養基，如乳球菌 (*Lactococcus*)、乳鏈球菌 (*Streptococcus*)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus*)、大腸桿菌 (*Escherichia*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas*) 及芽孢桿菌 (*Bacillus*) 等，皆為牛乳中常見的菌種 (Wang *et al.*, 2023)。目前常見用於檢驗食品中總

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2835 號。

(2) 農業部畜產試驗所北區分所。

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

生菌數的方法是使用標準菌落計數 (total plate count, TPC)，可知食品樣本中的活菌數目，總生菌數以每毫升菌落形成單位 (colony-forming unit, CFU) 表示。然而，標準菌落計數因培養時間需要至少 2 天，無法快速確認生菌的數量之外，此法亦無法得知菌種的種類，甚至有部分菌種不會在培養基上生長，如厭氧菌等 (Brackett, 1993)。因此，目前乳品加工廠大規模進行生乳總生菌數的每日例行快速檢測主要依賴 FOSS BactoScan FC (Foss Analytical, Hillerød, Denmark) (下稱 FC) 自動化儀器。FC 檢測總生菌數是透過流式細胞分析原理 (flow cytometry)，將生乳樣本以溴化乙錠染色，經雷射光束照射使細菌產生螢光訊號進行定量。染色的細菌會發出紅光，藉此定量並計算個別菌落數 (individual bacterial count, IBC)，其結果以 IBC 表示 (Cassoli *et al.*, 2010a; Loss *et al.*, 2012; FOSS, 2013)。根據 Gunasekera *et al.* (2000) 指出，牛乳中的初始總生菌數的含量、蛋白質球、細菌染劑的選擇都可能影響 FC 檢驗結果。因此，透過細菌的螢光與散射程度，FC 可以量化細菌顆粒大小與特性 (Marutescu *et al.*, 2023)。

III. AZ 與 BR 的介紹

添加抑菌保存劑指可抑制或延緩微生物生長，用於樣本保存期間維持檢體穩定性之化學物質，是現今常用於延長食品保存期限的其中一種方法。市面上可用於實驗室樣品的抑菌保存劑種類繁多，包含無水醋酸鈉、胺基乙酸、乳酸鈉及葡萄糖酸內酯等。然而，過去已有文獻指出使用疊氮化二醇 (Azidiol, AZ) 及溴硝丙二醇 (Bronopol, BR) 可有效進行生乳樣品的保存 (Sierra *et al.*, 2009)。AZ 是疊氮化鈉 (Sodium azide, NaN_3) 與氯黴素 (Chloramphenicol) 的混合物，是一種無色、無味且水溶性的物質，可用於預防細菌的污染 (Chang and Lamm, 2003; Russo *et al.*, 2007)。AZ 成分中的氯黴素會透過與細菌中的核糖體結合，阻斷蛋白質合成，進而抑制細菌，主要是革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌與厭氧菌的生長 (Oong and Tadi, 2023)。而疊氮化鈉則是透過抑制厭氧菌的硝酸還原酶，進而減緩微生物菌群的活性 (Hendrix *et al.*, 2019)。然而，疊氮化鈉具有毒性，可作為診斷醫藥防腐劑之用，依《毒性及關注化學物質管理法》規定不得作為食品添加物使用，僅能於非食用檢體中添加。此外，疊氮化鈉無法在環境中分解，因此有使用上的疑慮 (Vigolo *et al.*, 2022)。而 BR 則是一種相對無腐蝕性的保存劑，特性是無色無味且易溶於水，為廣效性的抑菌保存劑，尤其針對革蘭氏陰性菌與陽性菌，因此常被添加在化妝品或是藥品中 (Bryce *et al.*, 1978; Shepherd *et al.*, 1988)。BR 透過促進氧化微生物細胞膜上硫醇並產生自由基，造成細胞死亡 (Singh and Gandhi, 2015)。

本研究期望於分析總生菌數用之生乳樣品中添加抑菌保存劑，降低牛乳總生菌數檢驗能力試驗時，因比對樣品運送或保存條件不佳，造成可能的檢測誤差，藉由測試不同抑菌保存劑，AZ 與 BR 和不同保存溫度條件 (4、25 及 37°C) 對生乳樣品的總生菌數保存穩定度的影響，確認穩定的保存方法，以便在乳品廠與牛乳檢驗室之間進行 IBC 檢測能力試驗。因此，本研究所採用之抑菌保存劑僅供實驗室分析樣品保存用途，以避免因檢體配送與保存過程之溫度變異導致總生菌數檢測結果失真，並非作為食品添加物使用。透過使用 FC 檢驗生乳 IBC，收集各保存天數的數據，以評估抑菌保存劑在不同保存條件下對生乳的 IBC 檢測穩定性的影響。

材料與方法

I. 樣本採集及藥品配製

AZ 與 BR 之配方及添加量根據 Sierra 等人 (2009)，AZ 的配製以添加疊氮化鈉 1.8 g、氯黴素 0.075 g、乙醇 (ethanol) 1 mL、三水檸檬酸鈉 (sodium citrate tribasic hydrate) 4.5 g 及溴酚藍 (bromophenol blue) 0.035 g 並溶於 100 mL 的滅菌水中，並根據 Sierra 等人 (2009) 於每 20 mL 牛乳添加 66 μL 的 AZ。其中 AZ 中所添加之疊氮化鈉為強效抑菌劑，常用於微生物樣品保存中。根據 Merck 安全資料表 (Cat No. 6B7591) (Merck, 2016) 指出其具急性毒性 (大鼠致死劑量 = 27 mg/kg)，屬於需妥善處理與廢液收集的化學品。本研究中疊氮化鈉濃度經稀釋後為 59.4 ppm，低於多數實驗文獻中用作防腐劑之濃度 ($\leq 0.02\%$)，操作過程依據實驗室化學品處理規範進行。BR 配製則是將 5 g 的 2- 溴 -2- 硝基 -1,3- 丙二醇 (2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol) 加入 100 mL 的滅菌水中，並加入亞甲基 (Methylene) 0.05 g，並且根據 Sierra 等人 (2009) 每 20 mL 牛乳添加 80 μL 的 BR。BR 劑量根據衛生福利部食品藥物管理署之規範，其作為化妝品防腐劑之使用限制量為 0.1% (衛生福利部, 2019)，本試驗所使用 BR 劑量遠低於該規範。本試驗使用無菌採樣瓶收集農業部畜產試驗所北區分所生乳共 12,960 mL，並分成三個處理組各 216 瓶 (每瓶 20 mL)，每個處理組皆有 3 重複：未添加抑菌保存劑 (Non preservative, NP)、添加 0.33% AZ 組和添加 0.4% BR 組。樣本在不同保存溫度條件 (4、25 及 37°C) 及不同天數 (0 至 7 天)，放置於 37°C 水浴槽回溫 10 分鐘後進行檢測。

II. 數據收集與分析

試驗期間每日上午取出 NP、AZ 及 BR 各一樣本以 FC 進行 IBC 分析。初始 IBC 數值將進行標準對數 $\log_{10}IBC$ 換算，建立以下統計模型以探討保存條件對 $\log_{10}IBC$ 的影響：

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + P_j + D_k + SP_{ij} + SPD_{ijk} + e_{ijkl}$$

其中 Y_{ijkl} 為每毫升 IBC \log 轉換值 (logarithm of individual bacterial count, $\log_{10}IBC$)； μ 為平均值； S_i 為保存溫度； P_j 為抑菌保存劑種類； D_k 為保存天數； SP_{ij} 為保存溫度與抑菌保存劑種類之交互作用； SPD_{ijk} 保存溫度、抑菌保存劑保存天數之交互作用； e_{ijkl} 為隨機殘差效應。進一步分析樣本保存溫度、抑菌保存劑種類、保存天數等因子對 $\log_{10}IBC$ 的影響，以 NP 4 第 0 天作為 $\log_{10}IBC$ 的初始值，並透過變異數分析 (Analysis of Variance, ANOVA) 確認處理組之間統計差異。若 ANOVA 結果達顯著水準 ($P < 0.05$)，則進一步執行 Tukey's Honest Significant Difference (HSD) 事後檢定，以比較各處理間之平均數差異。此外，為了確定生乳樣品的檢驗穩定性，本試驗各樣品重複 3 次，並根據 1999 年國際乳業聯盟所發布之 IDF standard 128A (IDF, 1999) 中計算重複性標準偏差 (standard deviations of the repeatability, s_r)，定義為在相同條件下根據獨立結果，用以評估結果一致性程度的指標 (Slezak *et al.*, 2011)。本試驗中 s_r 代表樣本於 3 個重複間的穩定性。計算公式如下：

$$s_r = \left[\frac{1}{2q} \sum_{i=1}^q W_i^2 \right]^{1/2}$$

$$s_r \% = s_r \times \frac{100}{\bar{X}}$$

其中， q 為樣品數； W_i 為樣品間 IBC 之差異絕對值； \bar{X} 為 IBC 算術平均數。

結 果

實驗室間生乳中總生菌數能力試驗比對之目標為確保整體生乳產業可進行準確的 IBC 檢測，4°C NP 第 0 天 (NP4 - 0) 為乳品樣本 IBC 之初始值，將此組別作為對照組，期望能夠透過添加抑菌保存劑於乳品樣本中，找到不同的抑菌添加劑配方對於不同保存溫度及保存天數下的穩定性。表 1 結果顯示，抑菌保存劑的種類、保存溫度、保存天數及三者之交互作用皆會顯著地影響 IBC ($P < 0.05$)。因交互作用顯著，故本研究分別分析 4、25 及 37°C 三種保存溫度下不同抑菌保存劑對 $\log_{10}IBC$ 之影響。

I. 以 4°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 $\log_{10}IBC$ 的影響

表 1 及圖 1A 結果顯示，NP、AZ 及 BR 組的 $\log_{10}IBC/mL$ 於 4°C 保存 7 天 (NP4 - 7、AZ4 - 7 與 BR4 - 7) 其 $\log_{10}IBC$ 與 NP4 - 0 無顯著差異 (NP4 - 0、AZ4 - 7 與 BR4 - 7 分別為 4.75 ± 0.02 、 4.75 ± 0.01 與 4.52 ± 0.06 $\log_{10}IBC/mL$)。表 2 則顯示 NP、AZ 與 BR 組的 $\log_{10}IBC$ 在不同天數的 S_r ，結果顯示 NP 組 0 - 7 天的 S_r 平均為 0.027、AZ 組 S_r 均值為 0.038；而 BR 組 S_r 均值則為 0.058。

II. 以 25°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 $\log_{10}IBC$ 的影響

表 1 及圖 1B 顯示 NP、AZ 及 BR 三組在 25°C 保存 0 天 (NP25 - 0、AZ25 - 0 與 BR25 - 0)，與 NP4 - 0 $\log_{10}IBC$ 無顯著差異 (NP4 - 0 為 4.75 ± 0.02 $\log_{10}IBC/mL$ ；NP25 - 0 為 5.04 ± 0.01 $\log_{10}IBC/mL$ ；AZ25 - 0 為 4.80 ± 0.02 $\log_{10}IBC/mL$ ；BR25 - 0 為 4.46 ± 0.03 $\log_{10}IBC/mL$)。然而，當以 25°C 使用 AZ 並使用 FC 檢驗之 $\log_{10}IBC$ 則顯示，AZ 可在 25°C 下維持 $\log_{10}IBC$ 1 天，並於第 2 天開始顯著高於 NP4 - 0 (AZ25 - 1 為 4.79 ± 0.0 $\log_{10}IBC/mL$ 3；AZ25 - 2 為 6.06 ± 0.59 $\log_{10}IBC/mL$)。而在 BR 部分，與 25°C AZ 組之結果相似，BR 可在 25°C 維持 $\log_{10}IBC$ 2 日 (5.03 ± 0.07 $\log_{10}IBC/mL$)，其數值與對照組無顯著差異。表 2 顯示，25°C NP 組在保存第 0 天及第 1 天其 $\log_{10}IBC$ 值之 S_r 分別為 0.007 及 0.021，均值為 0.014；在 25°C AZ 組 S_r 均值為 0.131；而 25°C BR 組則在保存 0 - 7 天之 S_r 均值為 0.042。

III. 以 37°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 $\log_{10}IBC$ 的影響

若以 37°C 保存 NP、AZ 及 BR 三組時，FC 結果顯示 (表 1 及圖 1C)，NP37 - 0 已經在第 0 天 $\log_{10}IBC$ 會顯著上升，而 AZ 與 BR 尚可以維持第 0 天 $\log_{10}IBC$ (AZ37 - 0 與 BR37 - 0 分別為 4.79 ± 0.06 與 4.46 ± 0.03 $\log_{10}IBC/mL$)。當保存 1 天後，AZ 組的 $\log_{10}IBC$ (AZ37 - 1) 開始顯著提升 (6.79 ± 0.021 $\log_{10}IBC/mL$)；而 BR 組的 $\log_{10}IBC$ 在 FC 的部分顯示 $\log_{10}IBC$ 在保存 2 天內無顯著差異。重複性標準偏差 (表 2) 顯示，37°C NP 組第 0 天之 S_r 為 0.069；37°C AZ 組第 0 - 2 天 S_r 均值為 0.046；37°C BR 組 0 - 2 天之 S_r 均值為 0.049。

表 1. 生乳樣本在不同保存溫度與抑菌保存劑下保存 0 – 7 天並透過 FOSS BactoScan FC 檢測之個別菌落數對數值

Table 1. Effect of different temperature and preservatives for 0-7 storage days on logarithm of individual bacterial count (\log_{10} IBC, mean \pm standard deviation) of raw milk by FOSS BactoScan FC

Day Treatment	Storage Days and \log_{10} IBC							
	0	1	2	3	4	5	6	7
NP4	4.75 \pm 0.02 ^b	4.75 \pm 0.02 ^c	4.79 \pm 0.02d	4.77 \pm 0.01 ^c	4.74 \pm 0.07 ^c	4.75 \pm 0.02 ^c	4.70 \pm 0.01 ^c	4.75 \pm 0.05 ^c
AZ4	4.74 \pm 0.01 ^b	4.77 \pm 0.08 ^c	4.77 \pm 0.01d	4.74 \pm 0.03 ^c	4.58 \pm 0.19 ^c	4.74 \pm 0.01 ^c	4.77 \pm 0.02 ^c	4.75 \pm 0.01 ^c
BR4	4.52 \pm 0.02 ^b	4.48 \pm 0.04 ^c	4.52 \pm 0.02d	4.45 \pm 0.04 ^c	4.23 \pm 0.16 ^c	4.58 \pm 0.13 ^c	4.47 \pm 0.02 ^c	4.52 \pm 0.06 ^c
NP25	5.04 \pm 0.01 ^b	8.16 \pm 0.03 ^{a*}	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AZ25	4.80 \pm 0.04 ^b	4.79 \pm 0.03 ^c	6.06 \pm 0.59 ^{b*}	6.69 \pm 0.17 ^{a*}	7.25 \pm 0.06 ^{a*}	7.86 \pm 0.01 ^{a*}	8.01 \pm 0.13 ^{a*}	8.06 \pm 0.02 ^{a*}
BR25	4.48 \pm 0.08 ^b	4.44 \pm 0.02 ^c	5.03 \pm 0.07 ^c	6.06 \pm 0.04 ^{b*}	6.52 \pm 0.02 ^{b*}	6.74 \pm 0.03 ^{b*}	6.88 \pm 0.03 ^{b*}	7.11 \pm 0.05 ^{b*}
NP37	5.82 \pm 0.06 ^{a*}	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AZ37	4.79 \pm 0.06 ^b	6.79 \pm 0.02 ^{b*}	8.05 \pm 0.09 ^{a*}	NA	NA	NA	NA	NA
BR37	4.46 \pm 0.03 ^b	4.30 \pm 0.04 ^c	4.30 \pm 0.07d	NA	NA	NA	NA	NA

NP4 = Raw milk stored at 4°C without preservative; AZ4 = Raw milk stored at 4°C with 0.33% Azidiol (sodium azide + chloramphenicol); BR4 = Raw milk stored at 4°C with 0.40% Bronopol (2-bromo-2-nitro-1, 3-propanediol); NP25 = Raw milk stored at 25°C without preservative; AZ25 = Raw milk stored at 25°C with 0.33% Azidiol; BR25 = Raw milk stored at 25°C with 0.40% Bronopol; NP37 = Raw milk stored at 37°C without preservative; AZ37 = Raw milk stored at 37°C with 0.33% Azidiol; BR37 = Raw milk stored at 37°C with 0.40% Bronopol.

* indicates a significant difference compared with NP4-0 ($P < 0.05$).

^{a, b, c, d} indicates a significant difference between preservatives and temperature at the same storage day ($P < 0.05$).

NA (Not Available) indicates the sample had deteriorated or cannot be analyzed.

表 2. 生乳樣品在不同保存溫度與抑菌保存劑下保存 0 - 7 天並透過 FOSS BactoScan FC 檢測之個別菌落數對數值之最小平方均值與重複性標準偏差

Table 2. Least square mean and standard deviations of the repeatability (S_r) of logarithm of individual bacterial count (\log_{10} IBC) in raw milk samples stored at different temperatures and preservatives for 0-7 days by FOSS BactoScan FC

Day	NP4°C				NP25°C				NP37°C			
	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %
0	4.75	0.012	0.260	5.04	0.007	0.142	5.82	0.069	1.188			
1	4.75	0.020	0.420	8.16	0.021	0.263						
2	4.79	0.013	0.265									
3	4.77	0.013	0.281									
4	4.73	0.073	1.540									
5	4.75	0.017	0.356									
6	4.70	0.013	0.275									
7	4.75	0.061	1.280									
Average		0.028	0.585		0.014	0.203		0.069	1.188			
Day	AZ4°C				AZ25°C				AZ37°C			
	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %
0	4.74	0.006	0.119	4.81	0.052	1.081	4.79	0.059	1.234			
1	4.77	0.059	1.227	4.79	0.027	0.572	6.79	0.019	0.276			
2	4.77	0.010	0.218	6.07	0.630	10.386	8.05	0.060	0.750			
3	4.74	0.041	0.856	6.69	0.134	1.997						
4	4.58	0.164	3.584	7.25	0.076	1.043						
5	4.74	0.009	0.189	7.86	0.011	0.143						
6	4.77	0.013	0.280	8.01	0.101	1.266						
7	4.75	0.009	0.180	8.06	0.018	0.219						
Average		0.039	0.832		0.131	2.088		0.046	0.753			

表 2. 生乳樣本在不同保存溫度與抑菌保存劑下保存 0 – 7 天並透過 FOSS BactoScan FC 檢測之個別菌落數對數值之最小平方均值與重複性標準偏差 (續)

Table 2. Least square mean and standard deviations of the repeatability (S_r) of logarithm of individual bacterial count (\log_{10} IBC) in raw milk samples stored at different temperatures and preservatives for 0-7 days by FOSS BactoScan FC (continued)

Day	BR4°C			BR25°C			BR37°C		
	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %	LSM	S_p , log units	S_r %
0	4.52	0.023	0.515	4.48	0.091	2.022	4.46	0.031	0.696
1	4.48	0.031	0.689	4.44	0.016	0.349	4.30	0.032	0.740
2	4.52	0.019	0.431	5.03	0.059	1.164	4.30	0.085	1.968
3	4.45	0.033	0.744	6.06	0.042	0.701			
4	4.23	0.140	3.321	6.52	0.014	0.214			
5	4.58	0.127	2.764	6.74	0.038	0.570			
6	4.47	0.016	0.366	6.88	0.031	0.444			
7	4.52	0.077	1.707	7.11	0.046	0.641			
Average		0.058	1.317		0.042	0.763		0.049	1.135

NP4 = Raw milk stored at 4°C without preservative; AZ4 = Raw milk stored at 4°C with 0.33% Azidol (sodium azide + chloramphenicol); BR4 = Raw milk stored at 4°C with 0.40% Bronopol (2-bromo-2-nitro-1, 3-propanediol); NP25 = Raw milk stored at 25°C without preservative; AZ25 = Raw milk stored at 25°C with 0.33% Azidol; BR25 = Raw milk stored at 25°C with 0.40% Bronopol; NP37 = Raw milk stored at 37°C without preservative; AZ37 = Raw milk stored at 37°C with 0.33 % Azidol; BR37 = Raw milk stored at 37°C with 0.40% Bronopol.

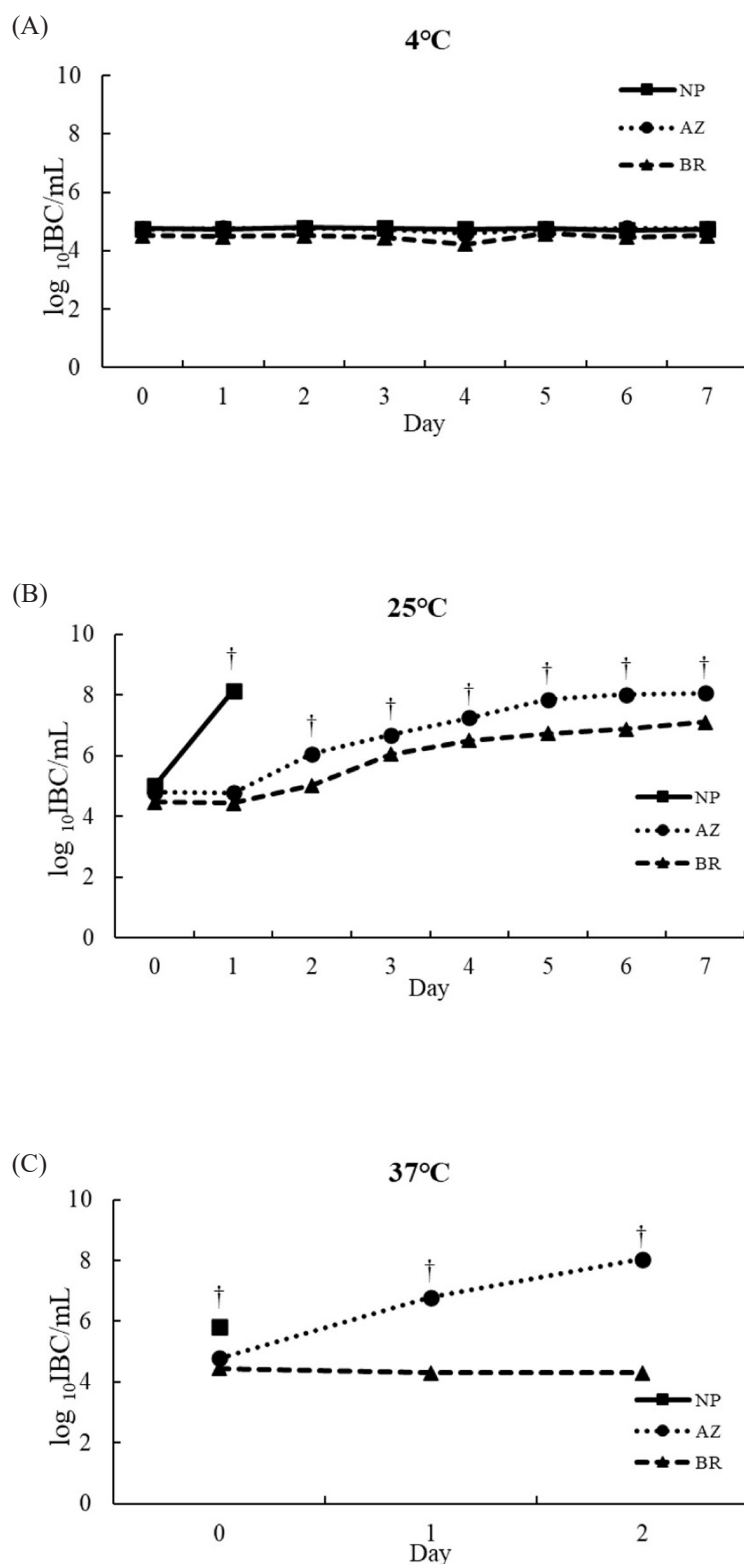


圖 1. 生乳樣本於不同保存溫度及抑菌保存劑保存 0 – 7 天並透過 FOSS BactoScan FC 檢測個別菌落數對數值之變化。生乳樣本保存於 (A) 4°C、(B) 25°C 及 (C) 37°C 下 0 – 7 天的個別菌落數對數值變化。

Fig. 1. Effect of different temperature and preservatives for 0-7 storage days on logarithm of individual bacterial count (\log_{10} IBC) of raw milk by FOSS BactoScan FC. Logarithm of individual bacterial count (\log_{10} IBC) changes in raw milk samples stored at 4°C (A), 25°C (B) and 37°C (C) for 0-7 days. $\dagger p < 0.05$ is determined by two-way ANOVA followed by Tukey post-hoc test. NP4 = Raw milk stored at 4°C without preservative; AZ4 = Raw milk stored at 4°C with 0.33% Azidiol (sodium azide + chloramphenicol); BR4 = Raw milk stored at 4°C with 0.40% Bronopol (2 bromo 2 nitro 1,3 propanediol); NP25 = Raw milk stored at 25°C without preservative; AZ25 = Raw milk stored at 25°C with 0.33% Azidiol; BR25 = Raw milk stored at 25°C with 0.40% Bronopol; NP37 = Raw milk stored at 37°C without preservative; AZ37 = Raw milk stored at 37°C with 0.33 % Azidiol; BR37 = Raw milk stored at 37°C with 0.40% Bronopol.

討 論

I. 以 4°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 \log_{10} IBC 的影響

根據表 1 及圖 1A 結果顯示，AZ 與 BR 處理組於 4°C 保存 7 天 (AZ4 - 7 與 BR4 - 7) 後，其 \log_{10} IBC 與對照組無顯著差異。Barcina *et al.* (1987) 指出，未添加抑菌保存劑之生乳樣本初始約為 40,000 IBC/mL (約 5.60 \log_{10} IBC/mL)，略高於本試驗所得之 4.75 \log_{10} IBC/mL。Folchini *et al.* (2023) 亦發現，初始為 10,000 CFU/mL 的樣本在 4°C 添加 AZ 保存 14 天後，其總生菌數約維持在 4.70 \log_{10} IBC/mL，與本試驗相近。相對地，初始總生菌數較高 (70,800 CFU/mL) 之樣本經相同處理，其總生菌數達 5.68 \log_{10} IBC/mL，因此本試驗樣本如同前人研究觀察可能屬於總生菌數較低的類型。就 NP 處理而言，Folchini *et al.* (2023) 指出，NP 在 4°C 下僅能維持 \log_{10} IBC 至保存 1 天，第 3 天後即顯著上升。然而本試驗中，NP 組於第 7 天之 \log_{10} IBC 與第 0 天無顯著差異，顯示結果與前人文獻觀察趨勢不同。此差異可能與本試驗初始 IBC 較低 (4.75 \log_{10} IBC/mL) 或保存條件之穩定度有關。關於 AZ，相關研究 (Martins *et al.*, 2009; Sierra *et al.*, 2009; Folchini *et al.*, 2023) 均指出，不論初始總生菌數高低，AZ 可在 4°C 下穩定保存生乳至少 7 天，與本試驗觀察結果一致。至於 BR，Grozdanovska *et al.* (2015) 使用 FC 檢驗發現，4°C 保存 10 天後 CFU/mL 減少約 45%，Wentz *et al.* (2018) 亦觀察到隨保存時間增加，IBC 出現下降的現象，與本研究觀察結果不符。然而，Martins *et al.* (2009) 指出，BR 在初始總生菌數低 ($< 10^5$ CFU/mL) 時具穩定總生菌數之效果，但於總生菌數高 ($> 10^6$ CFU/mL) 時則可能產生抑菌作用，因此推測本試驗中的生乳樣本的初始總生菌數可能確實較低，導致使用 FC 檢驗時未見 BR 組生乳總生菌數顯著下降之現象，BR 的效果可能會受初始總生菌數影響。綜合而言，若以 4°C 保存生乳，添加 AZ 或 BR 均能有效穩定 7 天之 \log_{10} IBC，具備潛力作為能力試驗樣品之抑菌保存劑使用。

II. 以 25°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 \log_{10} IBC 的影響

FC 結果顯示 (表 1 及圖 1B)，NP、AZ 及 BR 三組在 25°C 保存 0 天 (NP25 - 0、AZ25 - 0 與 BR25 - 0)，與對照組 \log_{10} IBC 無顯著差異。然而，當以 25°C 保存至第 2 天時，AZ 組的 \log_{10} IBC 會顯著高於對照組；而添加 BR 的組別則於保存第 3 天其 \log_{10} IBC 開始顯著高於 NP4 - 0。Martins *et al.* (2009) 結果顯示，使用 FC 檢驗添加 AZ 並於 25°C 下保存 2 日之樣本其 IBC 顯著增加，與本試驗時間點相似。另外，Souza *et al.* (2012) 指出，在 20°C 下以 BR 保存生乳 1 - 3 天並未影響 FC 檢驗 IBC 的含量；而在 Grozdanovska *et al.* (2015) 結果指出，在 20°C 下以 BR 保存 3 日其總生菌數會顯著高於初始值。然而，在 Cassoli *et al.* (2010a) 研究指出，在 24°C 使用 BR 保存生乳樣本 3 天開始便會顯著降低 IBC 的含量。同樣的結果在 Martins *et al.* (2009) 若初始總生菌數含量較低 ($< 10^5$ CFU/mL) 的樣本使用 BR 進行保存時，總生菌數會在第 4 天開始顯著增加；而若使用 BR 保存初始總生菌數含量較高 ($> 10^6$ CFU/mL) 的樣本時，會在保存第 2 天顯著增加，並有逐漸下降的趨勢。BR 在 25°C 的具有的殺菌效果與本試驗觀察結果不相同，推測可能是本試驗所使用的樣本之初始 IBC 較接近於 Martins *et al.* (2009) 中所使用之初始總生菌數含量較低 ($< 10^5$ CFU/mL) 的樣本。

III. 以 37°C 保存並添加不同抑菌保存劑對牛乳中 \log_{10} IBC 的影響

若以 37°C 保存 NP、AZ 及 BR 三組時，FC 檢測結果顯示，NP \log_{10} IBC 於第 0 天就會顯著增加，而 AZ 可以於第 0 天維持 \log_{10} IBC 的穩定。當保存 1 天後，AZ 組的 \log_{10} IBC (AZ37 - 1) 開始顯著提升；而 BR 組於 FC 檢驗的結果顯示 \log_{10} IBC 在保存 2 天內無明顯變化。在 Matczuk *et al.* (2012) 的研究指出，在 40°C 保存 BR 會降解，加速分解產物，如甲醇與甲酸的生成，致 BR 效力約為原本的 80%，因此 BR 可能會因為較高溫保存而造成保存能力的下降。因此，綜合本試驗結果，雖 37°C 使用 BR 保存 2 天未見 \log_{10} IBC 增加，但是於保存 3 天開始生乳樣本便出現外觀上的異常，如結塊與分層等，故推論隨著保存天數增加，較高溫可能會影響 BR 的效力。因此，根據上述結果顯示，若以較高溫保存生乳比對的樣本或運送失溫達 37°C 時，AZ 建議於第 0 天完成 IBC 檢驗，而 BR 則建議於第 2 天內完成 IBC 檢驗。

IV. 不同保存溫度保存下生乳 \log_{10} IBC 的 S_r 值

S_r 是重複性標準偏差，其定義為在相同條件下根據獨立結果，用以評估結果一致性程度的指標 (Slezak *et al.*, 2011)。因此， S_r 在本試驗中可作為表示 FC 進行生乳樣本之重複檢驗間個別菌落數穩定度。表 2 顯示不同保存溫度與抑菌保存劑保存 0 - 7 天之 \log_{10} IBC S_r ，結果顯示 4°C 下 NP、AZ 與 BR 之 S_r 分別為 0.027、0.039 及 0.058；25°C 下 NP、AZ 與 BR 之 S_r 分別為 0.014、0.131 及 0.042；37°C 下 NP、AZ 與 BR 之 S_r 分別為 0.069、0.046 及 0.049。根據 Sierra *et al.* (2009) 的結果顯示，4°C 下 NP、AZ 與 BR 之 S_r 為 0.015、0.021 及 0.014。而樣本菌落數介於 $10^4 - 10^5$ CFU/mL 並使用 FC 檢驗，其 S_r 為 0.031 (Ninane *et al.*, 2000)。若 $S_r > 0.031$ 則推測可能與樣本本

身變異較大有關 (Slezak *et al.*, 2011)。因此，本研究之 S_r 值部分高於 Sierra *et al.* (2009) 與 Ninane *et al.* (2000) 研究結果，推測可能與樣品初始總生菌數含量、樣本保存天數或環境條件影響。根據本試驗結果，AZ 之 S_r 值於 25°C 較 37°C 高，推測可能是因為 AZ 生乳樣本保存於此條件下總生菌數會隨著保存天數增加，均質性則從 0 至 7 日逐漸下降所致。而使用 37°C 保存時，AZ 僅能保存並測定 0 至 2 日之樣本，並於第 3 日後因腐壞結塊停止測定；而 BR 的 S_r 則是在 25 及 37°C 下有相似之數值，表示 BR 的保存穩定性可能較不會受到保存溫度的影響。Sierra *et al.* (2009) 之研究使用 AZ 及 BR 試驗之保存溫度僅 4 – 10°C，其 S_r 皆 < 0.031，故推測 AZ 在較高溫保存下，生乳中的 IBC 可能由於檢體逐漸出現腐壞造成不均勻，造成後續以 FC 進行檢測 IBC 時出現較不穩定之結果。

V. AZ 與 BR 在抑菌機制及其效果的差異

AZ 主要透過干擾細菌的代謝過程來實現其抑菌作用。AZ 能夠抑制細菌的呼吸鏈，特別是細胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase) 的活性，進而減少細菌的三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 合成 (Roy and Rhim, 2020)。這導致了細菌能量的產生受到干擾，並直接抑制細菌的生長。與 AZ 不同，BR 的抑菌作用主要透過改變細菌細胞膜的完整性。研究表明，BR 能夠穿透細菌細胞膜並引發氧化反應，導致細胞內的生理環境失衡，進而抑制細菌的代謝活動 (Shepherd *et al.*, 1988; Sarwono *et al.*, 2019)。BR 被證實具有較高的抗菌能力，尤其能夠有效對抗多種革蘭氏陽性和陰性菌，其作用機制使得 BR 在乳品保存中具有優越的效果 (Zhang *et al.*, 2006)。AZ 的有效性受到保存條件的影響，研究指出，AZ 在室溫下的保存樣本會逐漸出現過度黏稠性，可能進一步影響牛乳的均質性和保存效果 (Wentz *et al.*, 2018)。在 37°C 的條件下，Narenkumar *et al.* (2018) 以循環冷卻水為模型，發現僅 5 – 25 ppm 的 BR 即可於 21 天內徹底抑制多菌種生物膜，雖保存目標不同，但其趨勢相似，表示 BR 可能在溫暖且營養充足介質中具有持久的抑菌能力。對於生乳樣品保存，Cassoli *et al.* (2010b) 比較 24、7 與 0°C 三種保存條件下生乳樣品，同樣指出添加 BR 的生乳樣品在 7 天內，其 IBC 始終低於 NP 或 AZ 處理；而 AZ 處理樣品若不進行冷藏保存時，IBC 反而逐日上升。

結 論

本試驗比較未添加抑菌保存劑 NP 及使用 AZ 與 BR 兩種抑菌保存劑，於 4、25 及 37°C 下保存 0 – 7 天並透過 FC 進行 IBC 檢驗，評估對總生菌數檢測值之影響。試驗結果顯示，於 4°C 保存 NP 可維持 \log_{10} IBC 7 天，而使用 AZ 與 BR 於 4°C 保存生乳樣本 \log_{10} IBC 在 7 天內皆無顯著變化；於 25°C 保存 NP 僅可維持 \log_{10} IBC 0 天，而以 25°C AZ 保存 1 天與 BR 保存 2 天其 \log_{10} IBC 與對照組無顯著差異；於 37°C 保存 NP 無法穩定 \log_{10} IBC，37°C 下使用 AZ 保存 0 天或 BR 保存 2 天其 \log_{10} IBC 與對照組無顯著差異。綜上所述，生乳樣品在配送過程中冷藏溫度穩定，在 4°C 下透過 AZ 與 BR 保存並以 FC 檢驗可穩定 \log_{10} IBC 7 天；若需預防能力試驗樣品於配送過程中有失溫的現象時，建議使用 BR 進行保存可以維持其 \log_{10} IBC 約 2 天，且仍應盡速檢測完畢以維持總生菌數檢測之穩定度。

誌 謝

本研究承農業部之研究經費【113 農科 – 2.1.2 – 畜 – 01(3)】，由北區分所牛乳檢驗室羅瑩、羅伊婷與宋春蓮小姐提供試驗方面之協助，使試驗得以順利完成，特此誌謝。

參考文獻

- 葉亦馨、楊明桂、蕭振文、涂柏安。2024。酪農觀點：導入自動擠乳系統後對擠乳人工、生乳品質及水電用量之影響。畜產研究 57：46-56。
- 農業部。1999。乳品廠收購酪農原料生乳驗收及計價要點。 <https://www.angrin.tlri.gov.tw/cow/dhi36/dhi36p9.htm>。
- 衛生福利部。2019。化妝品防腐劑成分名稱及使用限制表。 <https://www.fda.gov.tw/TC/siteListContent.aspx?sid=10992&id=30804>。
- Barcina, Y., M. A. Zorraquino, J. Pedauye, G. Ros, and F. Rincón. 1987. Azidiol como conservante de muestras de leche. An. Vet. 3: 65-70.

- Brackett, R. E. 1993. Microbial quality. In: R. L. Shewfelt and S. E. Prussia (Eds.). *Postharvest Handling: a Systems Approach*. Academic Press, pp. 125-148.
- Bryce, D. M., B. Croshaw, J. E. Hall, V. R. Holland, and B. Lessel. 1978. The activity and safety of the antimicrobial agent Bronopol (2-bromo-2-nitropropan-1, 3-diol). *J. Soc. Cosmet. Chem.* 29: 3-24.
- Cassoli, L. D., P. F. Machado, and A. Coldebella. 2010a. Milk sample conservation methods to determine the total bacteria count by flow cytometry. *Rev. Bras. Zootecn.* 39: 434-439.
- Cassoli, L. D., G. I. F. Ischetti, P. F. Machado, and G. B. Mourao. 2010b. The relationship of flow cytometry results with classical measures of bacterial counts in raw refrigerated milk. *Int. J. Dairy Technol.* 63: 297-300.
- Castro, A., J. M. Pereira, C. Amiama, and M. Barrasa. 2017. Long-term variability of bulk milk somatic cell and bacterial counts associated with dairy farms moving from conventional to automatic milking systems. *Ital. J. Anim. Sci.* 17: 218-225.
- Chang, S. and S. H. Lamm. 2003. Human Health Effects of Sodium Azide Exposure: A Literature Review and Analysis. *Int. J. Toxicol.* 22: 175-186.
- FOSS. 2013. BactoScan™ FC+: The approved rapid method for determination of total bacteria in raw milk.
- Folchini, J. A., D. C. Silveira, G. F. Posser, R. Rebesquini, J. Bressiani, G. B. Barreto, A. Pasqualotti, and C. Bondan. 2023. Efficiency of chemical preservatives used in raw milk samples for bacterial counts by flow cytometry. *R. Bras. Zootec.* 52: e20220058.
- Grozdanovska, A., M. Arapcheska, and L. Kochoski. 2015. The effect of different preservation chemicals and storage temperatures on chemical composition and microbiological safety of milk. In: *Scientific Research of the Union of Scientists in Bulgaria – Plovdiv, Series B: Natural Sciences and Humanities. Proceedings of the International Conference of Young Scientists, Plovdiv, Bulgaria.* 17: 112-115.
- Gunasekera, T. S., P. V. Attfield, and D. A. Veal. 2000. A flow cytometry method for rapid detection and enumeration of total bacteria in milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1228-1232.
- Hendrix, K., N. Bleyen, T. Mennecart, C. Bruggeman, and E. Valcke. 2019. Sodium azide used as microbial inhibitor caused unwanted by-products in anaerobic geochemical studies. *Appl. Geochem.* 107: 120-130.
- International Dairy Federation. 1999. Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis application to calibration procedure and quality control in the dairy laboratory. FIL-IDF Standard no. 128A. IDF, Brussels, Belgium.
- Loss, G., S. Apprich, W. Kneifel, E. Mutius, J. Genuneit, and C. Braun-Fahrländer, on behalf of the Gabriel study group. 2012. Short communication: Appropriate and alternative methods to determine viable bacterial counts in cow milk samples. *J. Dairy Sci.* 95: 2916-2918.
- Martins, M. E. P., E. S. Nicolau, A. J. Mesquita, R. B. S. Neves, and J. P. Oliveira. 2009. Conservantes bronopol e azidiol: Influência do binômio tempo/temperatura na contagem bacteriana total do leite cru. *Ciênc. Anim. Bras.* 10: 627-633.
- Marutescu, L. G. 2023. Current and future flow cytometry applications contributing to antimicrobial resistance control. *Microorganisms.* 11: 1-17.
- Matczuk, M., N. Obarski, and M. Mojski. 2012. The impact of the various chemical and physical factors on the degradation rate of bronopol. *Int. J. Cosmet. Sci.* 34: 451-457.
- Merck KGaA. 2016. Safety Data Sheet for Catalogue No. 6B7591: Anti-Olig2, clone 211F1.1, Alexa Fluor® 488 Conjugate. Darmstadt, Germany.
- Narenkumar, J., N. Ramesh, and A. Rajasekar. 2018. Control of corrosive bacterial community by bronopol in industrial water system. *3 Biotech.* 8: 1-13.
- Ninane, V., K. De Reu, R. Oger, W. Reybroeck, and A. Guyot. 2000. Évaluation du Bactoscan FC pour la numération des bactéries du lait cru. *Lait.* 80: 527-538.
- Oong, G. C. and P. Tadi. 2023. Chloramphenicol. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. PMID: 32310426.
- Roy, S. and J. W. Rhim. 2020. Preparation of gelatin/carrageenan-based color-indicator film integrated with shikonin and propolis for smart food packaging applications. *ACS Appl. Bio. Mater.* 4: 770-779.
- Russo, I., P. D. Mese, M. Viretto, G. Doronzo, L. Mattiello, M. Trovati, and G. Anfossi. 2007. Sodium azide, a bacteriostatic preservative contained in commercially available laboratory reagents, influences the responses of human platelets via

- the cGMP/PKG/VASP pathway. *Clin. Biochem.* 41: 343-349.
- Sarwono, A. E. Y., Mitsuhashi, S., M. H. B. Kabir, K. Shigetomi, T. Okada, F. Ohsaka, and M. Ubukata. 2019. Repurposing existing drugs: identification of irreversible IMPDH inhibitors by high-throughput screening. *J. Enzym. Inhib. Med. Ch.* 34: 171-178.
- Shepherd, J. A., R. D. Waigh, and P. Gilbert. 1988. Antibacterial action of 2-bromo-2-nitropropan-1, 3-diol. *Antimicrob. agents chemother.* 32: 1693-1698.
- Sierra, D., A. Sánchez, A. Contreras, C. Luengo, J. C. Corrales, C. de la Fe, I. Guirao, and C. T. Morales, and C. Gonzalo. 2009. Short communication: Effect of storage and preservation on total bacterial counts determined by automated flow cytometry in bulk tank goat milk. *J. Dairy Sci.* 92: 4841-4484.
- Singh, P., and N. Gandhi. 2015. Milk preservatives and adulterants: processing, regulatory and safety issues. *Food Rev. Int.* 31: 236-261.
- Slezak, P., and I. Waczulikova. 2011. Reproducibility and repeatability. *Physiol. Res.* 60: 203-205.
- Souza, G., M. L. Lopes, S. M. Roberto, G. U. Campos, and B. A. Freguglia. 2012. Effects of storage temperature and milk sample age on the somatic cell count of goat milk. *J. Candido. Tostes. Dai.* 67: 38-41.
- Verdier-Metz, I., V. Michel, C. Delbes, and M. C. Montel. 2009. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiol.* 26: 305-310.
- Vigolo, V., G. Niero, M. Penasa, and M. De Marchi. 2022. Effects of preservative, storage time, and temperature of analysis on detailed milk protein composition determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Dairy Sci.* 105: 7917-7925.
- Wang, M., Z. Bai, S. Liu, Y. Liu, Z. Wang, G. Zhou, X. Gong, Y. Jiang, and Z. Sui. 2023. Accurate quantification of total bacteria in raw milk by flow cytometry using membrane potential as a key viability parameter. *Lwt-food Sci. Technol.* 173: 114315.
- Wentz, A. G., Bermudes, R. F., Martins, C. M. de M., Osmari, M. P., Rodrigues, B. M., Pozza, and M. S. dos S. 2018. Different methods and times of milk conservation: Physical-chemical composition and microbiological quality. *Acta. Vet. Bras.* 12: 84-93.
- Zhang, W., P. K. Chu, J. Ji, Y. Zhang, R. K. Fu, and Q. Yan. 2006. Antibacterial properties of plasma-modified and triclosan or bronopol coated polyethylene. *Polymer.* 47: 931-936.

Effects of different preservatives and storage conditions on the stability of individual colony counts tested by automatic bacteria analyzer in raw milk samples ⁽¹⁾

Yueh-Tung Chen ⁽²⁾ Ming-Kuew Yang ⁽²⁾ Yi-Hsin Yeh ⁽²⁾ Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ and Po-An Tu ⁽²⁾⁽³⁾

Received: May 5, 2025; Accepted: Aug. 1, 2025

Abstract

In Taiwan, raw milk is classified into four categories based on somatic cell counts and total bacterial counts (TBC). If milk TBC of a dairy farmer exceeds 300,000 CFU/mL three times within a month and consecutively over two months annually, the dairy plant could terminate the milk supply agreement with the dairy farmer. Since TBC directly affects the financial benefits of the dairy plants and farmers, establishing a reliable proficiency testing for raw milk samples is crucial for fair pricing and maintaining mutual trust between dairy farmers and processors. This study evaluated the effects of two preservatives, azidiol (AZ) and bronopol (BR), at three storage temperatures (4, 25 and 37°C) over seven (0-7) days to determine the optimal preservation conditions, thereby assuring the stability of the TBC analysis. The study merely analyzed the preservation of samples and did not apply to food additives. Raw milk samples were analyzed by the FOSS BactoScan FC (FC) to obtain individual bacterial counts (IBC), which were logarithmically transformed ($\log_{10}IBC$), at different preservation periods. Results showed that samples without preservatives stored at 4°C maintained stable $\log_{10}IBC$ for seven days, which values did not show significant difference when compared to the control group. Both AZ and BR effectively stabilized $\log_{10}IBC$ under refrigeration at 4°C for seven days, which values did not show significant difference when compared to the control group. At 25°C, AZ merely maintained the stability of $\log_{10}IBC$ for about one day, while BR preserved stability for two days. At 37°C, AZ was only effective on the first day, whereas BR maintained stability for two days. The TBC of both AZ BR significantly increased. In conclusion, under consistent refrigeration at 4°C, both AZ and BR are suitable for preserving raw milk samples analyzed by FC. If there is a risk of temperature change during sample transportation, BR is recommended for maintaining sample stability. However, it is recommended to test the samples soon possible before the scheduled proficiency testing date indicated by the proficiency testing provider, thereby to ensure accurate and reliable $\log_{10}IBC$ results.

Key words: Azidiol, Bronopol, Automatic bacteria analyzer.

(1) Contribution No. 2835 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Miaoli 36843, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: tpa@mail.tlri.gov.tw.

盤固草生物炭添加對芻料燕麥青貯品質及其應用潛力之研究⁽¹⁾

王紓愷⁽²⁾⁽⁴⁾ 劉建甫⁽³⁾ 陳嘉昇⁽²⁾

收件日期：114 年 6 月 17 日；接受日期：114 年 8 月 1 日

摘 要

本研究以芻料燕麥為材料，評估添加盤固草生物炭（以下簡稱草炭）對青貯品質的影響，探討其做為青貯添加之應用性，以期發揮生物炭在動物飼料與環境議題之多元效應。試驗以畜產試驗所南區分所（以下簡稱南區分所）選育之燕麥品系 43 及 26 為材料，各進行 6 批次青貯試驗，試驗以實驗室規模真空袋青貯方式進行，青貯處理包括 CK（對照，無添加）、CCK（添加平衡草炭，5 g/kg；平衡草炭：添加乳酸之草炭，0.02 g/g）、I（接種商業菌劑，南區分所技轉菌株，*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, 2×10^8 cfu/kg）、CI（同時添加平衡草炭及接種商業菌劑，比例同前）、LA（添加乳酸，0.1 g/kg），青貯 4.5 個月。試驗顯示，相對於品系及乾物率，草炭非主要影響發酵品質之因素；2 品系燕麥的表現不盡相同；在低乾物率下，所有青貯處理均表現不佳；品系 43 在 38.4% 乾物率下，I 及 CI 處理之青貯評分（Flieg's score）為「優良」，其餘 3 處理之品質不佳，在 44.2% 乾物率下，I 及 CI 處理之青貯品質評分為「優良」，其餘處理為「可接受」；品系 26 在乾物率 41.5 及 50.0% 下，所有青貯處理之青貯品質評分均在「可接受」以上，其中 LA 處理及部分 CI、CCK 處理之評分為「優良」。整體而言，添加草炭 0.5% fw 對燕麥青貯發酵無不良影響，具備青貯添加應用的可行性，可提供未來生物炭農牧應用開發的參考。此外，40% 乾物率可能為影響燕麥青貯發酵品質的調製界限。

關鍵詞：盤固草炭、芻料燕麥、青貯、發酵品質。

緒 言

生物炭 (biochar) 是生物質 (biomass) 在低氧環境下高溫裂解 (pyrolysis) 的固體產物。生物質中的碳聚合物 (纖維素、半纖維素、木質素等) 在高溫下，因裂解及縮合會形成各種不同程度的孔洞與官能基，使生物炭具有多孔性、高比表面積及特殊的吸附能力，可在污染物質去除及除臭等方面可發揮明顯效果 (Chen *et al.*, 2010; Agyarko-Mintah *et al.*, 2017)，同時這些孔洞也可作為微生物的居所，使得施用生物炭的土壤增加微生物相豐富度、改善土壤的保水、通氣與團粒結構。另外高溫炭化的生物炭結構穩定不易礦化，估計可以留存百年以上，收土壤碳匯 (carbon sequestration) 之效，可做為淨零減碳措施之一。因此，近年在減緩全球暖化議題的推升下，生物炭的相關研究與應用快速發展，除能源外已擴展至環境維護、農業生產等多元化利用 (Lehannes and Joseph, 2009; Schmidt, 2012; Windeatt *et al.*, 2014; Purakayastha *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2017; Ayeneshet and Temesgen, 2025)。此外，生物炭特殊的理化特性，也被應用於飼糧添加劑，做為減少攝入有害物質、改善動物健康與生產表現等 (Schmidt *et al.*, 2019; Willson *et al.*, 2019; Lao and Mbega, 2020)。Qomariyah *et al.* (2023) 的統合分析顯示，生物炭的添加在體外與體內實驗中皆展現出一致性的效果，作為飼料添加劑使用時，生物炭具有提升動物健康潛力、飼料效率與畜牧生產力，並能減少營養損失與溫室氣體排放。最重要的是，在所回顧的文獻中，並未發現生物炭對動物健康有顯著的負面影響。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2836 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

(3) 國立臺灣大學。

(4) 通訊作者，E-mail: smwang@mail.gov.tw。

盤固草為臺灣主要栽培的多年生牧草之一，以乾草調製為主，然每年都有部分盤固草會因為調製過程的天候影響或倉儲條件不佳而無法供作芻料利用，畜產試驗所南區分所（以下簡稱南區分所）利用自行開發的炭窯進行炭化，生產盤固草炭（以下簡稱草炭，PB）。草炭可應用於牧草生產與牧草地土壤改良，也有助於牧地土壤碳滙及畜牧場除臭與墊料應用（王等，2018c；王等，2018d；劉等，2019；王等，2021）。

燕麥為世界重要穀類作物，除提供人類食用外，主要做為芻料利用。國內進口乾草中燕麥乾草即占比不小。國立臺灣大學早在 1979 年即已選育出適於青刈利用的臺大選 1 號，並發表週年栽培的生育表現（劉及曾，1984）。此後，國內雖陸續有燕麥的栽培，但多為零星小規模利用且多為國外商用品系（蕭，2013；王等，2018a；王等，2018b；梁等，2018；陳等，2021）。2015 年南區分所與台灣大學農藝學系合作進行芻料燕麥之選育，由 Quaker International Oat Nursery (QION) 引入 71 個燕麥純系，本試驗之品系 43 及 26 即來自於此，為經數年選育具地區適應性且表現較佳者。品系 43 來自巴西，為中熟種，葉片多、穀粒多；品系 26 來自美國，為晚熟種，具中至高等生物量、高株。

本研究以南區分所燕麥品系 43 及 26 進行添加草炭的青貯試驗，一方面增加對新燕麥品系調製的掌握能力，另一方面則希望藉此試驗增加草炭之應用性，供後續開發參考。

材料與方法

I. 材料

- (i) 燕麥品系 26、43 於 109 年 11 月 19 日種植於南區分所試驗區，試驗品系 43 分別於 2 月 23 日（抽穗期）及 3 月 3 日（糊熟期）收穫，品系 26 則於 3 月 9 日（抽穗期）及 3 月 17 日（糊熟期）收穫。收穫時間均為下午，2 月 23 日收穫之材料均分為三份，一份於細切後立即進行青貯處理，另二份材料分別於萎凋 19 及 24 小時後以相同的方式進行青貯處理。3 月 3 日、3 月 9 日及 3 月 17 日收穫之材料同樣均分為三份，一份於細切後立即進行青貯處理，另二份材料分別於萎凋 24 及 48 小時後以相同的方式進行青貯處理。青貯處理前均取樣測定含水率及植體營養組成（表 1）。

表 1. 青貯試驗前材料的乾物率及化學組成

Table 1. Dry matter content and chemical compositions of forage used in ensiling experiments

Line	Harvest date	Maturity	Wilting h	Dry matter	Crude protein	Neutral detergent fiber	Acid detergent fiber	Water solu-ble carbohydrate	Starch
				%					
43	2/23	Head	0	17.8	9.4	60.4	39.8	5.2	3.9
43	2/23	Head	16	24.7	9.5	59.3	39.2	3.5	6.5
43	2/23	Head	24	28.4	9.6	59.3	39.2	3.4	6.0
43	3/3	Dough	0	27.0	7.7	54.7	36.1	2.9	16.1
43	3/3	Dough	24	38.4	9.1	53.9	37.1	2.7	13.0
43	3/3	Dough	48	44.2	9.8	54.2	36.7	2.1	17.5
26	3/9	Head	0	24.5	7.4	62.0	41.6	4.8	3.6
26	3/9	Head	24	37.8	7.2	64.9	44.9	2.1	3.2
26	3/9	Head	48	39.8	7.6	64.5	42.5	3.3	4.2
26	3/17	Dough	0	29.4	7.4	62.2	40.6	4.2	8.1
26	3/17	Dough	24	41.6	8.0	61.4	41.1	3.6	7.3
26	3/17	Dough	48	50.0	6.8	63.6	42.4	3.3	9.7

- (ii) 草炭：自行生產，原料為品質不佳的盤固草乾草包，以自行設計的炭化窯進行炭化，炭化最高溫度 (HTT, highest treatment temperature) 約 400 – 500°C，炭化時間約 10 小時。草炭的基本特性如表 2。草炭冷卻後以桌上型磨粉機磨為 < 1 mm 的粉末，每 100 g 草炭加入 20 mL 10% 乳酸混合均勻（乳酸添加量為 2%），添加

乳酸之草炭以下簡稱平衡草炭，製備後以夾鏈袋密封保存於室溫下，供後續試驗。

- (iii) 生物炭特性分析：包括 pH 值、電導度 (electrical conductivity, EC) 及組成含量 (碳、氮、磷、鉀、鈣、鎂、銅、鋅及灰分)。pH 及 EC 為草炭 / 蒸餾水 (1/1) 萃取後之測值。碳以總碳分析儀測定 (Analytik Jena Multi EA 4000, 德國)。氮、磷、鉀、鈣、鎂、銅、鋅等元素分析是利用濃硫酸及 H₂O₂，於 400°C 高溫分解至澄清，稀釋定量後保存於冰箱中，再分別經凱式氮測定儀測定總氮，磷以鉬藍法呈色後以分光光度計測定，鉀、鈣、鎂、銅、鋅則以原子光譜儀 (Hitachi ZA3300, 日本) 測定 (Enders and Lehmann, 2012)。灰分為 600°C 下 6 h 的殘存重量比。

表 2. 盤固草生物炭的組成及特性

Table 2. The compositions and properties of pangolagrass biochar

	pH	EC*	C	N	P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Ash
		mScm ⁻¹	----- % -----								
			----- mgkg ⁻¹ -----								
Mean	9.6	5.0	64.2	1.7	2.0	3.8	0.2	0.4	15.7	8.7	12.9
Max.	9.9	7.5	73.0	2.3	2.3	4.8	0.3	0.5	20.8	10.8	14.1
Min.	8.7	2.9	54.2	1.0	1.5	2.7	0.1	0.3	10.8	7.5	12.1
CV.# (%)	5.4	38.9	20.0	11.3	20.4	19.7	9.3	24.5	14.6	9.0	5.0

CV. (coefficient of variation), n = 13.

* EC: Electrical conductivity.

II. 試驗材料組成分析

前述各試驗材料於試驗前各自取樣，於 80°C 烘乾後磨粉，供後續分析用。粗蛋白質 (crude protein, CP) 含量依照 AOAC (1984) 之方法測定；酸洗纖維 (aciddetergent fiber, ADF)、中洗纖維 (neutraldetergent fiber, NDF) 則依照 van Soest (1991) 方法以濾袋法測定 (Ankom 2000)；水溶性碳水化合物 (water soluble carbohydrates, WSC) 含量測定：樣品以 80% 的酒精於 80°C 下萃取四次，置 70°C 烘箱中去除酒精，合併萃取液並定量，依 Morris (1948) 方法，採 anthrone 呈色法進行；澱粉的測定：先以 80% 的酒精於 80°C 下萃取除去 WSC，棄去萃取液，樣品烘乾後加入過氧酸加熱水解，定量後同樣以 anthrone 呈色法測定含量。每一樣品重複 2 次。

III. 青貯處理

除 2 月 23 日收穫之材料無 LA 處理外，其他均有。青貯時，材料依處理數均勻分堆，分別進行下列處理：CK (對照，無添加)、CCK (添加平衡草炭，5 g/kg)、I (接種商業菌劑，畜試所南區分所技轉菌株，*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, 2 × 10⁸ cfu/kg)、CI (同時添加平衡草炭及接種商業菌劑，比例同前)、LA (添加乳酸，0.1 g/kg)。材料依處理混合均勻，以真空袋密封青貯，每袋 1 kg。青貯料置於室溫下，貯存 4.5 個月後每處理開封 2 袋，測定乾物率、pH 值及各短鏈揮發性脂肪酸含量，並計算青貯評分 (Flieg's score) 及乾物質損失率。

IV. 青貯品質分析

乾物率為 70°C 下烘乾 48 小時之乾鮮重比。pH 值為 20 g 新鮮青貯料加蒸餾水 180 mL，打碎過濾後以酸鹼度計測定之值。乳酸、丁酸、丙酸及乙酸之測定以氣相層析儀依 Jones and Kay (1976) 的方法進行，將前述青貯萃取液經過陽離子管柱，洗出液以 0.05 N tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAH) 滴定至 pH 為 8，70°C 下烘乾，加入定量丙酮溶解，並依 TBAH 滴定量，加入適量 benzyl bromide 與揮發性脂肪酸反應，樣品製備完成，再以氣相層析儀 (Shimadzu, GC-2014, Japan) 分析含量。管柱溫度 120 – 180°C，火焰離子偵測器 (Flame ionization detector, FID) 溫度 250°C，管柱流速 3.8 ml/min，攜帶氣體為氬氣，以巴豆酸 (Crotonic acid) 為內標準品。依青貯料中乳酸、丁酸及乙酸當量分別占測定乙酸、丙酸、丁酸與乳酸四者總當量之百分比進行評分，再將 3 項總加所得即為 Flieg's score，評分 40 以下表示「青貯失敗」、40 – 60 分為「可接受」、60 – 80 分為「好」的青貯、80 分以上為發酵「優良」的青貯。由於真空密封青貯無滲漏損失，乾物損失率計算以青貯前後之乾物率比計算。

V. 統計

試驗結果以 SAS 軟體 (2002) 之 GLM procedure 進行變方分析，主效應為收穫成熟度、萎凋程度及青貯處理，各主效應均為固定型，以鄧肯氏法 (Duncan's test) 測驗各處理間的差異顯著性。二品系燕麥分別進行分析。

結果與討論

I. 變方分析與主效應比較

本試驗中燕麥品系 43 的青貯前乾物率介於 17.8 – 44.2%，水溶性碳水化合物含量介於 2.1 – 5.2% (表 1)。表 3 變方分析結果顯示，除乾物質損失外，成熟度對 pH 值、青貯評分、乙酸、丙酸、丁酸、乳酸、總酸含量等各項青貯表現上均影響極顯著，為最大的影響因子；萎凋程度則除 pH 值及丙酸含量外，對其他各項均影響顯著或極顯著；而青貯處理則除丁酸及總酸含量外，對其他各項均為影響顯著或極顯著。交感效應方面，成熟度與萎凋的交感效應對各項均影響極顯著；成熟度與青貯處理交感則除丙酸含量及乾物質損失外均影響極顯著；萎凋與青貯處理交感效應除乾物質損失不顯著外，其他各項影響均為顯著或極顯著。成熟度、萎凋程度及青貯處理之主效應比較如表 4。基本上，品系 43 在較晚收穫的青貯表現明顯優於較早收穫的材料；材料經萎凋再青貯的表現均顯著優於直接青貯；各青貯處理則以對照處理之表現最差，僅添加平衡草炭的表現與對照無顯著差異，其他添加劑處理組則有增加乳酸含量的效果。

表 3. 成熟度、萎凋程度及青貯處理對燕麥品系 43 青貯品質影響之變方分析表

Table 3. Analysis of variance for the silage qualities of oat line 43 silage in different maturities, wilting levels and ensiling treatments

Source	DF ⁺	Mean square [#]							
		pH	Score [#]	A	P	B	L	TA	DM loss
Maturity (M)	1	1.78**	8,988.5**	21.04**	3.11**	58.4**	23.8**	83.0**	99.2
Wilting (W)	2	0.06	3,713.8**	4.37**	0.05	16.6**	8.8**	11.8**	111.9*
Treatment (T)	4	0.32**	932.2**	0.27*	0.40**	0.4	2.9**	0.2	112.9*
M × W	2	1.01**	1966.0**	1.98**	1.07**	11.9**	5.8**	8.9**	269.9**
M × T	4	0.27**	823.7**	0.55**	0.03	1.0**	2.3**	1.7**	2.4
W × T	8	0.09*	229.7**	0.22**	0.11**	0.9**	1.0**	0.2**	62.3
Error	38	0.03	43.7	0.07	0.02	0.2	0.2	0.4	29.7

⁺ DF: degree of freedom.

* Significant at 5% level, ** Significant at 1% level.

[#] Score: Flieg's score, A: acetic acid content, P: propionic acid content, B: butyric acid content, L: lactic acid content, TA: total acid content, DM loss: dry matter loss.

表 4. 不同成熟度、萎凋程度及青貯處理對燕麥品系 43 青貯品質之影響

Table 4. The effects of different maturities, wilting levels and ensiling treatments on silage quality of oat line 43

Item	pH	Score [#]	% dry base						DM loss
			A	P	B	L	TA		
Head	5.4 ^a	17.5 ^b	1.97 ^a	0.89 ^a	4.05 ^a	0.09 ^b	7.00 ^a	6.12	
Dough	5.0 ^b	43.6 ^a	0.70 ^b	0.40 ^b	1.95 ^b	1.43 ^a	4.48 ^b	8.87	
No wilting	5.1	16.8 ^c	1.83 ^a	0.66	4.00 ^a	0.04 ^b	6.51 ^a	10.5 ^a	
Low wilting	5.2	34.3 ^b	0.94 ^b	0.62	2.32 ^b	1.14 ^a	5.02 ^b	6.6 ^b	
High wilting	5.2	44.9 ^a	1.03 ^b	0.57	2.37 ^b	1.31 ^a	5.30 ^b	5.7 ^b	
CK*	5.3 ^a	21.8 ^c	1.62 ^a	0.85 ^a	3.11 ^a	0.35 ^c	5.92 ^a	10.8 ^{ab}	
CCK	5.3 ^a	25.8 ^{bc}	1.42 ^{ab}	0.80 ^a	2.92 ^a	0.40 ^{bc}	5.55 ^a	8.3 ^{abc}	
I	5.0 ^b	39.3 ^a	1.20 ^b	0.48 ^b	2.88 ^a	1.27 ^a	5.83 ^a	3.3 ^c	
CI	5.0 ^b	39.7 ^a	1.17 ^b	0.42 ^b	2.98 ^a	1.26 ^a	5.85 ^a	5.9 ^{bc}	
LA	5.2 ^a	31.0 ^b	0.68 ^c	0.51 ^b	2.35 ^b	0.77 ^b	4.31 ^b	12.5 ^a	

[#] The same as table 2.

^{a, b, c} Means with different superscripts in the same column and section are significantly different ($P < 0.05$).

*: CK: control, CCK: balanced PB, I: inoculant, CI: inoculant + balanced PB, LA: lactic acid.

燕麥品系 26 不同收穫期及萎凋時間的青貯前乾物率介於 24.5 – 50.0%，水溶性碳水化合物含量介於 2.1 – 4.8% (表 1)。由變方分析結果 (表 5)，同樣是以成熟度為影響青貯最大的變因，對所有青貯表現均影響極顯著；萎凋的影響其次，除 pH 值外，其他各項青貯表現均影響極顯著；青貯處理則除對丙酸及總酸含量影響極顯著外，其他均不顯著。交感效應方面以成熟度與萎凋交感影響最大，除 pH 值外，對其他各項青貯表現均影響顯著或極顯著；成熟度與青貯處理間無交感效應；萎凋與青貯處理交感效應顯現於 pH 值、乙酸、總酸含量及乾物質損失 4 項。表 6 結果顯示，較晚收穫之青貯表現顯著優於較早收穫之材料；萎凋後青貯的青貯品質顯著優於直接青貯；青貯處理間同樣以對照組的青貯品值最差，其他添加處理之乳酸含量均較對照組高但差異不顯著。

表 5. 成熟度、萎凋程度及青貯處理對燕麥品系 26 青貯品質影響之變方分析表

Table 5. Analysis of variance for the silage qualities of oat line 26 silage in different maturities, wilting and levels ensiling treatments

Source	DF ⁺	Mean square							
		pH	Score [#]	A	P	B	L	TA	DM loss
Maturity (M)	1	3.26**	11,426.4**	10.82**	4.14**	29.2**	31.4**	26.3**	4,154.0**
Wilting (W)	2	0.56	2,872.1**	4.46**	0.59**	27.6**	6.3**	34.7**	406.3**
Treatment (T)	4	0.11	610.9	0.04	0.12**	0.2	0.6	1.0**	5.2
M × W	2	1.02	2,414.8**	1.19**	0.23**	1.1*	4.9**	4.4**	473.9**
M × T	4	0.03	579.8	0.05	0.01	0.5	0.7	0.2	18.4
W × T	8	0.12*	1,854.7	0.21**	0.31	0.4	1.3	0.9**	43.5**
Error	38	0.04	5,384.0	0.03	0.79	0.2	0.7	0.2	10.5

⁺DF: degree of freedom.

*: Significant at 5% level, **: Significant at 1% level.

[#] The same as table 2.

表 6. 不同成熟度、萎凋程度及青貯處理對燕麥品系 26 青貯品質之影響

Table 6. The effects of different maturities, wilting levels and ensiling treatments on silage quality of oat line 26

Item	pH	Score [#]	A	P	B	L	TA	DM loss
----- % dry base -----								
Head	5.6 ^a	21.4 ^b	1.38 ^a	0.85 ^a	2.88 ^a	0.27 ^b	5.37 ^a	22.4 ^a
Dough	5.1 ^b	49.0 ^a	0.53 ^b	0.32 ^b	1.48 ^b	1.72 ^a	4.05 ^b	5.7 ^b
No wilting	5.3	21.6 ^b	1.41 ^a	0.75 ^a	3.48 ^a	0.35 ^b	5.99 ^a	13.1 ^b
Low wilting	5.3	40.0 ^a	0.97 ^b	0.59 ^b	1.87 ^b	1.35 ^a	4.78 ^b	19.0 ^a
High wilting	5.4	44.1 ^a	0.47 ^c	0.41 ^c	1.19 ^b	1.29 ^a	3.36 ^c	10.1 ^c
CK*	5.47 ^a	31.3	0.92 ^{ab}	0.72 ^a	2.17	0.65	4.46 ^b	12.9
CCK	5.36 ^{ab}	37.4	0.89 ^b	0.61 ^{ab}	1.95	1.14	4.59 ^b	14.6
I	5.31 ^{ab}	31.7	0.93 ^{ab}	0.49 ^b	2.23	0.89	4.53 ^b	14.2
CI	5.23 ^b	36.4	0.98 ^{ab}	0.49 ^b	2.22	1.13	4.81 ^{ab}	14.3
LA	5.26 ^b	39.3	1.05 ^a	0.62 ^a	2.33	1.19	5.17 ^a	14.3

[#] The same as table 2.

^{a, b, c} Means with different superscripts in the same column and section are significantly different (P < 0.05).

* The same as table 4.

綜合前述，2 燕麥品系的青貯表現不盡相同，但均以收穫成熟度為影響其青貯品質最大的因子，其次為萎凋的程度，相對的，不同青貯處理的影響程度較低。

II. 乾物率與燕麥青貯品質的變動

由表 1 可以了解本試驗的燕麥材料乾物率的變動範圍極大，而水溶性碳水化合物含量的範圍相對極窄，進

一步檢視顯示，材料的乾物率差異可能是其內在主要的影響機制。圖 1 為品系 43 及 26 在 6 個批次青貯試驗下，材料乾物率與開封後各處理之乙酸、丁酸、乳酸含量以及青貯評分間的變動情形。不論品系及青貯添加處理為何，乙酸與丁酸含量大致隨材料乾物率增加而降低，各青貯處理的影響不大，顯示環境（材料）的水活性可能是影響此二種發酵產酸的重要因子。乳酸含量的變動則不僅與材料之乾物率有關，同時也與青貯處理有關，由圖 1，品系 43 在乾物率較低的情形下，各青貯處理的乳酸含量均極低，但在較高乾物率 38.4 及 44.2% (3/3 收穫，萎凋 24 及 48 h) 條件下，青貯處理 I 及 CI 的乳酸含量較其他青貯處理高；品系 26 的表現與品系 43 略為不同，但同樣在低乾物率的條件下，所有青貯處理之乳酸含量均極低，在乾物率 28.2% 以上則出現青貯處理的差異，但各處理間表現不一致。然二品系燕麥均顯示乾物率是影響燕麥青貯品質的重要因子，由本試驗，品系 43 在 38.4% 乾物率下，I 及 CI 處理之青貯評分為「優良」，其餘 3 處理之品質不佳，在 44.2% 乾物率下，所有青貯品質評分均為「可接受」以上，其中 I 及 CI 處理為「優良」，品系 26 在乾物率 41.5 及 50.0% 下，所有青貯品質評分均為「可接受」以上，其中 LA 處理及部分 CI、CCK 處理之評分為「優良」，顯示 40% 乾物率可能為影響燕麥青貯發酵品質的調製界限。

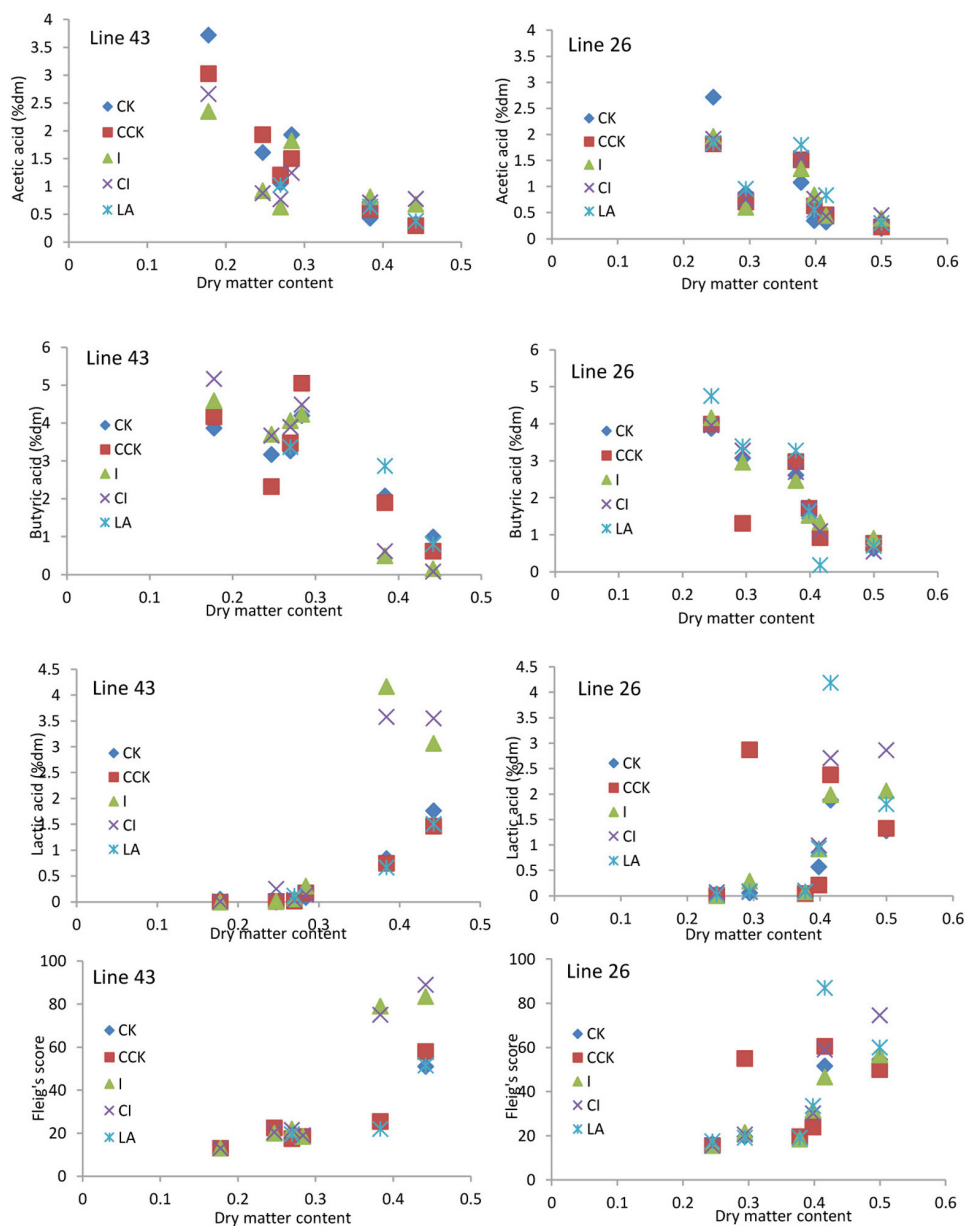


圖 1. 燕麥品系 43 與 26 在不同青貯處理條件下，材料乾物率與各發酵產酸含量之間，以及材料乾物率與青貯評分之間的變異關係。

Fig. 1. Variations between dry matter content and fermentation acid production, and between dry matter content and Fleig's scores in oat lines 43 and 26 under different ensiling treatments. CK: control, CCK: balanced PB, I: inoculant, CI: inoculant + balanced PB, LA: lactic acid.

III. 青貯處理的影響

由表 3、表 5 及圖 1 可知青貯處理並非影響本試驗的主要因子，在乾物率較低的情形下，青貯 4.5 個月的燕麥均發酵不佳，發酵產酸以丁酸為主，乳酸含量極低，僅在材料乾物率較適當的條件下，不同的青貯處理始有顯現效益的空間。整體而言，2 品系所有青貯添加處理之乳酸含量均及評分均較不添加的對照處理為高，其中，品系 43 之 I、CI 及 LA 處理的乳酸含量及評分顯著高於對照 (表 4、6)。圖 2 則顯示處理 CCK 相對 CK 以及處理 CI 相對於 I 的發酵表現相近，表示添加草炭並未對燕麥的青貯發酵產生抑制或不良的影響。

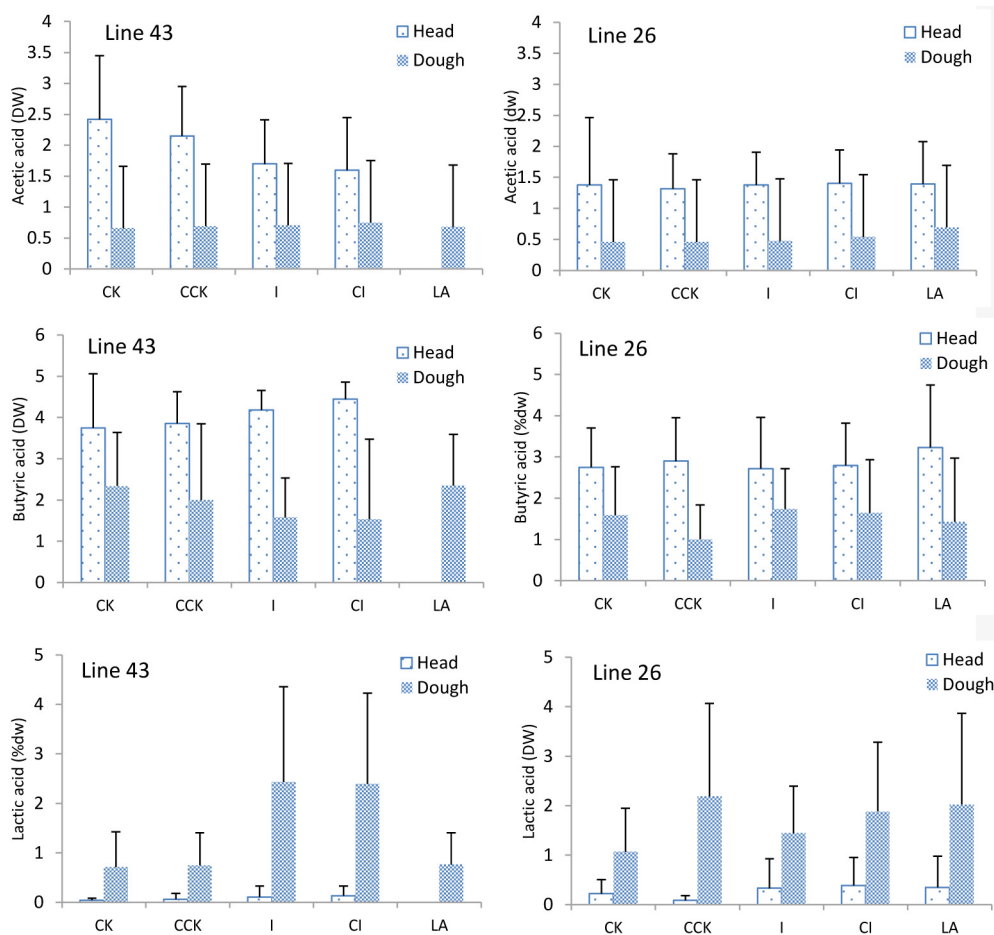


圖 2. 燕麥品系 43 及 26 在不同收穫成熟度與青貯處理下乙酸、丁酸及乳酸含量之平均表現。

Fig. 2. Average contents of acetic acid, butyric acid and lactic acid in oat lines 43 and 26 at different harvest maturity and silage treatments. CK: control, CCK: balanced PB, I: inoculant, CI: inoculant + balanced PB, LA: lactic acid.

IV. 討論

為因應氣候變遷，應用生物炭於農業土壤改良或增加碳滙的研究迅速增加，但由於生物炭容重低、多塵以及施用於山地牧場時易有損失風險，直接施用生物炭於土壤確具挑戰性。*Pereira et al. (2014)* 以體外培養試驗測試生物炭與青貯飼料或乾草混合後對瘤胃發酵的影響，結果顯示牲畜是合適的載體，使用牛作為輸送系統可能做為在紐西蘭牧區土壤安全施用生物炭的新方法。2012 年澳洲一個 53 公頃的農場則進行一項創新計畫，將生物炭與糖蜜混合後直接餵食乳牛，藉由糞金龜將糞便—生物炭混合物摻入土壤剖面，調查持續三年土壤性質的變化，結果顯示該策略在改善土壤性質和增加農民收益方面是有效的 (*Joseph et al., 2015*)。*Bai et al. (2021)* 將傳統上用於燃燒的犂牛糞轉化為生物炭，並以之作為芻料高粱之青貯添加劑 (4% dw)，結果顯示，生物炭添加處理之乳酸含量及乳酸 / 乙酸比均顯著較對照 (不添加) 為高，表示生物炭有做為青貯添加劑之潛力，且作者表示添加生物炭的成本較一般的乳酸菌劑或酵素添加劑為低。*Guo et al. (2021)* 進行實驗規模之低乾物率苜蓿 (30%) 的生物炭添加青貯，結果，添加 2% 處理在 15、30 天青貯之 pH 值、乳酸含量顯著較對照佳，添加 1、2% 處理之梭菌數在青貯 15 天均顯著低於對照，30 天則全部處理均極低，同時添加生物炭的微生物相與對照不同。*Eriksson, et al. (2022)* 試驗多批不同的生物炭添加青貯試驗，以 0, 2, 4, 6% dw 的生物炭比例添加於萎凋與不萎凋的梯牧草 (Timothy) 及紅三葉草 (red clover)，實驗室規模的結果顯示，梯牧草在不萎凋與萎凋的青貯表現不一，

生物炭添加無益於不萎凋梯牧草青貯，隨添加量增加乳酸量降低、丁酸量增加，但萎凋時，添加生物炭的梯牧草乾物率增加、乳酸含量上升、丁酸下降；三葉草則在所有處理下的青貯品質均佳，丁酸量均低；作者另以禾豆混合草進行大膠膜包的生物炭添加實測，結果同樣表現均佳，顯示生物炭添加量由 2 – 6% dw 不致對牧草青貯有不良影響。本研究的初步試驗同樣顯示盤固草炭添加對燕麥青貯無不良影響，應具有應用於青貯添加之潛力。應用生物炭於青貯添加可視為連結畜牧與農業應用的手段，可能同時有利於動物健康與土壤固碳，唯需要更多進一步的研究。

青貯是利用乳酸發酵快速降低材料之 pH 值來抑制其他微生物活動而達營養保存目的之調製手段。由青貯的微生物學研究，一般植物材料表面菌相中最大的菌群為好氧菌 (Total aerobic bacteria)，次為腸桿菌 (Enterobacteria) 及乳酸菌 (Lactic acid bacteria)，其次為酵母菌 (yeast)、黴菌 (Molds)，再次為梭菌 (Clostridia)、桿菌 (Bacilli)、醋酸菌 (Acetic acid bacteria) 及丙酸菌 (Propionic acid bacteria) 等，其中僅乳酸菌為有益青貯的菌種，其他均為干擾或不利菌種 (Elferink *et al.*, 1999; Pahlow and Muck, 2003; Avila and Carvalho, 2019)，但在材料密封之後，環境中的氧氣含量迅速降低，好氧菌的族群數也隨之快速減少，影響力降低，當環境漸漸趨於厭氧狀態，此時乳酸菌數量增加，乳酸菌數量會繼續增生至材料之水溶性碳水化合物耗盡或 pH 值低至抑制其活動的程度，此時，若 pH 值已至 4 以下，通常大部分的微生物活動均受抑制，則達到厭氧穩定期，但如果材料水溶性碳水化合物含量不足，pH 值無法降至夠低，則可能發生梭菌的二次發酵致青貯品質劣變，由於梭菌能利用醣類、有機酸及蛋白質，會造成較高乾物質損失，而乳酸分解為丁酸及蛋白質分解產生游離胺基酸均類似於增加酸鹼緩衝能力，更使 pH 值無法降低至抑制微生物活動的程度。本研究之低乾物率燕麥即可能因水溶性碳水化合物含量不足，致大量丁酸發生，青貯失敗。由於梭菌活動需要的水活性高於乳酸菌，因此，利用延後收穫或萎凋來提高材料的乾物率可以做為增進青貯發酵品質的手段 (Elferink *et al.*, 1999; Pahlow and Muck, 2003)。朱等 (2018) 與本試驗結果同樣顯示延後收穫或萎凋具增進燕麥青貯品質之效。

Avila and Carvalho (2019) 的回顧研究表示，青貯調製期間，由材料的生育狀況、收穫、細切、運輸、調製操作至開封利用等各環節，均有複雜的微生物間的交互作用與影響，進而造成不同的結果。Romero *et al.* (2017) 的試驗顯示不論接種與否，乾物率 44% 的燕麥在青貯 217 天後開封均表現優良，但桶式與袋式青貯及接種處理的菌相間有明顯差異。Wang *et al.* (2020) 以 γ 射線滅菌之燕麥接種玉米、高粱及燕麥之表面菌相進行 60 天青貯，發現其青貯表現與菌相有顯著不同，接種玉米者以乳酸菌為優勢菌群，青貯品質最佳，接種高粱者則除乳酸菌外，腸桿菌亦為優勢菌，然二者的青貯表現均優於接種燕麥菌相的處理，表示自然的燕麥材料表面菌相可能較差。由於青貯過程複雜，為降低調製風險，遂有各種青貯添加劑的發展，包括有機酸、乳酸菌、酵素等，雖然乳酸菌接種劑的效果通常有效，但 Gomes *et al.* (2019) 的結果則顯示燕麥接種 *L. buchneri* 的青貯反應不佳，並不建議。王等 (2020) 研究顯示不同菌劑接種對燕麥及燕麥 / 苜蓿的長期青貯有明顯差異，同質乳酸菌的效果較異質乳酸 *L. buchneri* 的表現佳。Elferink *et al.* (1999) 表示乳酸可做為抑制梭菌之青貯添加劑，本試驗品系 26 在高乾物率下，LA 處理的高乳酸含量可能為抑制梭菌活動的效果，唯需更多的試驗確認。

本研究結果顯示，平衡草炭在適合的條件下不會對燕麥的青貯發酵產生不良影響，未來應可以進一步對添加量、添加型式 (如結合不同有機酸、糖蜜、乳酸菌等)、動物採食及後續糞肥應用等方面進行研究與應用開發。

參考文獻

- 王思涵、施意敏、張俊達、蕭振文。2018a。荷蘭泌乳牛餵飼國產天鵝燕麥乾草對其乾物質採食量、體重、產乳量及乳品質之影響。畜產研究 51：265-271。
- 王思涵、施意敏、陳怡璇、張俊達、李國華、賈玉祥。2018b。飼糧中添加燕麥青貯料對荷蘭牛泌乳性能之影響。畜產研究 51：109-115。
- 王紓愨、劉信宏、游翠鳳、陳嘉昇。2018c。盤固草生物炭的特性研究與對牧草生長的影響。畜產研究 51：209-216。
- 王紓愨、劉信宏、游翠鳳、盧啟信、陳嘉昇。2018d。牧草生物炭研究 II：盤固草生物炭的分解與碳固定效應研究。中國畜牧學會會誌 47：123-134。
- 王紓愨、游翠鳳、陳嘉昇。2020。乾物率及不同接種處理對燕麥與燕麥 / 苜蓿混植長期青貯品質的影響。畜產研究 53：99-106。
- 王紓愨、劉信宏、游翠鳳、鍾承訓、李秀蘭。2021。盤固草生物炭或雞糞墊料生物炭對畜禽糞堆肥異味去除研究。

- 畜產研究 54 : 106-115。
- 朱明宏、王紓愨、游翠凰、陳嘉昇。2018。黑燕麥在不同收穫期之芻料產量、品質及青貯調製研究。畜產研究 51 : 16-23。
- 梁世祥、葉益男、王思涵、蕭振文、徐濟泰、吳榮杰。2018。臺灣冬季裡作栽培芻料用燕麥活化休耕地之經濟效益評估。畜產研究 51 : 217-223。
- 陳嘉昇、黃永芬、游翠凰、王紓愨。2021。芻料燕麥營養成分變動之探討。畜產研究 54 : 116-125。
- 劉明宗、曾美倉。1984。燕麥臺大選 1 號週年栽培試驗。畜產研究 17 : 11-23。
- 劉雅醇、康獻仁、王紓愨、梁筱梅。2019。不同比例稻殼及草炭墊料對白肉雞生長性狀、接觸性皮膚炎及欄舍氨氣濃度之影響。畜產研究 52 : 241-248。
- 蕭素碧。台灣燕麥草生產及展望。2013。光泉廠農通訊 86。 <https://www.kuangchuan.com/Content/Images/FacInfo/Diary/pdf/086-1.pdf>。
- Agyarko-Mintah, E., A. Cowie, L. Van Zwieten, B. P. Singh, R. Smillie, S. Harden, and F. Fornasier. 2017. Biochar lowers ammonia emission and improves nitrogen retention in poultry litter composting. *Waste Manage.* 61: 129-137.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 14 ed. Washington DC. pp.125-142.
- Ayenesht, B. and T. Temesgen. 2025. Role of biochar as a feed additive on animal performance, digestibility, micro-biota dynamics, and reduction of enteric methane production. *Adv. Agr.* Volume 2025, Article ID 9911760, 21 pages <https://doi.org/10.1155/aia/9911760>.
- Avila, C. L. S. and B. F. Carvalho. 2019. Silage fermentation—updates focusing on the performance of micro-organisms. *J. Appl. Micro.* 128: 966-984.
- Bai, Y., M. K. Rafiq, S. Li, A. A. Degen, O. Masek, H. Sun, H. Han, T. Wang, S. Joseph, R. T. Bachmann, R. K. Sani, R. Long, and Z. Shang. 2021. Biochar from pyrolyzed Tibetan Yak dung as a novel additive in ensiling sweet sorghum: An alternate to the hazardous use of Yak dung as a fuel in the home. *J. Hazard. Mater.* 403: 123647.
- Chen, Y. X., X. D. Huang, Z. Y. Han, X. Huang, B. Hu, D. Z. Shi, and W. X. Wu. 2010. Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar on nitrogen conservation and heavy metals immobility during pig manure composting. *Chemosphere* 78: 1177-1181.
- Elferink, S. J. W. H. O., F. Driehuis, J. C. Gottschal, and S. F. Spoelstra. 1999. Silage fermentation processes and their manipulation. In *Silage making in the tropics with particular emphasis on smallholders : proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage, 1 September-15 December 1999*. Rome : FAO, 2000, p. 17-30. (FAO Plant Production and Protection Paper, 161).
- Enders, A. and J. Lehmann. 2012. Comparison of wet-digestion and dry-ashing methods for total elemental analysis of biochar. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 43: 1042-1052.
- Eriksson, T., B. O. Rustas, and H. Gonda. 2022. Biochar addition at ensiling – effects on silage characteristics. *Proceedings of the 11th Nordic Feed Science Conference*, pp 38-40. Uppsala, Sweden.
- Gomes, A. L. M., F. A. Jacovacia, D. C. Bolsona, L. G. Nussiob, C. C. Jobima, and J. L. P. Daniel. 2019. Effects of light wilting and heterolactic inoculant on the formation of volatile organic compounds, fermentative losses and aerobic stability of oat silage. *Anim. Feed Sci. Techn.* 247: 194-198.
- Guo, X.; M. Zheng, S. Wu, X. Zou, X. Chen, Q. Zhang, and M. Wang. 2021. A Preliminary investigation on bacterial diversity and fermentation quality of high-moisture alfalfa silage prepared with biochar. *Agron.* 11: 1971.
- Jones, D. W. and J. J. Kay. 1976. Determination of volatile fatty acid C1-C6 and lactic acid in silage juice. *J. Sci. Food Agric.* 27: 1005-1014.
- Joseph S., D. Pow, K. Dawson, D. R. G. Mitchell, A. Rawal, J. Hook, S. Taherymoosavi, L. Van Zwieten, J. Rust, S. Donne, P. Munroe, B. Pace, E. Graber, T. Thomas, S. Nielsen, J. Ye, Y. Lin, P. Genxing, L. Li, and Z. M. Solaiman. 2015. Feeding biochar to cows: an innovative solution for improving soil fertility and farm productivity. *Pedosphere* 25: 666-679.
- Lao, E. J., and E. R. Mbega. 2020. Biochar as a feed additive for improving the performance of farm animals. *Malaysian J. Sus. Agri.* 4: 86-93.
- Lehannes, J. and S. Joseph. 2009. *Biochar for environmental management: science and technology*. MPG Books, UK.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with dry-wood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- Oliveira, F. R., A. K. Patel, D. P. Jaisi, S. Adhikari, H. Lu, and S. K. Khanal. 2017. Environmental application of biochar:

- Current status and perspectives. *Bioresour. Technol.* 246: 110-122.
- Pahlow, G. and R. E. Muck. 2003. Microbiology of ensiling. In *Silage science and technology*. pp. 31-94. Madison, Wisconsin, USA.
- Pereira, R. C., S. Muetzel, M. C. Arbestain, P. Bishop, K. Hina, and M. Hedley. 2014. Assessment of the influence of biochar on rumen and silage fermentation: A laboratory-scale experiment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 196: 22-31.
- Purakayastha, T. J., S. Kumari and H. Pathak. 2015. Characterisation, stability, and microbial effects of four biochars produced from crop residues. *Geoderma* 239-240.
- Qomariyah N., A. Ella, S. N. Ahmad, Y. Yusriani, M. M. Sholikin, T. R. Prihambodo, Y. Retnani, A. Jayanegara, E. Wina, and I. G. Permana. 2023. Dietary biochar as a feed additive for increasing livestock performance: A meta-analysis of *in vitro* and *in vivo* experiment. *Czech J. Anim. Sci.* 68: 72-86.
- Romero, J. J., Y. Zhao, M. A. Balseca-Paredes, F. Tiezzi, E. Gutierrez-Rodriguez, and M. S. Castillo. 2017. Laboratory silo type and inoculation effects on nutritional composition, fermentation, and bacterial and fungal communities of oat silage. *J. Dairy Sci.* 100: 1812-1828.
- SAS. 2002. SAS ver. 9.0. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- Schmidt, H-P. 2012. 55 Uses of Biochar, *Ithaka-Journal* 2012 Arbaz, Switzerland, pp. 450-454, www.ithaka-journal.net/en/ct/143.
- Schmidt, H-P., N. Hagemann, K. Draper, and C. Kammann. 2019. The use of biochar in animal feeding. *PeerJ* 7: e7373.
- van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Wang, S., J. Zhao, Z. Dong, J. Li, N. A. Kaka, and T. Shao. 2020. Sequencing and microbiota transplantation to determine the role of microbiota on the fermentation type of oat silage. *Bioresour. Technol.* 309: 12371.
- Willson, N.-L., T. T. H. Van, S. P. Bhattarai, J. M. Courtice, J. R. McIntyre, T. P. Prasai, R. J. Moore, K. Walsh, and D. Stanley. 2019. Feed supplementation with biochar may reduce poultry pathogens, including *Campylobacter hepaticus*, the causative agent of spotty liver disease. *PLoS ONE* 14: e0214471.
- Windeatt, J. H., A. B. Ross, P. T. Williams, P. M. Forster, M. A. Nahil, and S. Singh. 2014. Characteristics of biochars from crop residues: Potential for carbon sequestration and soil amendment. *J. Environ. Manag.* 146: 189-197.

A Study on the effects and application potential of pangolagrass biochar addition on the silage quality of forage oats ⁽¹⁾

Shu-Min Wang ⁽²⁾⁽⁴⁾ Jian-Fu Liu ⁽³⁾ and Chia-Sheng Chen ⁽²⁾

Received: Jun. 17, 2025; Accepted: Aug. 1, 2025

Abstract

This study investigated the use of forage oat as the ensiling material to evaluate the effects of adding pangolagrass-derived biochar (hereinafter referred to as PB) on silage quality. The objective was to assess the feasibility of PB as a silage additive and to explore its potential multifunctional benefits in both animal feed and environmental applications. Two forage oat lines, Line 43 and Line 26, developed by the Southern Region Branch of the Livestock Research Institute (hereinafter referred to as SBLRI), were used as experimental materials. A total of six ensiling trials were conducted for each line, using laboratory-scale vacuum bag silage. Five ensiling treatments were tested: CK (Control, no additive); CCK (Addition of balanced PB at 5 g/kg fresh weight; balanced PB: lactic acid-supplemented PB at 0.02 g/g); I (Inoculation with a commercial silage inoculant, transferred strain from SBLRI; *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, at 2×10^8 cfu/kg); CI (Combined treatment of balanced PB and inoculant (same proportions as above)); LA (Addition of lactic acid, 0.1 g/kg fresh weight). The silages were stored for 4.5 months. The results showed that, compared to the effects of oat line and dry matter (DM) content, the addition of PB was not a major factor affecting silage fermentation quality. Significant differences were observed between the two lines. Under low DM content, all treatments exhibited poor fermentation quality. For Line 43 at 38.4% DM, silage quality of Flieg's score for treatments I and CI reached "good" level, while the other three treatments were rated as "poor." At 44.2% DM, treatments I and CI again received "good" rating, whereas the remaining treatments were considered "acceptable". For Line 26, at both 41.5% and 50.0% DM, all treatments were rated "acceptable" or better. In particular, treatment LA as well as some CI and CCK treatments achieved "good" ratings. Overall, the addition of PB at 0.5% of fresh weight did not have adverse effect on silage fermentation, suggesting its potential feasibility as a silage additive. These results may provide a useful reference for the development of biochar applications in animal husbandry. Furthermore, a DM content of approximately 40% may represent a critical threshold affecting the fermentation quality of oat silage.

Key words: Pangolagrass biochar, Forage oat, Ensiling, Fermentation quality.

(1) Contribution No. 2836 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) National Taiwan University.

(4) Corresponding author, E-mail: smwang@tlri.gov.tw.

蘭嶼豬繁殖階段飼料之研發⁽¹⁾

陳益隆⁽²⁾⁽³⁾ 吳昇陽⁽²⁾ 楊舜堯⁽²⁾ 李士昕⁽²⁾ 章嘉潔⁽²⁾

收件日期：114 年 4 月 16 日；接受日期：114 年 8 月 22 日

摘 要

本試驗旨在研發蘭嶼母豬繁殖階段飼料 (試驗料；innovation diet) 用以取代商用飼料 Labdiet 5082，並進行相關生長、血液生理生化值及繁殖性狀收集分析，試驗使用 16 頭平均日齡 405 天之女豬，每組各 8 頭分為 2 組，一組餵飼試驗料，另一組餵飼 Labdiet 5082，兩種飼料之代謝能、粗蛋白質及粗脂肪相同，但其他成分有所不同，試驗為從豬隻配種時到離乳的整個繁殖過程。試驗結果顯示，整個試驗階段兩組別豬隻在生長性狀皆無顯著差異。血液生理值部分，哺乳期發現 Labdiet 5082 組平均血球容積顯著高於試驗料組，試驗料組的平均血球血紅素濃度及血小板則是顯著大於 Labdiet 5082 組，這可能因飼料中鐵離子的差異所致 (試驗料為 268 ppm；Labdiet 5082 為 380 ppm)，但仍屬正常範圍。而血液生化值方面，懷孕前發現試驗料組的無機磷顯著大於 Labdiet 5082 組，在懷孕期則發現試驗料組的尿素氮顯著高於 Labdiet 5082 組，銅元素為 Labdiet 5082 組顯著高於試驗料組，這可能因飼料中胺基酸組成及銅存在的型式造成。在繁殖性狀上兩組皆無顯著差異。綜上所述，本研究之小型豬飼糧配方可用於替代商業實驗用小型豬種豬料 Labdiet 5082，且飼料成本每公斤低約 54.3 元 (4.4 倍)，豬隻在體重變化、採食量及背脂厚度上皆無顯著差異，且不影響血液生理生化值，繁殖性狀上亦無顯著差異，顯示試驗料可滿足蘭嶼豬繁殖階段之營養所需。

關鍵詞：蘭嶼豬、生理值、繁殖性能。

緒 言

母豬狀態及生產性能的維持，對豬場的營運管理至關重要。母豬的繁殖特性 (例如產仔數、仔豬出生體重)、維持身體狀況的能力以及照顧仔豬的母性等，皆會影響仔豬的存活率、離乳頭數和仔豬的品質。影響母豬繁殖性能的因素除了遺傳 (Vargovic *et al.*, 2022)，還包括管理、營養、季節或健康狀況等環境因素 (Lawlor and Lynch 2007)。在豬隻的飼養管理過程中，適當的餵飼一直都佔著舉足輕重的角色，Furcht (1998) 及 Radostits *et al.* (2000) 皆指出，不適當的餵飼將引起母豬的代謝紊亂，並可能導致繁殖母豬發育不良並損害繁殖性能。

繁殖階段所需的營養成分及餵飼方法與生長階段有著一定程度的差異，其中蘭嶼豬作為臺灣特有豬種，主要作為生醫產業使用之實驗用小型豬。先前之研究主要著重於蘭嶼豬的生長階段，因其作為實驗用豬主要推廣給各研究單位以 12 週齡和 20 週齡以上居多 (吳等，2017)。因此，相關飼糧研究及開發皆以該時期為主，主要目的為取代生長期商業用豬飼料，降低飼料中營養濃度並增加纖維含量，為降低豬隻生長速度及延長可出售適期。此外，有助於控制豬隻脂肪累積，避免豬隻過肥影響實驗操作，且維持豬隻健康及正常生理狀態 (李等，2003；陳等，2017；劉及林，2019；李及劉，2020)。然而，蘭嶼豬繁殖階段的相關研究卻是較少著墨。

近年來，為因應新藥試驗需求，許多 CRO (Contract Research Organization，受託研究機構) 公司與藥物試驗需要以小型豬作為試驗動物模式，加以某些新藥有國外上市之潛力，部分國家如美國食品藥物管理局 (FDA) 即要求須提供動物飼養之標準飼糧須提供送驗報告，生長性能亦需隨之提供。而目前，蘭嶼豬繁殖階段使用之飼料，依然使用國內商業用肉豬之種豬料，但蘭嶼豬在體型、成熟體重與日齡及生長速率等方面，與國內商用豬種均大不相同 (劉及徐，2000；朱，2005)，目前市面上通用之商業實驗種豬料為育種階段飼糧 (Laboratory Mini-Pig Breeder Diet) 5082，簡稱 Labdiet 5082 (LabDiet, 2023)，該飼糧特色為較低代謝能、高纖維及高粗蛋白，可滿足繁殖階段豬隻營養需求，但其價格約為商業用種豬飼糧的 4 倍。因此，開發可替代之試驗料，以符合國際標準，以及小型豬之藥物試

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2837 號。
(2) 農業部畜產試驗所東區分所。
(3) 通訊作者，E-mail: 18077606@mail.tlri.gov.tw。

驗需求是刻不容緩，並與各國實驗豬隻所通用之商業實驗豬飼料進行小型豬各項生理、繁殖及生長性能進行比較。

了解飼料對豬隻生理狀況造成的影響，除了體重、背脂厚度等性狀，血液生理生化值的收集亦相當重要。Thorn (2010) 指出，測量動物血液學參數可以提供有關動物健康的重要信息，是評估動物個體病理狀況和監測動物群體健康狀況的實用工具。血液學參數則是評估實驗動物健康狀態的重要指標，可作為實驗結果的重要參考依據 (Zdravko *et al.*, 2006)。對蘭嶼豬生長階段血液學參數已有相關論文討論 (吳及章, 2018a, 2018b, 2019)，上述研究中亦有將蘭嶼豬與中國實驗用小型豬 (馮等, 2013) 及哥廷根小型豬 (Ellegaard Gottingen minipigs, 2016) 進行比較，結果顯示大多數血液生理生化值接近，但在蘭嶼豬繁殖階段的血液學參數卻沒有相關資料的收集，因此確定母豬血液學參數的正常值對未來相關實驗數據的解釋相當重要。

因此，本研究以商業實驗用種豬飼糧 Labdiet 5082 及依照其營養含量，以國內常見飼料原料配製專屬之實驗豬種豬料進行飼養與配種，以優化飼養模式。希望藉此了解目前蘭嶼豬繁殖階段各方面性能，以供後續研究之參考並累積與更新我國生醫用小型豬之基礎生理與繁殖性能資訊。

材料與方法

I. 試驗動物與飼養管理

使用 16 頭平均日齡 405 天之女豬，隨機分為 2 組，每組 8 頭，一組餵飼國外商業實驗種豬料 Laboratory Mini-Pig Grower Diet 5082 (Labdiet 5082)，其飼料成分含粗蛋白質 17%、代謝能 2,570 kcal/kg、離胺酸 0.85%、粗纖維 11.4%，每公斤約 70.3 元。另一組餵飼參照 Labdiet 5082 營養含量，以國內常見飼料原料配製成試驗用種豬料，成分含粗蛋白質 17%、代謝能 2,570 kcal/kg、離胺酸 0.87%、粗纖維 8.06%、每公斤約 16 元，詳如表 1 所示。使用台灣維克法蘭斯股份有限公司販售之豬荷爾蒙口服液劑 (維保同) 進行發情同期化，每日添加於豬隻飼料中 5 毫升，餵飼 18 天，停藥後約 5 天豬隻將陸續發情，於這段時間進行自然配種，依本場標準作業程序種母豬飼養方法餵飼，配種約 1 個月後每週以超音波測定儀確認豬隻是否懷孕，確認懷孕後即移至分娩舍並以個別欄位飼，豬隻飼養環境為半開放畜舍內可自由活動之分娩床，個飼並每天分三次餵飼。配種及懷孕期，每日餵飼量為體重的 2%，哺乳期間，則給予任飼，所有豬隻皆供應充足之飲水。因為自然配種每頭母豬及其仔豬結束時間不同，但皆為仔豬 6 週離乳後結束試驗，所使用之動物經過農業部畜產試驗所東區分所 (臺東場區) 實驗動物照護及使用小組審查同意 (同意書號碼：畜試動字 113-05)。

II. 生長性狀測定

將餵飼方式及餵飼量進行記錄，每週體重 (Body Weight, BW) 秤量一次，並計算平均日增重 (Average Daily Gain, ADG)、平均採食量 (Average Daily Feed Intake, ADFI) 及飼料效率 (Feed Efficiency, FE)，於配種時 (試驗開始)、懷孕期 (懷孕 100 天) 及哺乳期 (哺乳第 4 週) 以超音波背脂測定儀 (Sono-Grader, RENCO Corporation, U.S.) 測定第四肋 (第一點)、最後肋 (第二點) 及最後腰椎 (第三點) 之三點背脂厚度 (backfat, BF)。

III. 血液生理生化值測定

於母豬配種時 (試驗開始)、懷孕期 (懷孕 100 天) 及哺乳期 (哺乳第 4 週)，進行血液生理生化值分析 (Czech *et al.*, 2020)。每頭母豬進行前腔靜脈採血，並將血液收集於含抗凝劑 EDTA - K₂ 之紫頭採血管、含抗凝劑 Na heparin 之深藍頭採血管及含促凝劑之黃頭採血管中，血液樣品進行血液細胞生理及生化分析測定。血樣品以全自動血液分析儀 (Sysmex XT-2000iV, Sysmex Corporation, Japan) 檢測血液值，包括白血球計數 (white blood count, WBC)、紅血球計數 (red blood count, RBC)、血小板 (platelet, PLT)、平均血球容積 (mean corpuscular volume, MCV)、血球容積比 (hematocrit, HCT)、平均血球血紅素量 (mean corpuscular haemoglobin, MCH)、平均血球血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) 及血紅素 (hemoglobin, HGB) 等 8 項。另以全自動生化儀 (Automatic Biochemical Analyzer, Hitachi 7020, Japan) 分析血液生化值，包括總蛋白 (total protein, TP)、葡萄糖 (glucose, GLU)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酸激酶 (creatinase, CK)、肌酸酐 (creatinine, CREAT)、總膽固醇 (cholesterol, CHOL)、三酸甘油酯 (triglyceride, TG)、鈣 (calcium, Ca)、無機磷 (phosphorus, P)、銅 (copper, Cu)、鋅 (zinc, Zn)、鐵 (iron, Fe)、動情素 (estrogen, E2) 及黃體素 (progesterone, P4) 等 14 項。

IV. 繁殖性能測定

母豬分娩後收集包括仔豬出生體重、總仔數、活仔數，哺乳 6 週後記錄仔豬體重與離乳頭數以計算育成率。

表 1. 試驗飼糧組成

Table 1. The composition of experimental diets

Diet	Innovation diet	Labdiet 5082
Primary Ingredients	Corn grain, soybean meal, wheat bran, limestone, choline-Cl, molasses, salt, alfalfa pellet, vitamin premix ^a , mineral premix ^b , Phytase.	Ground oats, wheat middlings, dehydrated alfalfa meal, dehulled soybean meal, dried beet pulp, calcium carbonate, cane molasses, salt, DL-methionine, dicalcium phosphate, monocalcium phosphate, cholecalciferol, folic acid, choline chloride, pyridoxine hydrochloride, vitamin A acetate.
Calculated value		
Metabolizable energy, kcal/kg	2,570.00	2,570.00
Gross energy, kcal/kg	3,849.00	3,890.00
Analyzed value		
Crude protein, %	17.01	17.00
Crude fiber, %	8.06	111.40
Crude fat, %	4.05	5.10
ADF ^c , %	10.61	13.90
NDF ^d , %	20.91	26.60
Lysine, %	0.87	0.85
Threonine, %	0.63	0.62
Methionine, %	0.18	0.35
Calcium, %	1.13	1.00
Phosphorus, %	0.60	0.75
Copper, ppm	18.00	19.00
Price, NTD/kg ^e	16.00	70.30

^a Vitamin supplied the following per kilogram of premix: Vitamin A, 6000 IU; Vitamin D₃, 400 IU; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 2 mg; Vitamin B₁, 2.6 mg; Vitamin B₂, 2 mg; Niacin, 30 mg; Panto-thenic acid, 30 mg; Pyridoxine, 3 mg; Vitamin B₁₂, 0.6 mg; Biotin, 0.2 mg.

^b Mineral supplied the following per kilogram of premix: Fe (FeSO₄ • 7H₂O, 20.09% Fe), 80 mg; Cu (CuSO₄ • 5H₂O, 25.45% Cu), 5 mg; Mn (MnSO₄ • H₂O, 32.49% Mn), 6 mg; Zn (ZnSO₄, 80.35% Zn), 45 mg; I (KI), 0.2 mg; Se (NaSeO₃, 45.56% Se), 0.1 mg; Co (CoSO₄ • H₂O, 32% Co), 0.35 mg.

^c Acid detergent fiber, ^d Neutral detergent fiber, ^e New Taiwan dollar.

V. 統計分析

收集之試驗資料以 SAS 統計軟體 (SAS, 2014) 進行獨立樣本 t- 檢定分析。

結果與討論

I. 試驗料與 Labdiet 5082 對蘭嶼豬生長性能之影響

本試驗使用之豬飼料如表 1 所示，兩種豬料粗纖維含量之差異，主要是配製飼料時先以較重要的粗蛋白質、代謝能及離氨酸等作為指標，粗纖維含量使用預估值配置時也是預計想達到 11%，但飼料化驗後無法達到，然因為使用國內較常見原料配置原料選擇較少，要彌補該差異則會造成其他營養成分差異更大，故就先以該相似飼料作為試驗料使用，但有兩種飼料之原料組成及營養成分分析，可供檢視，並於試驗過程中詳細記錄試驗豬隻各種生長生理數值，以此直接探討兩種不同飼料對豬隻之影響，未來可再調整配方以更符合豬隻需求。飼養豬隻之畜舍為半開放畜舍，雖冬天有使用帆布保溫，夏天使用風扇降溫，但環境溫溼度依然會隨季節變化起伏較大，溫度範圍為攝氏 20 至 33 度，濕度範圍為 62 至 78%。

試驗料與 Labdiet 5082 對蘭嶼豬繁殖階段生長性能的結果如表 2 所示。在豬隻懷孕 0 – 49 天、49 – 112 天、0 – 112 天，分娩後 ADG、ADF2、FE 皆無顯著差異。整個懷孕期間體重變化如圖 1 所示。結果顯示，試驗料與 Labdiet 5082 所造成的體重變化，兩組間無顯著差異。McPherson *et al.* (2004) 研究表明，隨著懷孕的進展，豬胎兒的體重急劇增加，90% 的胎兒生長發生在懷孕後期。另有研究顯示，小型豬胎兒在懷孕後期雖有較大的增重，但在母豬的體重增加在懷孕前期及後期並沒有明顯差異，其結果顯示，懷孕 0 到 45 天體重增加 21.11 公斤，45 到 110 天則增加 20.42 公斤 (Qian *et al.*, 2018)，本次試驗試驗料組與 Labdiet 5082 組懷孕 0 到 49 天的 ADG 分別為 0.24 及 0.32 公斤，49 到 112 天則為 0.38 及 0.33 公斤，皆無顯著差異，體重變化差異不大，與該試驗結果相似，故蘭嶼豬懷孕階段體重變化應屬合理範圍，且該研究亦表明，若在懷孕後期 (75 至 110 天) 母豬體重較低，仔豬出生重亦較低，且可能會影響胎兒的適應力、生長及發育。Kummer (2008) 的研究指出，懷孕期間合適的體重將緩和泌乳期的體重損失，並為達到最佳產乳量及產仔性能提供適合條件。另在背脂厚度的變化如表 3 所示，在豬隻初始、懷孕第 100 天及哺乳第 4 週、平均每日背脂增加量及背脂消耗量上，兩組別皆無顯著差異。懷孕期間平均每天背脂厚度增加量，試驗料組與 Labdiet 5082 組分別為 0.058 及 0.061 mm，這與先前的研究一致，即發現背脂厚度隨著懷孕的進行而增加 (Young and Aherne, 2005)。大多數母豬在懷孕期間會增加脂肪，並在哺乳期失去儲備脂肪以用於生產乳汁，因此，懷孕後期 (109 天) 背脂厚度具有重要的能量儲備作用，影響母豬初乳和產乳量 (Thongkhuy *et al.*, 2020)。但分娩前背脂厚度過厚可能會導致母豬難產 (Peltoniemi *et al.*, 2016; Oliviero *et al.*, 2010)，因此分娩前母豬亦不能過肥。

表 2. 不同飼糧來源對蘭嶼豬繁殖階段生長性能的影響

Table 2. Effects of the innovation diet and Labdiet 5082 on the growth performance of Lanyu pigs during reproductive stage

	Innovation diet	Labdiet 5082
No. of sows	8	8
Initial BW, kg	57.00 ± 14.31	55.25 ± 8.81
Pregnancy 0-49 th day		
Pregnancy 49 th day BW, kg	68.88 ± 15.20	70.75 ± 13.18
ADG, kg	0.24 ± 0.02	0.32 ± 0.14
ADFI, kg	1.21 ± 0.31	1.25 ± 0.20
Gain/Feed	0.20 ± 0.03	0.25 ± 0.10
Pregnancy 49-112 th day		
Pregnancy 112 th day BW, kg	89.88 ± 20.12	89.13 ± 15.09
ADG, kg	0.38 ± 0.09	0.33 ± 0.10
ADFI, kg	1.54 ± 0.34	1.53 ± 0.24
Gain/Feed	0.24 ± 0.03	0.21 ± 0.07
Pregnancy 0-112 th day		
ADG, kg	0.29 ± 0.05	0.30 ± 0.06
ADFI, kg	1.40 ± 0.32	1.41 ± 0.22
Gain/Feed	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02
Farrowing to weaning		
Sow farrowing BW, kg	76.00 ± 18.85	75.00 ± 7.70
Sow weaning BW, kg	68.38 ± 24.82	70.63 ± 5.12
ADG, kg	-0.22 ± 0.26	-0.13 ± 0.22
ADFI, kg	1.87 ± 1.11	1.86 ± 2.35
Gain/Feed	-0.11 ± 0.08	-0.08 ± 0.14

Data are presented as the mean ± SD.

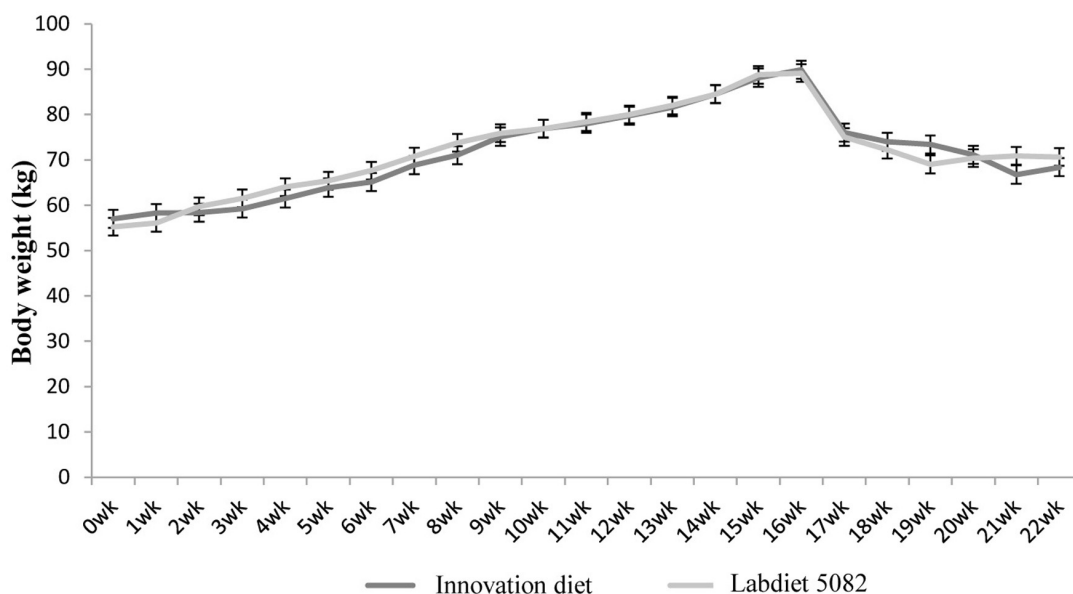


圖 1. 繁殖期間蘭嶼母豬體重變化情形。

Fig. 1. Changes in body weight of Lanyu pigs during the reproductive stage.

表 3. 不同飼糧來源對蘭嶼豬背脂厚度的影響

Table 3. Effects of the innovation diet and Labdiet 5082 on thickness of backfat in Lanyu pigs

	Innovation diet	Labdiet 5082
No. of sows	8	8
Initial BF, mm	21.9 ± 9.3	18.8 ± 9.1
pregnancy 100 th day BF, mm	25.5 ± 8.9	24.2 ± 4.9
Average dialy BF gain, mm	0.06 ± 0.05	0.06 ± 0.04
birth 4 th wk BF, mm	21.2 ± 11.5	19.9 ± 5.3
Farrowing to 4 th wk BF loss, mm	4.3 ± 5.0	3.5 ± 1.4

Data are presented as the mean ± SD.

Costermans *et al.* (2020) 研究表明，哺乳期間腰部肌肉損失與乳汁中乳蛋白產量呈正相關；而背脂厚度損失與乳汁中乳脂產量呈正相關，整體來說哺乳期間擁有更多可用資源的母豬（無論是分娩時身體組織較多還是哺乳期間攝入飼料較多），會將更多能量用於產奶，以獲得更高的仔豬增重。本次試驗在哺乳期間不論體重減少或背脂厚度的消耗，雖無顯著差異但皆為試驗料組高於 Labdiet 5082 組，顯示試驗料組豬隻可調動更多身體能量用於哺育小豬。

母豬懷孕後期（107 天）背脂厚度的重要性與其營養狀況、繁殖表現和整體健康狀況的相關性，確定最佳背脂厚度對於成功繁殖和哺乳所需的理想能量儲備至關重要 (Mun *et al.*, 2023)。De Rensis *et al.* (2005) 研究指出，哺乳期間背脂損失量與母豬離乳後發情間距呈正相關，但哺乳期間背脂的過度下降亦會造成母豬生育力降低，因此懷孕期間背脂之變化，對母豬的繁殖性能至關重要，體況過瘦或過胖均會對繁殖效能產生不利影響，建議維持適中的體態以確保最佳的繁殖表現 (Authement and Knauer 2023)。

II. 蘭嶼豬血液生理生化值

試驗料與 Labdiet 5082 對蘭嶼母豬血液生理值的影響如表 4 所示，在配種時、懷孕中兩組別間皆無顯著差異，但在哺乳期間，Labdiet 5082 組的 MCV 值顯著高於試驗料組 ($P < 0.05$)，MCV 的變化原因可能因為維生素 B12 或葉酸缺乏導致過高，或是因為缺鐵導致過低，過高通常為超過 100 以上 (Maner *et al.*, 2024)。故本次結果有較低情形可能與飼料中鐵的含量有關，飼料營養成分分析發現試驗料中鐵含量確實比 Labdiet 5082 少（試驗料為 268 ppm；Labdiet 5082 為 380 ppm），故可能因此導致產生差異；MCHC 及 PLT 則是試驗料組顯著大於 Labdiet 5082 ($P < 0.05$)，MCHC 作為指標通常來說應與 MCV 相似，可能因為缺鐵導致數值下降，但亦有可能因為水分流失導致 MCV 的減少，但是 MCHC 的濃度上升 (Berda-Haddad *et al.*, 2017)，King (2000) 研究指出，產

乳量與產仔數呈現較強的正相關，可能由於試驗料組的出生活仔數雖無發現顯著差異，但有比 Labdiet 5082 組多的趨勢 ($P = 0.31$)，因而導致母豬產乳量增加，水分流失較多造成此現象。PLT 增多可能因為發炎反應或是鐵的缺乏導致 (Brissot *et al.*, 2021)，這與上述 MCV 差異的造成原因相似，可能同因飼料中鐵含量的差異而產生，先前雖無蘭嶼豬繁殖階段血液生理值相關報告，但其數值與 Zdravko *et al.* (2006) 之結果相似，且與吳及章 (2018a) 所測得之範圍接近，並無過高或過低的情形發生，故應無太嚴重之影響，屬合理之範圍內之波動。

在血液生化值部分如表 5 所示，在懷孕前發現血清磷 (P) 為試驗料組顯著大於 Labdiet 5082 組 ($P < 0.05$)。通常來說 P 在血液中的濃度變化上，會與補充磷的攝取量呈線性關係 (Sands *et al.*, 2001)，也就是飼料中磷攝取越多，血液中檢測到的亦會越多。但在飼料成分的分析中雖然差異不大，卻是發現 Labdiet 5082 中的血清磷含量較高，其中原因有可能是因為試驗料中有添加植酸酶，有研究顯示飼料中添加植酸酶可增加磷可利用性，且可做為減少或取代在飼料中添加血清磷的一種手段 (Selle and Ravindran, 2008; Lei *et al.*, 2013; Rosenfelder-Kuon *et al.*, 2020; Velayudhan *et al.*, 2021)，因改善了飼料中磷的消化率，使得飼料中的磷可以更充分的被利用及吸收，且有研究表明補充植酸酶會增加血液中磷的濃度 (Walk *et al.*, 2013)，因而使其檢測出較高的血清磷濃度。當然因為使用頭數並沒有到非常多，可能豬隻個體差異、飼料原料不同的交互作用以及檢測的操作失誤等等，都可能影響血液中磷的數值，未來可擴大樣本數加強數據可信度。在懷孕期間，試驗料組 BUN 顯著高於 Labdiet 5082 組 ($P < 0.05$)，而在銅元素 (Cu) 顯著低於 Labdiet 5082 組 ($P < 0.05$)。血液中 BUN 的濃度可作為飼料蛋白質狀態以及氮利用率的指標 (Whang *et al.*, 2003)，而 BUN 含量通常會隨著飼料中蛋白質含量的增加而增加 (Semeniuk and Grela, 2011)，而其中胺基酸組成將會影響到豬隻對飼料中蛋白質的利用率，若能越符合動物的需求則可提高生產性能並增加蛋白質保留率 (Marín-García *et al.*, 2020)，並減少氮排泄，降低蛋白質過多的消耗及代謝，使血液中 BUN 降低 (Marín-García *et al.*, 2022)。而在考慮豬隻飼料中必需胺基酸組成時，需確保離胺酸 (Lysine, Lys)、甲硫胺酸 (Methionine, Met) 及羥丁胺酸 (Threonine, Thr) 等需充足。在飼料成分分析中發現，兩種飼料有相似的 Lys 及 Thr，但在 Met 上，試驗料約只有 Labdiet 5082 的一半，會有此狀況可能是因為試驗料所使用的原料所致，為了提高飼料中所含粗纖維，較多的使用了玉米、麩皮及苜蓿，該三種原料的 Met 都較低，而 Met 較高的豆粉則使用較少 (Fanatico, 2010)，且沒有進行額外補充，故可能因此導致試驗料蛋白質利用效率較差，造成較多氮的排放，使試驗料組懷孕期 BUN 顯著高於 Labdiet 5082 組。在 Cu 的部分，飼料成分的檢測中，兩種飼料在 Cu 的含量上並無明顯差異，但因穀物中所含植酸對銅有較高親和力 (Persson *et al.*, 1998)，結合後將影響其吸收，Newton *et al.* (1983) 指出，飼糧中含 20% 的麩皮將導致減低銅、鋅和鐵之吸收量，可能因為試驗料中含有約 17% 之麩皮，且麩皮中含有較多植酸 (García-Estépea *et al.*, 1999)，因而影響了飼料中銅的吸收，故產生此差異，但因為沒有進行豬隻消化率的分析試驗，故飼料中銅的真正吸收程度並不得而知，未來可在進行相關試驗以了解豬隻真正消化吸收情形；哺乳期及其他項目則皆無顯著差異。此結果與 Zdravko *et al.* (2006) 相似，且整體數值並無異常高或低的情形，尚在小豬血液生化值合理的範圍之內 (Yeom *et al.*, 2012)，應為其正常生理變化所導致之血液生化值改變，顯示出以此試驗料飼養蘭嶼豬，將不會嚴重影響蘭嶼豬之血液生化值表現。

III. 試驗料與 Labdiet 5082 對蘭嶼豬繁殖性狀之影響

母豬繁殖性能資料如表 6 所示，不同飼料對蘭嶼豬之繁殖性狀，包括總仔數、出生活仔數、離乳數、育成率、出生體重及離乳體重上皆無顯著差異。其中出生活仔數，兩組別雖無顯著差異，但 Labdiet 5082 組之出生活仔數僅為試驗料組的 83%。出生後發生仔豬死亡的情形，主要原因可能是因為有些蘭嶼豬在剛分娩時會發生咬仔豬的情形，且在初產母豬更容易發生，通常在第二次分娩後會改善，若再發生就會將該母豬淘汰。本次試驗皆為初產母豬，Labdiet 5082 組剛好有發生上述情形，因此導致出生活仔數的差異。另外在 Labdiet 5082 組其哺乳期窩仔數及離乳頭數有較少趨勢，離乳體重似乎也較低，推測可能是因為試驗料組的母豬在體重及背脂厚度的消耗量上，皆比 Labdiet 5082 組多的趨勢，因此其可以調動更多身體能量來產生乳汁，使最後仔豬離乳體重較高 (Costermans *et al.*, 2020)，另外 King (2000) 研究指出，產乳量與產仔數呈現較強的正相關，因此較多的窩仔數也導致試驗料組母豬有更高乳產量，因此造成了雖然試驗料組的窩仔數及離乳頭數都較多，但是離乳體重亦有較高的現象。

表 4. 不同飼糧來源對蘭嶼豬繁殖階段血液生理指標的影響

Table 4. Effects of the innovation diet and Labdiet 5082 on the hematological parameters of Lanyu pigs during reproductive stage

Items	----- At mating -----		----- Pregnancy 100 th day -----		----- Birth 4 th wk -----	
	Innovation diet	Labdiet 5082	Innovation diet	Labdiet 5082	Innovation diet	Labdiet 5082
No. of sows	8	8	8	8	8	8
WBC ^c (10 ⁹ /L)	13.6 ± 6.4	12.7 ± 4.1	12.3 ± 5.3	11.8 ± 2.7	14.8 ± 4.9	14.3 ± 6.5
RBC ^d (10 ¹⁰ /L)	723.8 ± 122.4	748.5 ± 166.8	639.6 ± 62.2	639.5 ± 94.3	615.0 ± 136.3	629.9 ± 143.8
HGB ^e (g/L)	141.6 ± 25.6	145.4 ± 30.5	129.4 ± 13.3	130.0 ± 16.6	123.4 ± 34.8	128.1 ± 30.0
HCT ^f (%)	49.9 ± 9.1	50.8 ± 9.1	45.4 ± 6.0	44.7 ± 6.2	40.7 ± 11.6	45.4 ± 9.0
MCV ^g (fl)	69.1 ± 11.4	68.0 ± 5.9	71.0 ± 8.0	70.0 ± 3.4	66.0 ± 9.0 ^b	72.3 ± 5.8 ^a
MCH ^h (pg)	19.6 ± 1.6	19.4 ± 0.6	20.2 ± 1.3	20.4 ± 0.8	20.0 ± 2.0	20.4 ± 1.3
MCHC ⁱ (g/L)	284.1 ± 30.6	286.1 ± 20.4	285.4 ± 21.4	290.8 ± 12.5	303.6 ± 25.8 ^a	281.9 ± 20.4 ^b
PLT ^j (10 ⁹ /L)	254.4 ± 211.3	280.6 ± 221.2	145 ± 90.0	169.5 ± 143.1	272.8 ± 119.1 ^a	192.3 ± 116.9 ^b

^{a, b} Means with the different superscripts differ significantly from Test diet and Labdiet 5082 ($P < 0.05$).

Data are presented as the mean ± SD.

^c White blood count.

^d Red blood count.

^e Hemoglobin.

^f Hematocrit.

^g Mean corpuscular volume.

^h Mean corpuscular haemoglobin.

ⁱ Mean corpuscular hemoglobin concentration.

^j Platelet.

表 5. 不同繁殖階段飼料試驗蘭嶼豬血液生理指標的比較
 Table 5. Effects of the innovation diet and Labdiet 5082 on the blood biochemical of Lanyu pigs during reproductive stage

Items	----- At mating -----		----- Pregnancy 100 th day -----		----- Birth 4 th wk -----	
	Innovation diet	Labdiet 5082	Innovation diet	Labdiet 5082	Innovation diet	Labdiet 5082
No. of sows	8	8	8	8	8	8
TP ^e (mg/L)	77.6 ± 10.2	79.1 ± 15.0	74.4 ± 7.1	76.9 ± 5.4	71.9 ± 10.7	76.8 ± 11.8
CHOL ^d (mg/L)	890.0 ± 203.4	850.0 ± 234.5	815.0 ± 297.0	770.0 ± 193.6	746.3 ± 217.8	805.0 ± 337.2
TG ^e (mg/L)	517.5 ± 234.4	350.0 ± 306.3	678.8 ± 248.3	541.3 ± 521.5	422.5 ± 213.2	437.5 ± 282.0
CK ^f (U/L)	830.1 ± 541.5	1,460.6 ± 886.7	1,900.8 ± 1870.5	744.0 ± 434.7	1,636.8 ± 1305.6	1,523.4 ± 1030.0
BUN ^g (mg/L)	89.9 ± 31.8	98.5 ± 30.9	127.0 ± 30.5 ^a	109.1 ± 32.9 ^b	111.0 ± 40.7	116.4 ± 39.2
GLU ^h (mg/L)	801.3 ± 285.1	870.0 ± 339.1	776.3 ± 288.6	876.3 ± 123.3	830.0 ± 217.8	761.3 ± 233.6
CREAT ⁱ (mg/L)	9.4 ± 4.0	9.4 ± 3.9	9.5 ± 4.5	8.8 ± 2.1	9.6 ± 5.6	7.8 ± 4.8
Ca (mg/L)	108.8 ± 11.4	107.3 ± 6.4	97.5 ± 4.0	99.8 ± 5.0	109.5 ± 15.8	102.6 ± 17.9
P (mg/L)	75.0 ± 4.4 ^a	71.0 ± 7.1 ^b	73.4 ± 21.4	66.0 ± 13.3	53.6 ± 36.5	61.0 ± 15.9
Fe (ug/L)	1,662.6 ± 525.7	1,734.5 ± 305.4	1,733.8 ± 506.2	1,552.5 ± 503.0	1,728.3 ± 898.8	1,836.0 ± 963.7
Cu (ppb)	2,639.0 ± 328.6	2,568.4 ± 505.9	2,280.1 ± 527.8 ^b	2,603.6 ± 317.8 ^a	2,218.2 ± 719.4	2,345.5 ± 749.8
Zn (ug/L)	1,113.0 ± 427.2	1,219.6 ± 327.3	899.5 ± 414.0	1,030.1 ± 201.3	1,079.1 ± 608.2	1,260.9 ± 919.2
E2 ^j (pg/mL)	25.5 ± 55.2	15.5 ± 20.3	107.3 ± 150.1	77.5 ± 50.0	16.6 ± 28.4	7.5 ± 13.7
P4 ^k (ng/mL)	22.9 ± 51.9	6.3 ± 16.4	13.2 ± 11.0	18.9 ± 14.0	0.9 ± 1.5	0.8 ± 0.7

^{a, b} Means with the different superscripts differ significantly from Test diet and Labdiet 5082 (P < 0.05).

Data are presented as the mean ± SD.

^c Total protein, ^d Cholesterol, ^e Triglyceride, ^f Creatine kinase, ^g Blood urea nitrogen, ^h Glucose, ⁱ Creatinine, ^j Estrogen, ^k Progesterone.

表 6. 不同飼糧來源對蘭嶼豬繁殖性能的影響

Table 6. Effects of the innovation diet and Labdiet 5082 on reproductive performance of Lanyu pigs

Items	Innovation diet	Labdiet 5082
No. of sows	8	8
Number of total pigs born	8.00 ± 6.69	8.67 ± 3.01
Number of pigs born alive	7.00 ± 6.69	5.83 ± 4.97
Litter number at weaning	6.67 ± 5.89	5.57 ± 4.50
Percent weaned, %	88.67 ± 40.53	91.50 ± 30.09
Piglets weight, kg		
Birth	0.57 ± 0.35	0.61 ± 0.50
Weaning at 6 wk	6.01 ± 1.31	5.45 ± 1.94

Data are presented as the mean ± SD.

李等(1994)調查戶外放牧之蘭嶼豬母豬群發現，族群平均分娩活仔數為5.6頭，同時63%分娩活仔數介於5-7頭間，且產仔高峰為12月，顯示不受夏季炎熱之環境影響配種。張等(2013)進行臺東場區全年度蘭嶼母豬繁殖性狀調查發現，場區內平均活仔數為6.4頭、離乳育成率為79.1%。而臺東場區2020年調查發現，場內平均活仔數為6.2頭、離乳育成率為74.2%；2021年調查發現，平均活仔數為6.4頭、離乳育成率為89.6%，2023年調查發現，平均活仔數為6.4頭、離乳育成率為90.1%，可發現在飼養管理及飼養環境的持續改善下，蘭嶼豬繁殖能力無明顯下降，且育成率有所提升，且在使用試驗料飼養的狀況下，亦可維持良好繁殖性狀。

本次試驗所使用之飼料，比起過去使用之商業用豬飼料，最大的不同就是添加了很多的纖維，其中Huang *et al.* (2020)研究指出，在懷孕期間飼料中添加纖維是一種增強飽足感、減少限飼母豬異常行為且不提供過多能量的方法，有助於增強母豬餐後飽腹感，緩解壓力，減少異常行為，進而降低母豬死胎率。

結 論

綜上所述，本研究之小型豬飼糧配方可用於替代商業實驗用小型豬種豬料 Labdiet 5082，在飼料營養上符合 NRC (2012) 之推薦標準，與 Labdiet 5082 成分相仿，但在價格上低約 4.4 倍，在整個試驗階段，兩組別在體重變化、採食量及飼料效率上皆無顯著差異，且血液生理生化值差異不大，繁殖性狀上亦相似，顯示該飼糧可滿足蘭嶼豬繁殖階段之營養所需。

參考文獻

- 朱賢斌。2005。畜試所小型豬之選育與應用。行政院農業委員會畜產試驗所臺東種畜繁殖場。<https://www.angrin.tlri.gov.tw/indexs/nsmall.htm>。
- 吳昇陽、朱賢斌、鄭裕信、章嘉潔。2017。生醫研究用小型豬推廣之調查。畜產研究 50：288-293。
- 吳昇陽、章嘉潔。2018a。小型豬血液生理指標檢測。畜產研究 51：1-7。
- 吳昇陽、章嘉潔。2018b。蘭嶼豬血液生化性狀之分析。畜產研究 51：157-165。
- 吳昇陽、章嘉潔。2019。不同小型豬血液生化值與品種間之差異。畜產研究 52：198-205。
- 李恒夫、劉芳爵。2020。飼糧中粗纖維來源及含量對蘭嶼豬生長性能、背脂厚度及血液生化值之影響。畜產研究 53：159-168。
- 李啟忠、陳文誠、曾晉郎、張秀鑾、吳明哲。1994。逢機配種的蘭嶼豬群之產仔分析。畜產研究 27：109-117。
- 李啟忠、廖宗文、黃政齊、曾穎玉、朱賢斌、陳文誠、鄭連春。2003。蘭嶼豬餵飼飼料及狼尾草對其生長及屠體性能之影響。畜產研究 36：157-164。
- 張之維、朱賢斌、林正鏞、張俊達。2013。蘭嶼豬母豬繁殖性狀之探討。畜產研究 46：63-70。
- 陳亮君、楊凌緯、黃敏雄、朱賢斌、廖宗文。2017。飼糧不同粗蛋白質及代謝能含量在涼季和熱季對蘭嶼豬生長性能及背脂厚度的影響。畜產研究 50：45-51。

- 馮媛媛、白雪源、賀津、葉建華、陳香美。2013。中國實驗用小型豬血液指標正常參考值分析。中國畜牧獸醫 40：139-141。
- 劉芳爵、林幼君。2019。不同飼糧粗蛋白質含量對蘭嶼豬體增重與血液生化值之影響。畜產研究 52：66-71。
- 劉芳爵、徐阿里。2000。飼糧離胺酸與消化能含量對臺灣黑豬和三品種雜交肉豬生長性能及屠體性狀之影響。畜產研究 33：165-174。
- Authement, M. R. and M. T. Knauer. 2023. Associations between sow body condition with subsequent reproductive performance. *Open Journal of Animal Sciences*, 13(3): 310-322.
- Berda-Haddad, Y., C. Faure, M. Boubaya, M. Arpin, S. Cointe, D. Frankel, R. Lacroix and F. Dignat-George. 2017. Increased mean corpuscular haemoglobin concentration: artefact or pathological condition? *International journal of laboratory hematology*, 39(1): 32-41.
- Brissot, E., M. B. Troadec, O. Loréal, and P. Brissot. 2021. Iron and platelets: a subtle, under-recognized relationship. *American Journal of Hematology*, 96(8): 1008-1016.
- Costermans, N. G., N. M. Soede, A. Middelkoop, B. F. Laurensen, R. E. Koopmanschap, L. J. Zak, E. F. Knol, J. Keijer, K. J. Teerds and B. Kemp. 2020. Influence of the metabolic state during lactation on milk production in modern sows. *animal*, 14(12): 2543-2553.
- Czech, A., E. R. Grella, M. Kiesz and S. Klys. 2020. Biochemical and haematological blood parameters of sows and piglets fed a diet with a dried fermented rapeseed meal. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 20, No. 2: 535-550.
- De Rensis, F., M. Gherpelli, P. Superchi and R. N. Kirkwood. 2005. Relationships between backfat depth and plasma leptin during lactation and sow reproductive performance after weaning. *Animal Reproduction Science*, 90(1-2): 95-100.
- Ellegaard Gottingen minipigs. 2016. http://minipigs.dk/uploads/media/Hematology_Background_Data.Pdf.
- Fanatico, A. 2010. Organic poultry production: providing adequate methionine. p. 19. *Attra*.
- Furcht, G. 1988. Ernährungsbedingte Stoffwechselstörungen beim Schwein. Jena, Web Gustav Fischer Verlag.
- García-Estapa, R. M., E. Guerra-Hernández and B. García-Villanova. 1999. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food research international*, 32(3): 217-221.
- Huang, S., J. Wei, H. Yu, X. Hao, J. Zuo, C. Tan and J. Deng. 2020. Effects of dietary fiber sources during gestation on stress status, abnormal behaviors and reproductive performance of sows. *Animals*, 10(1): 141.
- King, R. H. 2000. Factors that influence milk production in well-fed sows. *Journal of Animal Science*, 78(suppl_3): 19-25.
- Kummer R. Growth and reproductive maturity of replacement gilts. 2008 Swine Breeding Management Workshop. Setting up the Herd; Edmonton, AB, Canada.
- LabDiet. 2023. Product Sheet 5082. <https://www.labdiet.com/product/detail/5082-laboratory-porcine-multi-stage-diet-laboratory-mini-pig-breeder-diet>.
- Lawlor, P. G. and P. B. Lynch. 2007. A review of factors influencing litter size in Irish sows. *Irish veterinary journal*, 60(6): 359.
- Lei, X. G., J. D. Weaver, E. Mullaney, A. H. Ullah and M. J. Azain. 2013. Phytase, a new life for an “old” enzyme. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 1: 283-309.
- Maner, B. S., R. B. Killeen and L. Moosavi. 2024. Mean corpuscular volume. In *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing.
- Marín-García, P. J., L. Ródenas, E. Martínez-Paredes, M. Cambra-López, E. Blas, and J. J. Pascual. 2020. A moderate protein diet does not cover the requirements of growing rabbits with high growth rate. *Animal Feed Science and Technology*, 264, 114495.
- Marín-García, P. J., L. Llobat, M. C. López-Lujan, M. Cambra-López, E. Blas, and J. J. Pascual. 2022. Urea nitrogen metabolite can contribute to implementing the ideal protein concept in monogastric animals. *Animals*, 12(18), 2344.
- McPherson, R. L., F. Ji, G. Wu, J. R. Blanton and S.W. Kim. 2004. Growth and compositional changes of fetal tissues in pigs. *J Anim Sci.* 82(9): 2534-2540.
- Mun, H. S., K. M. B. Ampode, E. B. Laguna, H. R. Park, Y. H. Kim, M. Sharifuzzaman, M. K. Hasan and C. J. Yang. 2023. Backfat thickness at pre-farrowing: Indicators of sow reproductive performance, milk yield, and piglet birth weight in smart farm-based systems. *Agriculture*, 14(1): 24.
- Newton, G. L., O. M. Hele, and C. O. Plank. 1983. Effect of wheat bran in practical diets on mineral absorption by pigs at two ages. *Can. J. Anim. Sci.* 63: 399-408.
- NRC. 2012. *Nutrient Requirements of Swine*. 11th Rev. Ed. National Academy Press, Washington, DC.

- Oliviero, C., M. Heinonen, A. Valros and O. Peltoniemi. 2010. Environmental and Sow-Related Factors Affecting the Duration of Farrowing. *Anim. Reprod. Sci.* 119: 85-91.
- Peltoniemi, O., S. Björkman and C. Oliviero. 2016. Parturition Effects on Reproductive Health in the Gilt and Sow. *Reprod. Domest. Anim.* 51: 36-47.
- Persson, H., M. Türk, M. Nyman and A. S. Sandberg. 1998. Binding of Cu^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} to inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(8): 3194-3200.
- Qian, Z., X. Peifeng, L. Huawei, M. Cui, Z. Wanghong, Y. Yulong and K. Xiangfeng. 2018. Fetal Huanjiang mini-pigs exhibit differences in nutrient composition according to body weight and gestational period. *Plos one*, 13(7), e0199939.
- Radostits, O. M., C. C. Gay, D. C. Blood and K. W. Hinchcliff. 2000. Diseases Caused by Nutritional Deficiencies. In: *Veterinary Medicine*. 9th ed. London, New York, Philadelphia, San Francisco, St. Louis, Sydney. pp. 1477-1559.
- Rosenfelder-Kuon, P., W. Siegert and M. Rodehutschord. 2020. Effect of microbial phytase supplementation on P digestibility in pigs: a meta-analysis. *Archives of animal nutrition*, 74(1): 1-18.
- Sands, J. S., D. Ragland, C. Baxter, B. C. Joern, T. E. Sauber, and O. Adeola. 2001. Phosphorus bioavailability, growth performance, and nutrient balance in pigs fed high available phosphorus corn and phytase. *Journal of Animal Science*, 79(8): 2134-2142.
- SAS Institute. 2014. SAS User's Guide: Statistics, Version 13.2 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC. USA.
- Selle, P. H. and V. Ravindran 2008. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livest. Sci.* 113: 99-122.
- Semiński, W. and E. R. Grela. 2011. Effect of a reduced protein content in the nutrition of growing-finishing pigs fed a restricted or ad libitum diet on nitrogen parameters in their blood and urine. *Medycyna Weterynaryjna*. 67: 339-342.
- Thongkhuy, S., S. B. Chuaychu, P. Burarnrak, P. Ruangjoy, P. Juthamane, M. Nuntapaitoon and P. Tummaruk. 2020. Effect of Backfat Thickness during Late Gestation on Farrowing Duration, Piglet Birth Weight, Colostrum Yield, Milk Yield and Reproductive Performance of Sows. *Livest. Sci.* 234: 103983.
- Thorn, C. E. 2010. Hematology of the pig. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell; 843-851.
- Vargovic, L., J. A. Harper and K. L. Bunter 2022. Traits defining sow lifetime maternal performance. *Animals*, 12(18): 2451.
- Velayudhan, D. E., M. Gracia, O. Casabuena Rincón, L. Marchal and Y. Dersjant-Li. 2021. Effect of a novel consensus bacterial 6-phytase variant in grower pigs fed corn-soybean meal-based diets formulated with a full nutrient matrix and no added inorganic phosphorus. *Journal of Animal Science*, 99(7): skab176.
- Walk, C. L., S. Srinongkote and P. Wilcock. 2013. Influence of a microbial phytase and zinc oxide on young pig growth performance and serum minerals. *Journal of animal science*, 91(1): 286-291.
- Whang, K.Y., S. W. Kim, S. M. Donovan, F. K. McKeith and R. A. Easter. 2003. Effects of protein deprivation on subsequent growth performance, gain of body components, and protein requirements in growing pigs. *J Anim Sci.* 81: 705-716.
- Yeom, S. C., S. Y. Cho, C. G. Park and W. J. Lee. 2012. Analysis of reference interval and age-related changes in serum biochemistry and hematology in the specific pathogen free miniature pig. *Laboratory Animal Research*, 28(4): 245-253.
- Young, M., and F. Aherne. 2005. Monitoring and maintaining sow condition. *Advances in Pork Production* 16: 299-313.
- Zdravko, Ž., M. Vladimir, S. Velimir and P. G. Jelena. 2006. Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. *Vet. arhiv.* 76(3): 245-253.

Innovation of a diet for Lanyu Pigs at reproductive stage ⁽¹⁾

Yi-Long Chen ⁽²⁾⁽³⁾ Sheng-Yang Wu ⁽²⁾ Shun-Yao Yang ⁽²⁾
Shih-Hsin Lee ⁽²⁾ and Chia-Chieh Chang ⁽²⁾

Received: Apr. 16, 2025; Accepted: Aug. 22, 2025

Abstract

This study aimed to innovate a diet for the reproductive stage of Lanyu sows in replacement of Labdiet 5082 and to analyze related growth performance, blood hematological and biochemical values, and reproductive performance. The experiment involved 16 gilts reared for 405 days in average, randomly divided into two groups fed with test diet and Labdiet 5082 respectively. The metabolizable energy (ME), crude protein and crude fat of both diets were similar but other compositions somewhat differed. The trial covered the entire reproductive process, from mating to weaning. The results showed no significant differences in growth or reproductive performance between the two groups in the entire experiment stage. In terms of blood hematological values, the mean corpuscular volume was significantly higher in the Labdiet 5082 group than in the test diet group during lactation, whereas the mean corpuscular hemoglobin concentration and platelet were significantly higher in the test diet group than in the Labdiet 5082 group, possibly due to differences in iron ions in the feed, which was still within the normal range (test diet 268ppm; Labdiet 5082 380 ppm). In the blood biochemical study, the test diet group showed significantly higher inorganic phosphorus before pregnancy and significantly higher blood urea nitrogen levels during pregnancy. Whereas, Labdiet 5082 showed significantly higher copper levels, likely due to differences in amino acid composition and the form of copper in the diets. Neither group showed significant difference in reproductive traits. In conclusion, the self-formulated minipig diet can be used to replace the Laboratory Mini-Pig Breeder Diet 5082 (Labdiet 5082), with a cost approximately 4.4 times lower per kilogram, without having significant difference in weight, feed intake, and backfat thickness, blood parameters, or reproductive performance, indicating that the test feed meets the nutritional requirement of Lanyu sows at reproductive stage.

Key words: Lanyu Pig, Physiological value, Reproductive performance.

(1) Contribution No. 2837 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Eastern Region Branch, MOA-TLRI, Ilan 268, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: 18077606@mail.tlri.gov.tw.

評估低粗蛋白飼糧於畜試雜交土雞之生長後期生長性能 與溫室氣體排放⁽¹⁾

李雁鈴⁽²⁾⁽⁴⁾ 洪靖崎⁽³⁾ 黃培峻⁽²⁾ 魏良原⁽²⁾ 張經緯⁽²⁾

收件日期：114 年 6 月 13 日；接受日期：114 年 8 月 22 日

摘 要

本研究旨在評估低粗蛋白 (crude protein, CP) 飼糧對畜試雜交土雞生長後期生長性能與溫室氣體排放量之影響，作為國家飼料標準與永續畜牧政策推動的技術依據。試驗選取 180 隻之 12 週齡畜試雜交土雞，依性別分群後隨機分為對照組 (CP = 15%) 與試驗組 (CP = 13%)，飼糧以玉米和大豆粕為主要原料，並配製為等代謝能，營養成分符合土雞飼養手冊建議，試驗組在降低飼糧中粗蛋白質含量時，額外補充滿足飼糧配方需求之胺基酸。試驗期為 12 至 20 週齡，期間飲水與飼料皆採任飼，紀錄雞隻體重、採食量、飼料轉換率及糞便成分，並估算氧化亞氮 (N₂O) 排放量。結果顯示，在飼糧中降低 2% 粗蛋白含量不影響土雞 20 週齡上市體重，且顯著改善公雞飼料轉換率 (P < 0.05)。母雞雖體重略低，但平均日採食量與日增重無顯著差異。在糞便成分方面，低 CP 組公、母雞糞便中氮含量較對照組下降 4.7 及 5.2%，水分含量分別降低 3.5 及 3.0%，顯示飼糧中降低 CP 含量可提升氮利用率，並改善墊料濕度。在評估 N₂O 排放量方面，當飼糧 CP 含量自 15% 調降至 13% 時，母土雞糞便堆肥中 N₂O 排放量可減少 23.7%。每隻公、母土雞於生長後期分別可減少 0.013 公克及 0.22 公克 N₂O 排放量，相當於減少約 0.0036 公斤及 0.060 公斤二氧化碳當量 (CO₂e)。綜上所述，降低飼糧 CP 含量 2% 並補充胺基酸，可維持土雞成長表現，提升飼料利用效率，且可降低糞便和墊料中的氮排放量，進而減緩溫室氣體排放，具實質應用與政策推廣價值，亦可作為我國推動低碳畜牧與飼料標準法規更新之重要參考。

關鍵詞：臺灣土雞、低粗蛋白質飼糧、生長性能、氮排放。

緒 言

隨著全球畜牧業的擴展，畜禽生產對環境造成的影響日益受到關注。家禽飼養在追求高生產效率的同時，通常也伴隨大量氮和氨的排放，進而對氣候與環境品質構成負面壓力 (Gerber *et al.*, 2013; Caro *et al.*, 2014; Malomo *et al.*, 2018)。降低飼糧中的粗蛋白質含量是限制肉雞氮排泄的有效方法，但常會降低雞隻生產性能 (Belloir *et al.*, 2017)。低粗蛋白飼料配方利用的核心在於選擇使用高品質的蛋白質來源，傳統飼料中常見的大豆粕等植物性蛋白質，雖然價格低廉，但氮的利用效率較低，而導致氮排放偏高。Nahm (2007) 研究指出，肉雞攝取的氮約有 70 – 75% 會以糞尿形式排出，主要因為胺基酸利用率不佳，當適度降低飼糧中的粗蛋白含量，並補充必要胺基酸，不影響生長，也可顯著減少氮排泄達 40%。胺基酸是雞隻維持、生長和生產所需的主要營養成分之一，飼料級合成胺基酸已日益普及，透過精確添加合成胺基酸比率，低粗蛋白飼料配方可有效滿足雞隻需求，繼而減少氮的排泄 (Ospina-Rojas *et al.*, 2014)。只要充分滿足家禽的胺基酸需求，肉雞的生長和育肥日糧中粗蛋白含量可以減少多達 3%，而不會對生長或肉質產生影響 (Benahmed *et al.*, 2023)，這樣的調整不僅降低了飼料中的總氮含量，還維持了雞隻的生產。另外，經由調整胺基酸比率的飼料，將肉雞日糧粗蛋白含量從 19% 降低到 17% 時，0 – 21 日齡期間肉雞氮排泄減少 29%，且氮利用率提升了 7%，每日每隻雞可減少 20.6 毫升的水消耗，並降低墊料水分 2.2%，因此，低粗蛋白飼糧配方可降低氮排泄並且減少墊料的濕度 (Alfonso-Avila *et al.*, 2022)。在火雞的研究中，應用低粗蛋白飼糧配方也能顯著改善墊料品質並降低足墊炎的發生 (Veldkamp *et al.*, 2017)，這些都證明了低粗蛋白飼糧配方

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2838 號。
(2) 農業部畜產試驗所東區分所。
(3) 農業部畜產試驗所動物營養組。
(4) 通訊作者，E-mail: yeooovm@mail.tlri.gov.tw。

具有廣泛的應用潛力。降低飼糧粗蛋白質需要評估整體營養，因為不僅蛋白質和胺基酸，其他如纖維、電解質平衡和能量來源也都會受到影響 (Alfonso-Avila *et al.*, 2019)。雖然低粗蛋白飼糧之技術已被國際間廣泛研究與應用，但國內業者對其接受度仍偏低，主要因對生產性能影響疑慮及配方調整的技術門檻。因此，為因應 2024 年「配合飼料(家畜、家禽用)國家標準」修正後之需求，本研究進行生長後期土雞之餵飼試驗，評估低粗蛋白質含量之飼糧對其生長表現與溫室氣體排泄量的影響，可藉此建立適合本土環境之低蛋白飼糧模式，有助於滿足我國商業需求和飼料國家標準立法的要求。

材料與方法

I. 試驗動物與試驗設計

- (i) 本研究於農業部畜產試驗所東區分所(花蓮場區)執行，所有動物使用、飼養管理及試驗操作皆依據該場區之實驗動物管理委員會核准之實驗計畫(動物實驗核准編號為 HUA1ACUC11203)辦理與管理準則執行。
- (ii) 試驗使用畜產試驗所東區分所自行繁殖之畜試雜交土雞(畜試土雞高畜 12 號公雞與 9 號母雞雜交) 180 隻，依性別分為公、母各 90 隻，並隨機分配至兩個處理組。每處理組設有 6 個欄位，其中公雞與母雞各分配 3 欄，為 3 重複試驗，每欄飼養 15 隻。試驗期自雞隻 12 週齡起至 20 週齡止，為期共計 8 週。雞隻飼養於水泥結構之半開放式禽舍，每欄面積為 12 m² 並配置餵料器和自動飲水器各 1 個。欄內鋪設 30 公斤的稻殼作為墊料，試驗期間未進行墊料更換或清理。飼養季節為 6 – 8 月份，試驗期間環境平均溫度為 28.1℃，平均相對濕度為 81.3% (交通部中央氣象署，2023)。
- (iii) 生長性能：12 週齡起至 20 週齡試驗飼料分為兩組，對照組飼糧粗蛋白質含量為 15% (CP = 15%)，試驗組粗蛋白質含量下調至 13% (CP = 13%)。飼糧以玉米和大豆粕為主要原料，並配製為等代謝能。飼糧組成皆符合土雞飼養手冊建議標準(施等，2009)，試驗組在降低飼糧中粗蛋白質含量時，並同步補充合成胺基酸，以達到配方中胺基酸含量與平衡之要求，於配方設計中設定其最低需求值為限制條件，利用 Excel 進行線性規劃計算，調整玉米、豆粕、全脂豆粉與胺基酸比例，以同時達成代謝能與粗蛋白質的雙重目標。對照組因粗蛋白質含量較高，其所需額外補充胺基酸比例為 0.81%；試驗組在粗蛋白質含量降低的條件下，為補足因原料減少所造成的胺基酸含量，額外添加比例提升至 1.53%，主要補充之必需胺基酸包括甲硫胺酸(DL-Methionine)、離胺酸(L-Lysine HCl)、精胺酸(Arginine)、色胺酸(Tryptophan)、異白胺酸(Isoleucine)、纈胺酸(Valine)及羥丁胺酸(Threonine)，飼糧組成如表 1。試驗期間飲水與飼料皆任飼，分別於第 12、16 及 20 週齡測定雞隻體重與採食量，並計算飼料轉換率，評估生長性能表現。
- (iv) 代謝試驗與排泄物分析：於第 20 週齡，每處理組 6 欄位，每欄隨機抽取 2 隻雞，共計每組公母各 6 隻，個別置於單籠中進行代謝試驗。試驗期為 3 天，期間紀錄各雞隻採食量並進行全糞尿收集密封冰凍保存。收集完成之排泄物樣品，以烘箱 60℃ 烘乾 24 小時，計算水分含量後粉碎寄送至農業部畜產試驗所飼料化驗中心，進行一般成分(粗水分、粗蛋白質及粗灰分)分析檢測，其自訂方法以飼料粗水分檢驗作業規範(FAC-31803)、飼料粗蛋白質檢驗作業規範(FAC-31805)、飼料粗灰分檢驗作業規範(FAC-31809)執行(農業部畜產試驗所，2025)。
- (v) 生長後期雞排泄物 N₂O 排放量估算：以代謝試驗收集之雞隻排泄物樣品一般成分粗蛋白質數據，以 Excel 進行換算氮含量，公式如下：氮含量(%) = 粗蛋白質含量(%) / 6.25。另依據聯合國政府間氣候變化專門委員會(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC) 2006 (IPCC) 國家溫室氣體清冊指南(2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories)，以 Tier 2 方法進行溫室氣體排放量估算，直接 N₂O 排放量 + 間接 N₂O 排放量，計算方式如下：
(糞便量 g / 日 × 糞便含氮量 % / 1000 × 糞尿管理系統 N₂O – N 轉化率) × 56 日 + (糞便量 g / 日 × 糞便含氮量 % × 糞尿管理系統 N 缺失值 / 100 × 0.01 × 48 / 28) × 56 日。

糞尿管理系統 N₂O – N 轉化率，本試驗以 IPCC (2006) 表 10.21 堆肥(翻堆 + 通風)轉化率係數 0.005 帶入；糞尿管理系統 N 缺失值依據 IPCC (2006) 表 20.22 家禽有墊料之糞便之糞尿管理系統 N 缺失值為 40；係數 0.01 為依據 IPCC (2006) 表 11.3 土壤和水面大氣氮沉積中產生的 N₂O 排放的排放因子，kgN₂O – N (kgNH₃ – N + NO_x – N 揮發)；48/28 係指 (N₂O – N) (mm) 排放轉化為 N₂O (mm) 排放轉換係數，生長後期飼養日數 56 日。

II. 統計分析

試驗所得數據利用 SAS 套裝統計分析軟體 (Statistical Analysis System, 2000) 以一般線性模式程序 (General

Linear Model Procedure, GLM) 進行變方分析，再以鄧肯氏新多變域測定法 (Duncan's New Multiple Range Test) 比較各組間之差異顯著性，當 $P < 0.05$ 表差異顯著。

表 1. 試驗飼糧之組成

Table 1. The composition of experimental diets

Items	CP = 15%	CP = 13%
Ingredients, %		
Yellow corn	72.22	77.6
Soybean meal (42%)	14.45	12.28
Soybean flour	8.30	4.30
Calcium carbonate	1.49	1.51
Salt	0.50	0.50
Dicalcium phosphate	1.53	1.58
Mineral premix ¹	0.30	0.30
Vitamin premix ²	0.20	0.20
Choline chloride (50%)	0.20	0.20
Amino acid premix ³	0.81	1.53
Total	100	100
Calculated value, %		
Crude protein	15	13
Crude fat	4.46	3.91
Linoleic Acid	2.42	2.12
Crude fiber	2.49	2.29
Ash	1.80	1.71
Methionine + Cystine	0.62	0.62
Methionine	0.46	0.49
Lysine	0.94	0.94
Arginine	1.10	1.10
Threonine	0.75	0.75
Isoleucine	0.68	0.68
Valine	0.77	0.77
Tryptophan	0.19	0.19
Metabolizable energy, kcal/kg	3,050	3,050

¹ Mineral premix supplied per kilogram of diet: Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 6 mg; Fe ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 50 mg; Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 40 mg; Zn (ZnO), 60 mg; Se (NaSeO_3), 0.075 mg.

² Vitamin premix supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 12,000 IU; Vitamin D₃, 3,125 IU; Vitamin E, 37.5 IU; Vitamin K₃, 6.25 mg; Vitamin B₁, 3.75 mg; Vitamin B₂, 12.5 mg; Vitamin B₆, 10.0 mg; Vitamin B₁₂, 0.05 mg; Ca-pantothenate, 18.8 mg; Niacin, 50 mg; Biotin, 0.06 mg; Folic acid, 1.25 mg.

³ Amino acid premix composition: Methionine, Lysine, Arginine, Threonine, Isoleucine, Valine, and Tryptophan. The proportion is due to undisclosed business secrets.

結果與討論

I. 降低生長後期飼糧粗蛋白質含量對畜試雜交土雞生長性能之影響

在本研究中，12 至 20 週齡之畜試雜交土雞於生長後期階段餵飼不同粗蛋白質含量飼糧對生長性能之影響結果如表 2。研究指出，高蛋白飼糧能對禽隻腸道健康和生長表現產生負面影響，當蛋白質於小腸末端未被完全消化，其殘餘部分可能會被盲腸中的厭氧菌發酵，進而產生胺類、酚類、甲酚和氨等有害與具毒性之代謝產

物，於高濃度情況下恐對雞的生長性能產生不利影響 (Apajalahti and Vienola, 2016)。低粗蛋白質飼糧的訂定需要控制必需胺基酸的供應，即離胺酸、蛋胺酸 (+ 半胱胺酸)、羥丁胺酸、纈氨酸、異白胺酸、白胺酸、色胺酸、精氨酸、苯丙胺酸 (+ 酪胺酸) 和組胺酸等，透過加入飼料用合成胺基酸可以滿足對限制性必需胺基酸的需求，將肉用公雞的飼糧 CP 由 19% 降低至 17%，並調整育肥期飼糧之胺基酸組成，並不影響其上市體重 (Belloir *et al.*, 2017)。當降低飼糧中粗蛋白質含量時，應考慮個別胺基酸之間的平衡，否則會減緩生長與降低飼糧中蛋白質利用率，Han *et al.* (1992) 指出，0 – 3 週齡雞隻低蛋白飼糧 (CP = 19%) 中限制性胺基酸為蛋胺酸、離胺酸、精氨酸、羥丁胺酸和纈氨酸等 5 種，於低蛋白飼糧中補充此五種限制性胺基酸後，與對照組 (CP = 23%) 比較，其增重和飼料效率顯著提高，體脂含量則降低，且於 3 到 6 週齡雞，飼糧含補充限制性胺基酸的飼糧 (CP = 16%)，其生長表現與對照 (CP = 20%) 組相似。Emmert *et al.* (2000) 發現當 1 至 3 週齡肉雞飼糧低粗蛋白飼糧 (CP = 18% 以下)，在未補充甲硫胺酸與羥丁胺酸組，其採食量會增加，若於低粗蛋白飼糧中添加甲硫胺酸與羥丁胺酸，則採食量未明顯增加且生長性能較佳，因此當雞隻飼糧蛋白質降低時，需保持胺基酸比例平衡，添加胺基酸後可補飼糧中粗蛋白質之不足，可使得雞隻生長性能不受影響。本試驗結果顯示，試驗組公雞於 12 – 20 週齡平均日採食量與飼料轉換率皆顯著低於對照組 (表 2, $P < 0.05$)，然至第 20 週齡上市體重則差異不顯著，此結果與前述研究相符。當飼糧 CP 含量自 15% 降至 13%，且適當補充胺基酸量後，雖觀察到土雞的採食量降低，但飼料利用效率明顯提升。於 12 – 20 週齡平均日採食量，試驗組為 86.7 g 顯著低於對照組之 94.1 g，且分析比較對照組與試驗組的飼料轉換率分別為 5.0 及 4.6，此顯示試驗組飼料轉換率顯著較佳，此結果與 Harn *et al.* (2019) 於降低肉雞飼糧中 CP 含量 2% 的飼養實驗，有助其飼料轉換率提升之結果相符。至於母雞部分，對照組於第 20 週齡之體重略高於低蛋白組，但兩組間平均日採食量與平均日增重則無顯著差異，顯示降低飼糧 CP 2% 含量對母雞生長性能影響相對有限，此與 Oluwabiye *et al.* (2022) 研究於育成期蛋雞降低飼糧中 CP 含量，不會影響最終體重、採食量和飼料轉換率等生長性能之結果相符，且也與 Heo *et al.* (2023) 研究降低母雞日糧中的 CP 含量會降低排泄物排出量、氮攝取量和氮排泄量，但不影響每日飼料攝取量相符。而公、母雞對飼糧中蛋白質含量變化在生長性能上的差異，推測可能與性別及營養需求差異有關。公雞通常用於肉品生產，在肌肉組織快速增長階段對能量與營養素轉換效率依賴性較高，故飼糧低蛋白並補充胺基酸之飼糧時，能更有效轉化養分以支持生長，進而顯著改善飼料轉換效率。相對而言，母雞在育成過程中除具備一定的體重發展需求外，亦須儲備能量以備未來產蛋使用，此使得其生長生理反應相對較為穩定。綜合上述，本研究於畜試雜交土雞生長後期 (12 至 20 週齡) 飼養階段，將飼糧 CP 含量由 15% 降低至 13%，並經胺基酸補充調整後，可使得雞隻生長性能不受影響，且有效提升飼料利用效率。

表 2. 降低畜試雜交土雞生長後期飼糧粗蛋白質含量對生長性能之影響

Table 2. Effect of reduced dietary crude protein during the late rearing period on growth performance of crossbred native chickens

Sex Items	Male		Female	
	CP = 15%	CP = 13%	CP = 15%	CP = 13%
Body weight, g				
12 week old	1,208 ± 185	1,142 ± 162	965 ± 123	932 ± 168
20 week old	2,291 ± 236	2,219 ± 160	1,924 ± 133	1,855 ± 252
12 – 20 week old				
Average daily gain, g/day/bird	19.3 ± 3.0	19.2 ± 2.5	17.1 ± 2.3	16.5 ± 2.8
Average Feed intake, g/day/bird	94.1 ± 8.2 ^a	86.7 ± 4.2 ^b	84.6 ± 2.6	83.2 ± 4.5
Feed conversion ratio, feed/gain	5.0 ± 0.9 ^a	4.6 ± 0.6 ^b	5.0 ± 0.8	5.2 ± 1.2

^{a, b} Means of the same row within gender with the different superscript differ significantly ($P < 0.05$).

Values are mean ± SD.

n = 45.

II. 降低生長後期飼糧粗蛋白質含量對糞便性狀與氮排放之影響

調整飼糧中 CP 含量之策略，有助於提高肉雞生產產業的永續性。飼糧 CP 降低 2% 對土雞糞便性狀之影響結果如表 3 所示。Belloir *et al.* (2017) 研究指出以調整胺基酸成分降低飼糧粗蛋白質含量，將肥育期肉用公禽飼糧 CP 含量從 19% 調降至 17%，氮的利用率會增加，可有效減少雞隻氮的排泄量與揮發量，且不會改變雞隻

生長性能與屠體品質。而 Attia *et al.* (2020) 以僅添加蛋胺酸和離胺酸的 15% 粗蛋白飼糧餵飼 28 至 49 日齡的肉雞，與對照組 (CP = 18%) 比較發現低蛋白飼糧組屠體蛋白質、總脂肪量和胸肉水分百分比沒有不良影響，且同時使氮排泄量降低。另有研究指出，於 1 至 33 日齡的肉雞飼糧中補充限制性胺基酸，可以將飼糧 CP 降低 2% 以上，而不影響其生長性能，且可同時減少氮排泄和氮排放 (Aderibigbe *et al.*, 2024)。本試驗將低飼糧粗蛋白質調降 2% 後，公、母雞糞便中氮排泄量分別下降 4.7 及 5.2%，顯示其體內氮利用效率有所提升，此與前述研究相符。此外，氮攝入量與雞隻之飲水需求具有密切關聯，因體內多餘氮須經由尿液與糞便排出，此過程需要增加水分攝取。據本研究結果，公雞試驗組糞便中水分含量 70.8% 顯著低於對照組的 73.4%，減幅達 3.5%，母雞試驗組糞便中水分含量 75.3% 則低於對照組的 77.6%，減幅為 3.0%，此現象有助於降低禽舍墊料濕度，改善飼養環境衛生條件，並與 Alfonso-Avila *et al.* (2022) 研究結果一致。綜合以上結果，當降低 CP 含量不僅有助於提升土雞氮的利用效率，同時減少糞便中氮與水分的排放量。

表 3. 降低畜試雜交土雞生長後期飼糧粗蛋白質含量對糞便性狀之影響

Table 3. Effect of reduced dietary crude protein during the late rearing period on feces characteristics of crossbred native chickens

Sex	Male		Female	
	CP = 15%	CP = 13%	CP = 15%	CP = 13%
Moisture, %	73.4 ± 4.5 ^a	70.8 ± 4.7 ^b	77.6 ± 2.3	75.3 ± 4.6
Nitrogen, %	6.78 ± 0.9	6.46 ± 0.7	6.67 ± 0.3	6.32 ± 1.3
Ash ² , %	20.1 ± 2.4	20.3 ± 2.5	16.4 ± 3.8 ^b	18.7 ± 2.4 ^a
Reduction (Compared with the CP = 15%)				
Moisture reduction, %		3.5		3.0
Nitrogen reduction, %		4.7		5.2

^{a, b} Means of the same row within gender with the different superscript differ significantly ($P < 0.05$).

Values are mean ± SD.

Ash as dry matter bass.

n = 6.

III. 降低生長後期飼糧粗蛋白質後糞便堆肥對 N₂O 排放之影響

N₂O 為全球第三大溫室氣體，根據營養利用效率的差異，動物日糧中提供的氮有 50 – 80% 會被排泄出 (Tamminga, 1992)，而在家禽中，排泄的總氮中超過 70% 是以尿酸的形式排出，尿酸會在體內水解迅速轉化為氨氣 (NH₃) (Koerkamp, 1994)。若未採取有效措施來減少氮的排泄，高達 18 至 41% 的糞便氮將以氨氣及其他含氮化合物的形式排放至大氣，對空氣品質造成負面影響 (Patterson, 2001)。本試驗依據 IPCC Tier 2 方法估算生長後期糞便堆肥中 N₂O 排放量結果如表 4 所示，當生長後期飼糧 CP 含量自 15% 調降至 13% 時，估算公、母雞糞便堆肥中 N₂O 排放量，以母雞減少較多約可減少 23.7%。IPCC (2021) 第六次評估報告指出 N₂O 的全球暖化潛勢值 (Global Warming Potentia, GWP) 為 273，即 1 公克的 N₂O 相當於 273 公克的 CO₂e，研究顯示生長後期 (56 日)，每隻公、母雞土雞分別可減少 0.013 公克及 0.22 公克 N₂O 排放量，相當於減少約 0.0036 公斤及 0.060 公斤 CO₂e。依據 2023 台灣家禽統計手冊統計資料，2023 年臺灣有色肉雞供應量為 10,956 萬隻 (陳等, 2024)，其中紅羽土雞飼養佔 56%，約 6,135 萬隻，若各推行 5% 的雞隻於生長後期餵飼低粗蛋白飼糧，公、母雞每年總減排量分為約 11 公噸及 184 公噸 CO₂e。此一結果顯示低粗蛋白飼糧策略除具飼養效益外，亦對減緩畜牧業溫室氣體排放具實質貢獻。

表 4. 降低畜試雜交土雞生長後期飼糧粗蛋白質後推估糞便堆肥 N₂O 排放量影響Table 4. Estimated impact of reduced dietary crude protein during the late rearing period on N₂O emissions from fecal composting of crossbred native chicken

Sex Item	Male		Female	
	CP = 15%	CP = 13%	CP = 15%	CP = 13%
Annual N ₂ O emissions from ma-nure management, kg N ₂ O head × 56 days ⁻¹	8.85 × 10 ⁻⁴ ± 1.53 × 10 ⁻⁴	8.72 × 10 ⁻⁴ ± 0.69 × 10 ⁻⁴	9.28 × 10 ⁻⁴ ± 1.84 × 10 ^{-4a}	7.08 × 10 ⁻⁴ ± 1.82 × 10 ^{-4b}
Annual N ₂ O emissions from ma-nure management, kg N ₂ O head × 56 days ⁻¹ (5% promotion) ³	2,716 ± 468	2,675 ± 212	2,846 ± 563 ^a	2,171 ± 557 ^b
Reduction (Compared with the CP = 15%), %				
Annual N ₂ O emissions from ma-nure management reduction, kg N ₂ O head × 56 days ⁻¹		1.5		23.7
Annual N ₂ O emissions from ma-nure management reduction, kg N ₂ O head × 56 days ⁻¹ (5% promotion)		1.5		23.7

^{a, b} Means of the same row within gender with the different superscript differ significantly (P < 0.05).

Values are mean ± SD.

N₂O emissions from composting are estimated based on IPCC Tier 2:

(Daily fecal mass × fecal nitrogen content % / 1,000 × feces-urine management system N₂O-N conversion rate) × 56 days + (Daily fecal mass × fecal nitrogen content % × feces-urine management system N loss factor / 100 × 0.01 × 48 / 28) × 56 days.

5% promotion: based on the estimated total supply of 61.35 million red-feather native chickens in Taiwan in 2023, a 5% utilization rate corresponds to approximately 3.07 million birds.

n = 6.

結 論

試驗中比較現行標準飼糧與低蛋白飼糧對生長後期畜試雜交土雞成長表現、氮利用率及糞便含氮量之差異，將 CP 含量由 15% 降低至 13%，並搭配合適必需胺基酸補充，可在不影響上市體重的前提下，顯著降低公雞採食量與飼料轉換率，進而提升飼養效率，顯示其具備實際應用潛力。此外，低粗蛋白飼糧可減少糞便中水分與氮含量，改善墊料濕度，並降低氧化亞氮排放，有助於減緩溫室氣體產生，未來可作為本土土雞產業因應永續發展與政策制定之參考依據。

參考文獻

- 交通部中央氣象署。2023。氣候統計資料查詢。<https://www.cwa.gov.tw/V8/C/>。
- 陳志峰、王榮生、何玉珍、吳俊達、李建勳、郭慧華、陳玉珍、陳麗玲、陳逸瑄、鄒信南、蕭金鳳。2024。台灣家禽統計手冊。財團法人獸醫畜產發展基金會，新北市，pp.20。
- 施柏齡、林正鏞、徐阿里、黃振芳、林榮新、李舜榮、王勝德。2009。家禽營養分需求量手冊。行政院農業委員會畜產試驗所，臺南縣，pp. 2-8。
- 農業部畜產試驗所。2025。飼料化驗中心化學測試領域認可項目測試方法及定量極限。https://www.tlri.gov.tw/list.php?theme=web_structure&subtheme=268。
- Aderibigbe, A. S., T. L. Wise, J. D. Davis, V. D. Naranjo, V. Hess, and W.A. Dozier III. 2024. Effects of reduced crude protein diets while maintaining essential amino acid concentrations on growth performance, nitrogen output, ammonia production, and meat yield. *Poult. Sci.* 103: 103572.
- Alfonso-Avila, A. R., O. Cirot, W. Lambert, and M. P. Létourneau-Montminy. 2019. Effect of low protein diets on nitrogen utilization efficiency, daily water consumption, and litter moisture in broilers through meta-analysis approach. *Energy and Protein Metabolism and Nutrition, USA.* pp. 153-154.
- Alfonso-Avila, A. R., O. Cirot, W. Lambert, and M. P. Létourneau-Montminy. 2022. Effect of low-protein corn and soybean meal-based diets on nitrogen utilization, litter quality, and water consumption in broiler chicken production: insight

- from meta-analysis. *Animal* 16: 100458.
- Apajalahti, J. and K. Vienola. 2016. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 221: 323-330.
- Attia Y. A., F. Bovera, J. Wang, M. A. Al-Harhi, and W. K. Kim . 2020. Multiple amino acid supplementations to low-protein diets: effect on performance, carcass yield, meat quality and nitrogen excretion of finishing broilers under hot climate conditions. *Animal* 10(6): 973.
- Belloir, P., B. Méda, W. Lambert, E. Corrent, H. Juin, M. Lessire, and S. Tesseraud. 2017. Reducing the CP content in broiler feeds: impact on animal performance, meat quality and nitrogen utilization. *Animal* 11: 1881-1889.
- Benahmed, S., A. Amani, R. de Théophane, L. M. Marie-Pierre, and N. Alnahhas . 2023. Effect of reduced crude protein diets supplemented with free limiting amino acids on body weight, carcass yield, and breast meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 102: 103041.
- Caro, D., S. J. Davis, S. Bastianoni, and K. Caldeira. 2014. Global and regional trends in greenhouse gas emissions from livestock. *Climatic Change* 126: 203-216.
- Emmert , J. L., H. M. Edwards 3rd, and D. H. Baker. 2000. Protein and body weight accretion of chicks on diets with widely varying contents of soyabean meal supplemented or unsupplemented with its limiting amino acids. *Br. Poult. Sci.* 41: 204-213.
- Gerber, P. J., H. Steinfeld, B. Henderson, A. Mottet, C. Opio, J. Dijkman, A. Falcucci, and G. Tempio. 2013. Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy. pp. 37.
- Han, Y., H. Suzuki, C. M. Parsons, and D. H. Baker. 1992. Amino acid fortification of a low-protein corn and soybean meal diet for chicks. *Poult. Sci.* 71: 1168-1178.
- Harn, J. V., M. A. Dijkslag, and M. M. van Krimpen. 2019. Effect of low protein diets supplemented with free amino acids on growth performance, slaughter yield, litter quality, and footpad lesions of male broilers. *Poult. Sci.* 98: 4868-4877.
- Heo, Y. J., J. Park, Y. B. Kim, B. Y. Kwon, D. H. Kim, J. Y. Song, and K. W. Lee. 2023. Effects of dietary protein levels on performance, nitrogen excretion, and odor emission of growing pullets and laying hens. *Poult. Sci.* 102(8): 102798.
- Intergovernmental panel on climate change. 2021. Climate change 2021: The working group I contribution to the sixth assessment report. United nation.
- Koerkamp, P. W. G. 1994. Review on emission of ammonia from housing systems for laying hens in relation to sources, processes, building design and manure handling. *J. Agric. Eng. Res.* 59: 73-87.
- Malomo, G. A., S. A. Bolu, A. S. Madugu, and Z. S. Usman. 2018. Nitrogen emissions and mitigation strategies in chicken production. *Animal Husbandry and Nutrition*. IntechOpen, London. pp. 43.
- Nahm, K. H. 2007. Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from poultry manure. *Bioresour. Technol.* 98: 2282-2300.
- Oluwabiyi, C. T., J. Zhao, H. Jiao, X. Wang, and H. Lin. 2022. Dietary protein levels during the pullet phase (8–18 week) influence the mortality during laying stage. *J. Appl. Poultry Res.* 31: 100223.
- Ospina-Rojas, I. C., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, C. Eyng, C.A.L. Oliveira, and V. Janeiro. 2014. Valine, isoleucine, arginine and glycine supplementation of low-protein diets for broiler chickens during the starter and grower phases. *Br. Poult. Sci.* 55: 766-773.
- Patterson, P. 2001. Using dietary and management strategies to reduce the nutrient excretion of poultry. The Pennsylvania State University 32. USA
- Statistical Analysis System. 2000. Version 8.01. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary, N.C. USA.
- Tamminga, S. 1992. Gaseous pollutants produced by farm animal enterprises. Effect of farm animals on the human environment . C.A.B. International, Wallingford, UK, pp. 345-356.
- Veldkamp, T., P. M. Hocking, and L. J. Vinco. 2017. Effect of crude protein concentration and dietary electrolyte balance on litter quality, foot pad dermatitis, growth performance and processing yields in two medium heavy turkey hybrids. *Br. Poult. Sci.* 58: 557-568.

Evaluation of low crude protein diets on the growth performance and greenhouse gas emissions of crossbred native chickens during the late rearing period ⁽¹⁾

Yen-Ling Lee ⁽²⁾⁽⁴⁾ Ching-Chi Hung ⁽³⁾ Pei-Jun Huang ⁽²⁾
Liang-Yuan Wei ⁽²⁾ and Chin-Wei Chang ⁽²⁾

Received: Jun. 13, 2025; Accepted: Aug. 22, 2025

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of low crude protein (CP) diets on the growth performance and greenhouse gas emissions of crossbred native chickens during the late rearing period. A total of 180 twelve-week-old crossbred native chickens were selected and divided by sex into control (CP = 15%) and experimental (CP = 13%) groups. Diets were comprised of maize and soy meal, and formulated with equal metabolizable energy. The experimental diet was supplemented with essential amino acids to compensate for the reduced CP content in conformance with nutrition compositions specified in the native chicken manual. Chickens were fed and watered ad libitum from 12 to 20 weeks of age. Body weight, feed intake, feed conversion ratio (FCR), and fecal composition were recorded, with estimation of nitrous oxide (N₂O) emissions. Results indicated that reducing dietary CP by 2% did not significantly affect market body weight at 20 weeks. Results showed that reducing 2% crude protein in feeds did not affect the market weight of native chickens at 20 weeks while the male chickens showed a significantly improved FCR ($P < 0.05$). The female chickens did not show significant difference in the average daily food intake and weight change, in spite of the slightly light weight. In the low CP group, nitrogen content in the excreta of male and female chickens decreased by 4.7 and 5.2%, respectively, compared to the control group. Moisture content was also down by 3.5% in males and 3.0% in females, indicating that reducing dietary CP levels can enhance nitrogen utilization efficiency and improve litter moisture conditions. Reducing dietary CP from 15 to 13% resulted in a 23.7% reduction in N₂O emissions during composting of manure from female native chickens. During the late rearing period, N₂O emissions were estimated to be reduced by 0.013 g and 0.22 g for each male and female chickens, respectively—equivalent to 0.0036 kg and 0.060 kg of CO₂-equivalent (CO₂e). In conclusion, a 2% reduction in dietary CP, with appropriate amino acid supplementation, can maintain growth performance in native chickens, improve feed efficiency, and reduce nitrogen excretion and greenhouse gas emissions. These findings demonstrate practical applicability and policy relevance, providing a scientific basis for promoting low-carbon livestock production and updating national feed standards in Taiwan.

Key words: Native chicken, Low crude protein diet, Growth performance and Nitrogen emissions.

(1) Contribution No. 2838 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Eastern Reigion Branch, MOA-TLRI, Ilan 268, Taiwan, R. O. C.

(3) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, Tainan, 712, Taiwan, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: yeoovm@mail.tlri.gov.tw.

自動電動化與傳統柴油 TMR 餵飼系統對酪農場 經營成本之影響⁽¹⁾

陳怡璇⁽²⁾ 施意敏⁽³⁾ 陳玥彤⁽²⁾ 楊明桂⁽²⁾ 蕭振文⁽²⁾ 黃明雅⁽⁴⁾ 涂柏安⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：114 年 6 月 3 日；接受日期：114 年 9 月 8 日

摘 要

隨著勞動力短缺與節能減碳政策推動，自動化餵飼系統逐漸成為酪農場管理的重要選項。本研究之目的在於評估自動電動化餵飼車與柴油餵飼車設備之各項作業成本。成本估算因其成本因子隨經濟條件和社會環境之不同而為一動態過程，此研究中所估算之作業成本並非絕對不變之計算值。本研究比較自動餵飼系統（自動電動化 TMR）與傳統柴油餵飼系統（車載式 / 曳引機 TMR）對酪農場經營成本的影響，研究採用作業成本分析與差異損益平衡分析方法，以「每 kg 飼料餵飼成本」作為分析單位，並以年餵飼量作為規模變數。成本項目包括折舊、利息、設備導入成本、牧場改建成本等固定成本，以及修理維護、油料 / 電費、工資、操作人數、操作時數、使用牛隻數等變動成本。資料來源為 2023 年對 3 間酪農場的調查，包含設備導入成本、牧場改建、維護費、能源成本及人力成本等實際數據。研究發現，自動餵飼系統因設備及場地改建而有較高的固定成本，但其變動成本相對較低，且因少量多餐的餵飼模式能帶來額外乳量增益（預設每頭乳牛平均日生產 25 kg，估計增加 5% 產乳量）。透過差異損益平衡分析，本研究計算出使兩系統年總成本達損益平衡的臨界年餵飼量。結果顯示，當實際餵飼量達到或超過臨界規模時，自動餵飼系統的淨單位成本（考量乳量增益後）顯著低於傳統系統的原始單位成本。當泌乳牛數超過 200 頭，自動化餵飼系統具有節省人力工時與乳量提升效益的優勢，這意味著，對於達到一定規模的酪農場，考量乳量增益後的自動系統淨單位成本將會低於傳統系統的原始單位成本。

關鍵詞：規模經濟分析、經營成本、自動化、差異損益平衡分析。

緒 言

在全球農業生產日益精緻化與規模化的趨勢下，如何有效降低生產成本、提升經營效益，已成為維持農業競爭力的關鍵課題。特別是在畜牧業，飼養成本占總生產成本的 60% (Becker, 2008)，另外根據農業部 113 年農業統計年報的主要畜禽產品生產費用與收益分析表示，牛乳生產 45 萬公噸，生產費用總計 216,301 元，依每頭主產物產量 8,202 公斤來計算，每公噸生產成本約 2.64 萬元。其中飼料費為 135,954 元，占比達 62.8%，占比極高，而飼料的調配與餵飼是其中的重要環節。傳統完全混合日糧 (Total Mixed Ration, TMR) 餵飼系統通常仰賴車載式或曳引機搭配攪拌機與飼料車，涉及較多的人工操作與柴油消耗。隨著科技進步，農機具的發展為改善餵飼效率提供了多種可能性，其中自動電動化餵飼系統與傳統柴油 TMR 餵飼車是目前常見的兩種技術路線。

根據智慧養牛產業技術資料庫 (2020/8; <https://www.angrin.tlri.gov.tw/smartdairy/index.html>)，智慧養牛係指運用自動化與資訊化設備提升牛隻管理效率與飼養精準度。智慧養牛之每日餵養牛隻動線中，約有 13 間國際廠牌具有相關設備，包含 BouMatic、Dairymaster、DeLaval、Fullwood、GEA、Hetwin、JOZ、LELY、Lucasg、Nedap、TRIOLIET、Valmetal、Wasserbauer 及 LucasG 等，分別來自荷蘭、德國、美國、英國、瑞典、法國、奧地利、加拿

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2839 號。
(2) 農業部畜產試驗所北區分所。
(3) 農業部畜產試驗所技術服務組。
(4) 農業部科技司研究發展科。
(5) 通訊作者，E-mail: tpa@mail.tlri.gov.tw。

大等國家。相關設備包含自動餵飼系統，牧場可依分群飼養牛群的營養需求及飼養頭數，以程式控制的方式進行配料設計 (Pavkin *et al.*, 2021)。目前國內已由國外引進多款自動餵飼系統，自動餵飼系統將可使飼主更有效地飼養動物，透過自動推料、多餐餵飼，進而提高採食量及乳產量，並促進乳牛健康和動物福利 (田等, 2021; 林等, 2021)。

然而，國內導入自動餵飼系統之牧場仍以中大型酪農場為主，主要受到初期投資成本與場區改建限制所影響，酪農業導入自動化設備之最大挑戰即如何解決成本昂貴問題。不同的餵飼系統在初始投資、操作成本結構以及最佳適用規模等方面存在差異。因此，深入分析與比較不同餵飼系統的經濟效益與作業效率，對於協助農民做出客觀的投資決策、最佳化生產管理具有重要的學術價值與實務意義。

本研究分析餵飼車設備於酪農業中 TMR 餵飼作業之使用成本，探討年餵飼量、設備維修、場地改建費、人工成本與能源消耗等因子，對於作業成本之影響。由於成本估計為一動態過程，許多成本條件隨經濟條件和社會環境而改變，因此本研究之目的不在於探求絕對不變之設備作業成本，而是在於推導研究合理之成本估算方式，以提供具體的成本數據與效益評估，以期為臺灣酪農業者在選擇餵飼系統時提供科學參考，作為餵飼設備自動化經營與規模調整之參考。

材料與方法

I. 研究設計與比較對象

本研究採作業成本分析 (operating-cost analysis) 與差異損益平衡分析 (differential break-even analysis)，比較自動餵飼系統 (電動自走式全程 TMR 自動配料、攪拌與定時下料) 與傳統餵飼系統 (車載式 / 曳引機 TMR 攪拌機與人工配料與下料) 之差異。分析單位為「每 kg 泌乳牛 TMR 餵飼成本 (新臺幣 TWD/年)」，並以年泌乳牛 TMR 餵飼量 (kg/年) 為規模變數。乳量提升效益僅計入自動系統，以反應其可能的生產面收益。

II. 成本項目構成與估算方法

本研究依據農業作業成本分析原則，將成本區分為固定成本 (fixed costs) 與變動成本 (variable costs) 兩大類 (陳及賴, 1989)，在固定成本部分，包含折舊 (depreciation) 與利息 (interest)。變動成本部分，自動餵飼系統主要包含修理費 (repairs)、年電費 (annual electricity cost) 與年人工費 (annual labor cost)；傳統系統則包含修理費、年燃料費 (annual fuel cost) 與年人工費 (annual labor cost)。餵飼規模依照牛隻飼養頭數與每日採食量估算全年之 TMR 基礎餵飼量 (basic feed amount)，進一步考量牧場實測之飼料損耗率，轉換為 TMR 有效餵飼量 (effective feed amount)。將固定與變動成本除以餵飼量後，即可計算出各系統之 TMR 原始單位成本 (original unit cost)。此外，本研究考量自動餵飼系統所帶來之乳量提升所創造之額外收益。依據文獻 (Bava *et al.*, 2012) 及本研究設定，自動餵飼可提升泌乳量約 5%，以乳量增益 (milk yield gain) 乘以生乳價格 (農業部, 2024 年訂為 28 元/kg) 後，從原始單位成本中扣除，得出實際的 TMR 淨單位成本 (net unit cost)。最後，採用差異損益平衡點 (differential break-even point) 方法，計算在考量乳量收益與變動成本差異後，兩系統年度總成本持平所需之 TMR 臨界年餵飼量 (X)，以評估電動系統投資之規模門檻與經濟可行性。本研究每年 TMR 作業成本與相關成本項目計算方式分述如表 1。

III. 參數設定與資料來源說明

本研究資料來自 2023 年對三間酪農場之設備調查與成本紀錄，其中包含 2 場天車型自動電動化餵飼系統，為了避免不同自動餵飼系統模式影響分析，本研究僅先針對天車型自動餵飼系統進行分析，且設備已運行滿一年以上，確保操作流程及人員配合度已趨於穩定，可避免初期適應期對數據造成干擾。資料記錄酪農場實際數據，包括設備導入成本、牧場改建成本、維護修理費用、電(油)耗能源成本、人力成本、設備型號、實際使用牛隻數、操作時數等，資料具完整性，可支持本研究的成本效益分析與參數校正。

- (i) 牧場規模：自動化餵飼包含一場泌乳牛數約 100 – 110 頭，另一場約 210 – 220 頭，設備導入與牧場改建成本約 1,200 萬元；傳統餵飼系統則為一場採用柴油 TMR 車餵飼系統之牧場，泌乳牛數約 55 – 65 頭，設備導入成本約 180 萬元，並各別根據公式 (1) 進行折舊成本計算。另洽原廠了解本次調查之自動餵飼設備，容量為 3.5 立方公尺，設定之適用隻數為 500 頭以下牛群，故本試驗模擬 500 頭與 1,000 頭，評估 1 – 2 台自動餵飼設備之情境。故本試驗牧場規模設定為 60、100、200、300、500、1,000 頭進行評估。
- (ii) 利息費用：根據 107 年發布之配合新農業政策推動放寬專案農貸規定 (農業金融署, 2018)，農機貸款利息設定為 0.79%。

表 1. TMR 年作業成本與相關成本項目計算方式

Table 1. Calculation method of annual TMR operating cost and related cost items

Category	Formula	Symbols and units	Description
Depreciation	$D = \frac{P \times (1 - \alpha)}{N} \dots \dots (1)$	P = purchase and site renovation cost (TWD) α = salvage value rate (%) N = useful life (years)	N is based on the machine's service life as provided by the manufacturer. represents the ratio of salvage value at disposal to the purchase price, set at 10% based on agricultural machinery cost estimates in Taiwan (Chiang, 1931).
Interest	$I = \frac{P \times i \times (1 + \alpha)}{N} \dots \dots (2)$	i = Annual interest rate on capital (%)	i The annual interest rate is set at 0.79%, based on agricultural loan rates (Agricultural Finance Agency, 2018), using the average capital use method.
Repairs	$R = \frac{P \times CR}{N} \dots \dots (3)$	CR = Repair cost rate (%)	Based on survey data and literature, CR in this study is set between 15 – 45%.
Fixed costs	$F = D + I \dots \dots (4)$	TWD/year	Calculated according to the system type.
Variable costs	automated: $V_a = R_a + E_a + L_a \dots \dots (5)$ traditional: $V_t = R_t + F_u + L_t \dots \dots (6)$	Ea = Annual electricity cost Fu = Annual fuel cost L = Annual labor cost	Energy unit prices are based on Taiwan's average electricity and diesel prices in 2025; labor cost is based on dairy farm wage surveys.
Basic feed amount	$B = n \times f \times 365$	n = Number of milking cows on the farm f = Daily feed intake (kg/head)	Estimated over 365 days per year.
Effective feed amount	$B_{\text{eff}} = \frac{B}{1 - \text{loss}} \dots \dots (8)$	B = Base feeding amount loss = Feed loss rate (%)	To estimate the effective annual feed amount after accounting for losses, the feed loss rate is based on actual farm measurements.
Variable unit cost	$V' = \frac{V}{B_{\text{eff}}} \dots \dots (9)$	TWD/kg	
Original unit cost	$C_{\text{orig}} = \frac{F}{B} + V' \dots \dots (10)$	TWD/kg	
Unit milk production operating costs	automated: $M_a = \frac{V_a}{n \times 25 \times 1.05 \times 365} \dots \dots (11)$ traditional: $M_t = \frac{V_t}{n \times 25 \times 365} \dots \dots (12)$	n = Number of milking cows on the farm TWD/kg	The automatic feeding system is estimated to increase milk yield by 5%. Average daily production: 25 kg/head

表 1. TMR 年作業成本與相關成本項目計算方式 (續)

Table 1. Calculation method of annual TMR operating cost and related cost items (continued)

Category	Formula	Symbols and units	Description
Milk yield gain	$\text{rev}_{\text{kg}} = \frac{m \times r \times n \times p}{f} \dots\dots(13)$	<p>m = Daily milk yield (kg/head)</p> <p>r = Milk yield increase rate (%)</p> <p>n = Number of milking cows on the farm</p> <p>p = Raw milk price (TWD/kg)</p> <p>f = Daily feed intake (kg/head)</p>	<p>the automatic feeding system is estimated to increase milk yield by 5%. The raw milk price is set at TWD 28/kg (Ministry of Agriculture, 2024).</p>
Net unit cost	$C_{\text{adj}} = C_{\text{orig}} - \text{rev}_{\text{milk}} \dots\dots(14)$	TWD/kg	Calculated only for the automatic feeding system.
Differential break-even point	$X = \frac{F_a - F_t}{\text{rev}_{\text{kg}} + V_t - V_a} \dots\dots(15)$	kg/year	

- (iii) 維護修理費用：依調查研究中，本土農機具第一年之修理費用為其購買價格的 10% (江, 1931)。另根據 2006 年 ASABE 資料，曳引機估計到達堪用年限時，預期累積的維修總成本占列表價格的 100%。由於農機具修理費用相關文獻較少，本研究以評估實際之使用年限，自動餵飼系統之維護成本數據，係洽詢牧場主人及原廠得知，一台 (適用 500 頭以下牛群) 每年設備維護與修理成本約為新台幣 100,000 – 180,000 元，若配置兩台設備則初估為 240,000 元，分別計算維護修理 (CR) 為 15 與 20%。傳統柴油 TMR 餵飼系統並無簽約定期保養，依牧場主人提供之實際維修支出約 36,000 元 / 年計算 CR 為 20%，並依據設備使用時數進行推估。上述維護成本均為本研究作業成本分析之參數依據，本研究 CR 範圍為 15 至 45%。
- (iv) 能源與人工費用：產業用電均價為 4.29 TWD kW/h (經濟部, 2024)，農業動力用電補助暫不列入計算。柴油依目前均價設定為 28 TWD/L。農場每位人工費依調查設定為 200 TWD/h；本研究已依據牧場場主與原廠調查與規格，傳統餵飼系統配料過程需人工以鏟裝機補草補料、TMR 攪拌混合 (配置 1,200 kg 濕基約需 40 – 60 分鐘)、送料至各泌乳群，一般一天餵飼兩次；自動餵飼系統需人工 1 – 2 小時進行補草補料動作，其餘皆由自動餵飼設備處理，一般一天餵飼三次以上。不論何種系統，若採用國產乾草，則需增加人工細切工時 (細切 200 – 250 kg 國產盤固乾草約需 15 – 30 分鐘)。鏟裝機操作人員視為 TMR 作業人員，固定成本、維護修理費與柴油費未納入，因其用途多元 (如清潔與載運)，難以單獨歸屬餵飼成本，以維持比較上的一致性。本研究中，自動餵飼系統預設情境為一天餵飼六次，牛群依乳量分 2 – 3 群，需 1 名人工 1 – 2 小時進行補草補料動作，其餘由自動餵飼設備處理；傳統餵飼系統之工時依據不同飼養規模進行加成，1 工預設情境為一天餵飼兩次，牛群未分群；傳統餵飼系統中 2 工預設情境為一天餵飼兩次，牛群依乳量分 2 – 3 群，
- (v) 乳牛生產參數：依我國畜禽統計調查結果顯示，2024 年底我國共飼養約含 5.9 萬頭泌乳牛，共生產約 45 萬公噸生乳 (農業部, 2024)，以每頭牛胎次為 305 天泌乳天數計算，平均每日生產 25 kg / 頭，預估乾物質採食量約為 17.5 kg，假設 TMR 乾物質為 50%，每頭牛需採食 TMR 35 kg / 日 (濕基)。
- (vi) 飼料損耗率：自動系統 3%，傳統系統 6% (於 2023 年 3 月牧場監測平均)。
- (vii) 乳量增益：自動餵飼作業少量多餐餵飼牛隻，較傳統餵飼增加乳量約 2.1 – 7.6% (Bava *et al.*, 2012)，本研究取其平均值，預估自動餵飼可多增加 5% 產乳量。

IV. 差異損益平衡點 (differential break-even point, DBEP) 定義與推導邏輯

差異損益平衡點 (differential break-even point, DBEP) 分析的結果是比較兩個方案下的總利潤差異，來決定哪個方案更有利，即尋找使差異利潤為正的方案 (Lanen *et al.*, 2008; Kinney and Raiborn, 2011)。本研究為在同一牧場情境下，投資自動餵飼系統與維持傳統餵飼系統的差額決策，核心在於判定「飼養規模 β 是否足以攤提自動系統較高的固定投入，並利用其乳量提升效益抵銷較高或相同的變動成本支出」。因此本研究採用差異損益平衡點，以下簡稱臨界規模 X ，定義為使兩系統年總成本相等的最小泌乳牛 TMR 年餵飼量 (kg / 年)。

V. 計算邏輯與比較策略

若實際規模 $\beta \geq X$ ，則比較自動餵飼系統之淨單位成本 (C_{adj}) 與傳統餵飼系統之單位成本 (C_{orig})；若實際規模 $\beta < X$ ，則比較兩系統原始單位成本 (C_{orig})。

結 果

本研究採用作業成本分析與差異損益平衡分析方法，針對不同泌乳牛飼養頭數 (60、100、200、300、500、1,000 頭) 情境，比較自動電動化餵飼系統與傳統柴油 TMR 餵飼系統 (考量 1 工與 2 工配置) 的經營成本差異。成本構成主要區分為固定成本與變動成本。

I. 成本結構比較

成本比較結果彙整於表 2，自動電動化餵飼系統的主要成本特徵是具有極高的固定成本，均為 1,132,140 元 (折舊費 D 1,080,000 + 利息 I 52,140)，遠高於傳統餵飼系統的固定成本，無論 1 工或 2 工，即 169,821 元 (折舊費 D 162,000 + 利息 I 7,821)。這反映了自動化系統在設備導入和場地改建方面較高的初期投資。變動成本方面，包括維護修理、燃料與人工，在各飼養規模下通常高於自動系統，尤其是在較低的飼養頭數時。例如，在 60 頭規模下，傳統系統 (1 工) 的變動成本為 229,500 元 (維護修理費 R 36,000 + 油料費 F 84,000 + 人工費 L 109,500)，傳統系統 (2 工) 為 469,000 元 (維護修理費 R 36,000 + 油料費 F 168,000 + 人工費 L 292,000)，而自動系統僅為 287,320 元 (維護修理費 R 180,000 + 電費 F 34,320 + 人工費 L 73,000)。然而，隨著規模擴大，自動

系統的變動成本雖有增加，但與傳統系統（尤其是 2 工配置）的變動成本差距縮小，甚至在高規模下（如 1,000 頭）變動成本仍低於傳統系統。圖 1 顯示，自動系統變動成本則較低，且年變動成本從 287,320 元（60 頭，維護修理費 R 180,000 + 電費 F 34,320 + 人工費 L 73,000）隨飼養規模增加至 872,180 元（1,000 頭，維護修理費 R 400,000 + 電費 F 180,180 + 人工費 L 292,000），增幅相對傳統系統緩和。在不同規模下的實際配料重量、單次作業時間、餵飼次數、分群方式（低、中、高乳量群）、畜舍動線規劃等，都會造成工時與人力變動的情境。例如：60 頭牛一天餵飼兩次，每日約需 2.0 – 3.0 時，配料程序包含：切草（若使用國產牧草）、補料、TMR 機攪拌混合、送料，若依乳量分群為 2 – 3 群，每日工時約增加至 4 – 9 小時，可能需 2 人；1,000 頭牛情境若配置足夠台數之自動餵飼設備（1 – 2 台，容量各 3.5 m³），可由 1 名人員完成切草與補料作業。當飼養規模增加至 500 頭時，傳統系統每位作業人員的每日工時將超過 12 小時，在現實情況下這並不可行，除非增加人力以符合每日工時限制。相對地，傳統系統因依賴柴油與人工操作，變動成本隨飼養頭數大幅度增加，尤其在配置兩名工人情況下（如 1,000 頭飼養），這反映了傳統系統在人工與燃料方面的消耗，藉由圖 1 清楚發現兩餵飼系統的成本結構差異。

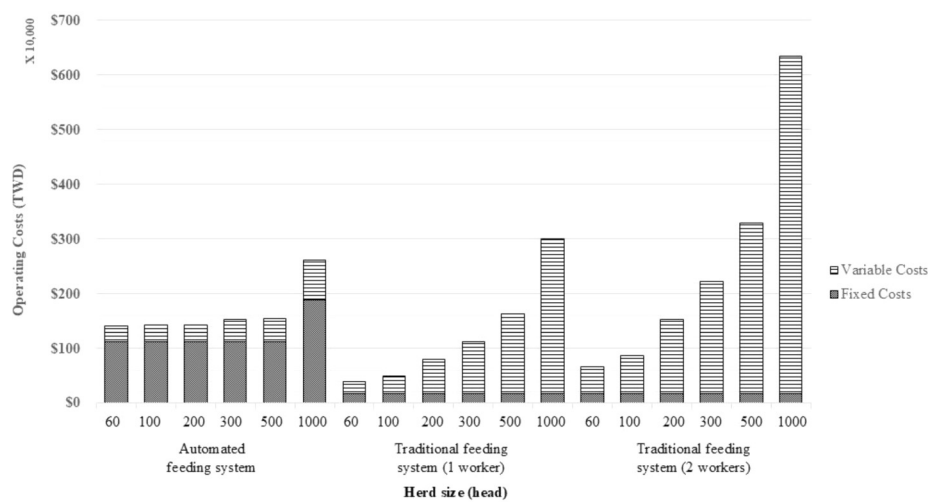


圖 1. 不同畜群規模的自動和傳統餵飼系統的固定和變動成本比較。

Fig. 1. Comparison of fixed and variable costs between automated and traditional feeding systems at different herd sizes.

II. 作業成本分析

在原始單位成本 (C_{orig}) 方面，由於自動系統的高固定成本，在飼養規模較小（如 60 頭）時，其 TMR 原始單位成本 (1.84 TWD/kg) 顯著高於傳統系統 (1 工：0.50 TWD/kg；2 工：0.83 TWD/kg)。然而，隨著飼養規模的擴大，自動系統的單位固定成本因年餵飼量增加而被有效分攤，使得其原始單位成本迅速下降。例如，在 500 頭規模下，自動系統的原始單位成本 (0.24 TWD/kg) 已等於或低於傳統系統 (1 工：0.24 TWD/kg；2 工：0.49 TWD/kg)。圖 2 比較不同規模下的單位乳量成本，結果顯示：在小型牧場（60 – 100 頭）中，自動系統的單位乳量成本高於傳統系統；當飼養頭數達 200 頭以上時，自動系統的單位乳量成本迅速下降，低於傳統 2 工配置的單位乳量 TMR 作業成本（自動 0.75 元/kg；傳統 2 工 0.84 元/kg）；規模達到 500 頭時，則已低於傳統 1 工配置的單位乳量 TMR 作業成本（自動 0.32 元/kg；傳統 1 工 0.36 元/kg）。

III. 額外產乳收益

乳量增益 (rev_{kg}) 是自動電動化餵飼系統獨有的效益，本研究預估可增加 5% 的產乳量，換算為每 kg 有效餵飼量的乳量增益為 1.0 元/kg。將此效益納入計算後，自動系統的 TMR 淨單位成本 (C_{adj}) 顯著低於其原始單位成本。在飼養規模達到 200 頭泌乳牛時，淨單位成本已降至 -0.44 TWD/kg，而在 1,000 頭泌乳牛規模時更降至 -0.79 TWD/kg（表 2），這表示透過乳量增益所帶來的額外收益，200 頭泌乳牛時已能完全抵銷甚至超越餵飼的總成本。此處負值表示自動餵飼所創造的乳量收益已抵銷其餵飼成本，不代表餵飼可無限獲利，而為相對成本收益衡量。相較之下，傳統系統因未計入此項效益，其單位成本保持為原始單位成本。

IV. 差異損益平衡點分析

差異損益平衡點分析旨在找出使兩系統年總成本相等的臨界年餵飼量（臨界規模 X）。根據表 2 數據計算，不同規模下的臨界規模 (X) 略有差異，落在約 68 至 150 萬 kg / 年之間。這意味著，當實際餵飼量達到或超過此

表 2. 自動化餵飼與傳統餵飼之成本比較

Table 2. Cost comparison of automated and traditional feeding systems

Herd size ¹	Feeding System	Fixed costs ² (F, TWD)	Variable costs ³ (V, TWD)	Operating costs (C, TWD)	Basic feed amount (B, kg/year)	Effective feed amount (B _{eff} , kg/year)	Original unit cost (C _{orig} , TWD/kg)	Net unit cost (C _{adj} , TWD/kg)	Differential break-even point (X, kg/year)	Milk yield gain ⁴ (rev/kg, TWD/kg)
60	Automated	1,132,140	287,320	1,419,460	766,500	790,206	1.84	0.84	1,048,337	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	229,500	399,321	766,500	815,426	0.50	—	1,048,337	0
	Traditional, 2 workers	169,821	496,000	665,821	766,500	815,426	0.83	—	773,089	0
100	Automated	1,132,140	291,610	1,423,750	1,277,500	1,317,010	1.11	0.11	941,818	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	330,500	500,321	1,277,500	1,359,043	0.38	—	941,818	0
	Traditional, 2 workers	169,821	698,000	867,821	1,277,500	1,359,043	0.65	—	744,726	0
200	Automated	1,132,140	304,480	1,436,620	2,555,000	2,634,021	0.56	-0.44	861,014	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	634,000	803,821	2,555,000	2,718,085	0.30	—	861,014	0
	Traditional, 2 workers	169,821	1,360,000	1,529,821	2,555,000	2,718,085	0.57	—	693,279	0
300	Automated	1,132,140	403,220	1,535,360	3,832,500	3,951,031	0.40	-0.60	851,539	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	946,500	1,116,321	3,832,500	4,077,128	0.28	—	851,539	0
	Traditional, 2 workers	169,821	2,049,000	2,218,821	3,832,500	4,077,128	0.55	—	687,123	0
500	Automated	1,132,140	416,090	1,548,230	6,387,500	6,585,052	0.24	-0.76	835,479	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	1,461,000	1,630,821	6,387,500	6,795,213	0.24	—	835,479	0
	Traditional, 2 workers	169,821	3,133,000	3,302,821	6,387,500	6,795,213	0.49	—	688,417	0
1,000	Automated	1,886,900	872,180	2,759,080	12,775,000	13,170,103	0.20	-0.79	1,502,493	1.0
	Traditional, 1 worker	169,821	2,841,000	3,010,821	12,775,000	13,590,426	0.22	—	1,502,493	0
	Traditional, 2 workers	169,821	6,185,000	6,354,821	12,775,000	13,590,426	0.47	—	1,236,309	0

¹ The number of herd size refers to the number of milking cows on the farm.

² Fixed costs = Depreciation (D) + Interest (I).

³ Variable costs = Repairs (R) + Electricity cost (Ea) / Fuel cost (FU) + Labor cost (L).

⁴ Milk yield gains are not included in the calculation for the traditional system.

臨界規模時，考量乳量增益後的自動系統淨單位成本 (C_{adj}) 將會低於傳統系統的原始單位成本 (C_{orig})。圖 3 分析自動與傳統餵飼系統 (1 工) 在飼養 200 頭泌乳牛規模下的差異損益平衡點。結果顯示，兩者的臨界年餵飼量 (臨界規模 X) 為 861,014 kg，低於該規模下的實際年餵飼量 ($B = 2,555,000$ kg/year，表 2)。進一步比較成本時，可發現自動餵飼系統之淨單位成本 (C_{adj} , -0.44) 低於傳統餵飼系統之單位成本 (C_{orig} , 0.30)，顯示自動餵飼系統在此規模下更具經濟效益。

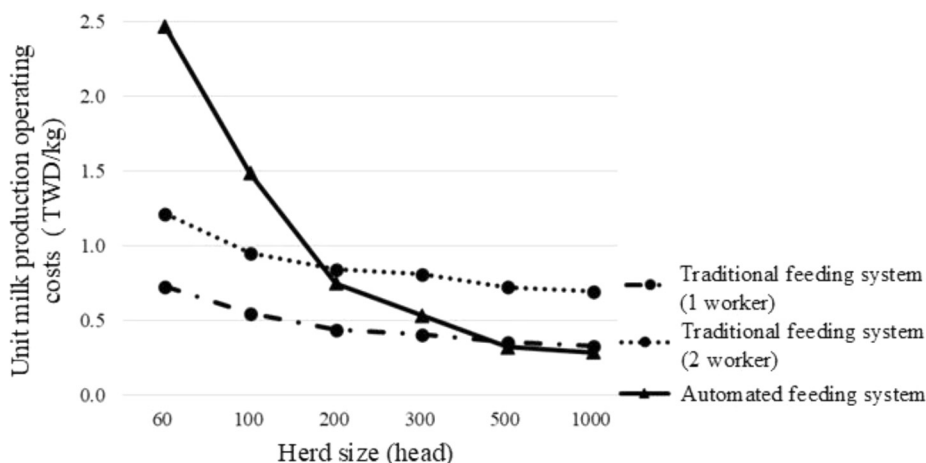


圖 2. 自動與傳統餵飼系統在不同畜群規模下的單位乳量之 TMR 作業成本比較

Fig. 2. Comparison of unit milk production operating costs between automated and traditional feeding systems across different herd sizes.

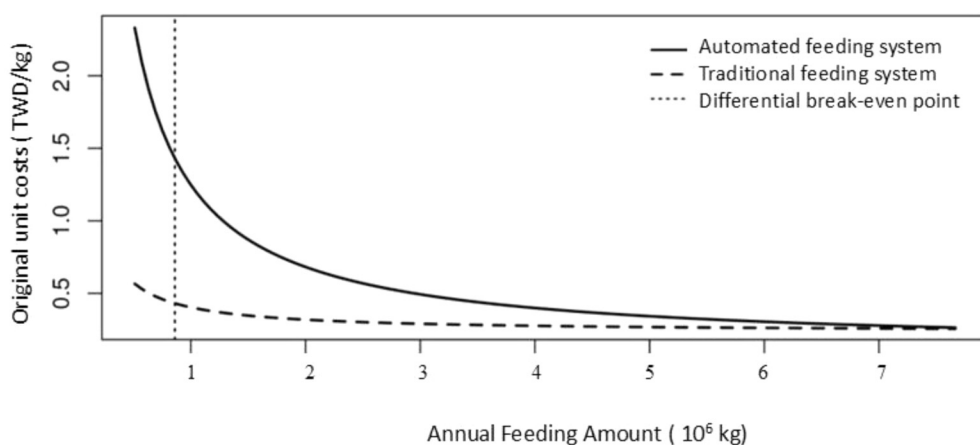


圖 3. 自動與傳統餵飼系統 (1 工) 在飼養 200 頭泌乳牛規模下的差異損益平衡點與規模經濟分析。

Fig. 3. Scale economy analysis and differential break-even point between automated and traditional feeding systems under the scenario of 200 lactating cows (1 worker).

討 論

依我國畜禽統計調查結果顯示，2024 年底我國計有 545 場乳牛戶，共飼養約 11.8 萬頭乳牛 (農業部，2024)，每戶平均為 108 頭泌乳牛。評估不同餵飼設備效益的關鍵影響因素，除飼養規模外，多項成本因子與作業效率亦顯著影響最終的成本效益。本研究選取了多個代表性飼養頭數作為分析情境，包括 60、100、200、300、500 和 1,000 泌乳牛頭數。在同一牧場情境下，研究使用「TMR 年餵飼量 (kg/年)」作為衡量規模的關鍵變數。此年餵飼量是根據預設的每頭牛每日採食量 (每日採食 TMR 35 kg 濕基計算) 和飼養頭數及天數 (一年 365 天) 估算得出的基礎餵飼量。考量到飼料損耗率 (自動系統 3%，傳統系統 6%)，進一步計算出有效餵飼量。透過分析不同規模下的成本數據，本研究旨在評估在特定飼養規模下，導入自動化餵飼系統是否能在成本效益上高於傳統系統，以下將針對各主要影響因素進行討論。

I. 飼養規模與經濟性之關聯

本研究結果顯示，飼養規模的大小直接影響了總固定成本的分攤效果以及總變動成本的多寡，進而成為影響 TMR 單位餵飼成本的關鍵主因。無論是自動或傳統餵飼系統，隨著泌乳牛飼養頭數從 60 頭增加到 1,000 頭，原始單位成本 (C_{orig}) 均呈現下降趨勢。惟自動化系統因固定成本高昂，需仰賴規模經濟效應攤提初期投資。直至飼養頭數達 200 頭以上，其乳量提升效益方能完全抵銷固定成本負擔 (C_{adj}, -0.44 TWD/kg)，這驗證了規模經濟效益的存在，並顯示長期投資回本仍需仰賴產乳效益的充分實現。對中大型 (300 頭) 及大型牧場 (500 頭) 而言，自動系統的原始單位成本已低於傳統系統需額外聘僱人工時 (如 2 工)，顯示其在高規模飼養下具備經濟競爭力。這是因為較大的飼養規模能有效分攤折舊與利息等固定成本，並進一步降低單位成本。圖 2 所示之「單位乳量之 TMR 作業成本」分析，提供酪農直觀比較不同系統與規模的經營差異，並簡化成本計算方式，方便應用於實務。隨著飼養規模的擴大，兩種餵飼系統的單位乳量作業成本皆呈現下降趨勢，反映了規模經濟效應對成本攤提的影響。在小規模 (如 60 頭) 情境下，自動化餵飼系統的成本高於傳統系統，主要因為其固定投資與維護費用較高，而變動成本節省不足以抵銷初期投入。然而，當規模擴大至 500 頭以上時，自動化系統的單位乳量成本顯著下降，並在 500 頭時已與傳統系統相當，在 1,000 頭時甚至低於傳統系統，顯示其在中大型規模下具備成本競爭力。傳統系統在不同人力配置下的成本差異亦十分明顯。在相同飼養規模下，配置兩名工人的單位乳量成本顯著高於一名工人，且於飼養規模 200 頭時，單位乳量作業成本已高於自動餵飼系統，顯示人工費用是影響傳統系統競爭力的關鍵因素。然而，於大規模情境 (如 500 頭以上) 時，若僅配置一名工人，實際每日工時可能超過勞動法規限制，需額外聘用人員以分擔工作量，因此圖示之最低成本應視為理想化情境，實際成本可能更高。由於每場的泌乳牛、乾乳牛與後備牛比例懸殊，直接影響成本結構，且泌乳牛為主要營收來源，故以泌乳牛成本與全場飼養設備的分攤效應為主。

II. 成本結構差異

成本結構的差異是影響其在不同規模下總成本表現的關鍵，從成本結構來看，農機具的年作業成本包含固定成本 (折舊費、利息) 和變動成本 (修理維護、油電料費、勞力費) (陳及賴, 1989)。圖 1 呈現出自動化系統高固定成本、低變動成本的結構特性，以及傳統系統低固定成本、高變動成本的結構特性。綜合本研究圖 1 與圖 2，可以得出結論：自動餵飼系統因其高固定成本結構，在低飼養規模下原始單位成本較高，但隨著規模擴大，其固定成本被較高餵飼量攤提，變動成本低的優勢顯現，導致其原始單位成本迅速下降，並在飼養規模達到 500 頭以上，等於傳統系統 1 工，自動餵飼系統低於傳統系統的主要優勢來自變動成本中人工費的降低，其他成本項在高規模下因固定成本攤提亦具競爭力，圖 1 解釋了成本結構差異，為後續評估導入自動系統是否符合成本效益提供了直觀的依據。

(i) 人工成本

人工成本為兩種餵飼系統成本差異的重要來源之一，本段將說明隨飼養規模變化對人工投入的影響。自動餵飼系統的主要挑戰在於其高昂的固定成本，導入自動化系統可能需要配合進行牧場的改建或特定的基礎建設，如裝設天車式軌道、埋設磁鐵導軌等，這些改建成本是設備導入總成本的一部分。而傳統柴油系統則是有占比較高的變動成本，特別是勞力成本。圖 1 顯示，傳統系統的變動成本會隨著規模增加而顯著上升，尤其是 2 工配置的傳統系統，其變動成本明顯高於 1 工配置的傳統系統，這是因為增加了額外的人工成本。傳統餵飼系統的每日作業依據飼養規模與管理不同決定人力與工時配置。以本研究調查數據為例，小型牧場 (60 頭泌乳牛) 操作傳統 TMR 車，一天餵飼兩次、未分群情況下，每日平均作業時間為 2 - 3 時，若依乳量分群為 2 - 3 群，每日工時約增加至 4 - 9 小時；中型牧場 (200 頭泌乳牛) 一天餵飼兩次、未分群情況下，則需 5 小時，若依乳量分群為 2 - 3 群，每日工時約增加至 12 - 15 小時。此時間包含餵飼前補料、裝料、行駛至牛舍及分配飼料等全流程作業，係由實地觀察與牧場紀錄計算平均值所得。相較之下，自動化餵飼系統每日僅需 1 名操作員負責管理與補料，小型牧場每日作業時間約 1.0 小時，中型與大型牧場則分別為 1.5 - 2.0 時，顯著低於傳統系統，這種工時差異直接反映在人力變動成本上。此一差異與目前臺灣酪農業勞動環境密切相關。由於近年酪農業普遍面臨人力短缺困境，加上我國勞動法規對農場勞工每日工作時數與加班有嚴格限制，傳統餵飼系統在進行飼料配料與分送時，往往需配置一至兩位人力全天操作，對人工依賴程度極高。

相對地，自動化餵飼系統採用預設程式控制，可於固定時間自動配料、攪拌與下料，顯著降低日常作業所需之人力資源。根據本研究調查結果，即使是中大型規模牧場 (如飼養 500 至 1,000 頭泌乳牛)，僅需 1 名操作人員即可維持系統運行。此外，相較於傳統 TMR 攪拌與飼料車操作需仰賴具農機駕駛之技術人員，自動電動化餵飼系統的操作介面簡易、學習門檻低，即使是新進或非農業背景人員亦可在短時間內上

手，此一特性有助於未來農場人力的彈性配置與人事成本控管。

(ii) 維修成本

本研究針對兩種系統之實際維護成本進行現場調查，結果顯示，自動化餵飼系統牧場在泌乳牛數 100 – 110 頭及 210 – 220 頭之規模下，每年設備維護與修理成本分別約為 100,000 元與 180,000 元，支出內容包含例行性保養、零件更換及檢修等。相比之下，傳統 TMR 餵飼系統於泌乳牛數 55 – 65 頭之規模下，每年維修成本約 36,000 元，主要支出項目包括內外胎更換、保養、零件更換與檢修等。此資料顯示，自動化系統雖具備節省人力的優勢，但在維護成本上相對高於傳統系統，應納入經濟效益評估中一併考量。

III. 額外產乳收益的實質價值

長期的效益評估應考慮設備的使用年限與殘值，以及未來成本與相關收益的折現價值，同時需考慮資金的時間價值、通貨膨脹以及稅務因素，折舊方法、利率、稅率等都會影響最終的成本計算 (Kastens, 1997)；研究顯示，導入自動餵飼設備，如自動推料與多餐餵飼，可透過持續提供新鮮 TMR 與飼料來刺激牛隻的進食慾望 (DeVries and von Keyserlingk, 2005)。提高餵食頻率能促使牛隻在一天中更均勻分布採食行為，有助於改善瘤胃 pH 值 (Mäntysaari *et al.*, 2006; Romano *et al.*, 2023)，同時也能避免在短時間內攝入過量可發酵碳水化合物，降低亞急性瘤胃酸中毒 (subacute ruminal acidosis) 風險，進而對泌乳牛健康產生正面影響 (Mäntysaari *et al.*, 2006; Macmillan *et al.*, 2017)。此外，自動餵飼設備可實現日糧的多次分配，使牛隻在全天能更均勻地採食 (Phillips and Rind, 2001)，而這種更穩定的採食行為，可能間接支持泌乳表現 (Romano *et al.*, 2023)。根據 Bava 等人 (2012) 的研究，在傳統擠乳系統中，增加餵食頻率可使泌乳量提升 2.1 至 7.6%。根據本研究設定，乳量可提升約 5%，這項乳量增益被量化為「元 / kg」，表示每 kg 飼料因乳量增加而帶來的額外生乳收益。在目前每 kg 生乳價格為 28 元的市場下，估算每 kg 飼料可額外創造 1.05 元的產乳收益，自動系統潛在的乳量效益 (rev_{kg}) 對其成本競爭力具有決定性影響。將乳量增益轉化為每 kg TMR 的收益後，自動系統的淨單位成本 (C_{adj}) 大幅降低，甚至變為負值，表示每 kg TMR 可帶來淨收益。這使得自動系統在達到一定的臨界規模 (X) 後，相較於傳統系統在單位成本上更具優勢，有助於抵銷自動系統較高的固定成本投入。

IV. 政府補助政策

本研究自動餵飼系統的固成本為未扣除政府補助額度，政府提供的補助將直接使固定成本下降。農業部自 2017 年起補助國內酪農導入自動化省工設備，並於同年引進「智慧型推草餵牛機器人」，至 2020 年全臺推草機器人數量已達到 56 臺，亦有牧場導入「推草料暨精料餵料機器人」、「自動配料及餵飼機器人」等。2022 年持續進行草食家畜產業畜牧場導入自動化及省工設備補助，其中，補助乳牛場多功能智慧型自動推料機共 10 臺。根據農業部公布之「114 年度草食家畜畜牧場導入淨零智慧循環永續設備補助說明」中，針對「牛場自動餵飼系統 (全自動餵飼機器人)」每場補助比率上限 50%，金額上限為 500 萬元 / 場，至於「完全飼糧混合設備」則是每場補助比率上限 33%，金額上限為 50 萬元 / 場。政府提供的補助能有效降低酪農導入自動化設備的初期投資門檻，補助比率上限和金額上限直接影響設備的實際購買價格，進而降低固定成本，提高導入意願與效益。建議政策規劃可納入分級補助，針對牧場規模設立不同的補助比例，例如 泌乳牛 200 頭以下提供中等補助比例，200 頭以上提高補助比例，以鼓勵規模適合的牧場導入自動化餵飼系統，確保設備效益最大化。

V. 單位作業成本與差異損益平衡點分析

本研究中具體計算了兩系統的固定成本 (F) 和變動成本 (V)，並將兩者加總得出年度作業成本 (C)。成本項目的計算方法詳細定義了折舊、利息、修理費用、能源 (電 / 油) 和人工費的計算方式和依據。這些詳細的成本結構分析是進行後續損益平衡分析和單位成本比較的基礎。

損益平衡點 (break-even point, BEP) 是以單位數或金額計算時，總收入等於總成本時的生產水準 (Kinney and Raiborn, 2011)；差異損益平衡點 (DBEP) 是比較兩個方案下的總利潤差異，來決定哪個方案更有利，分析邏輯是尋找哪個方案能帶來更高的利潤；換句話說，找出使兩個方案利潤相等的點，即差異利潤為零的點 (Lanen *et al.*, 2008; Kinney and Raiborn, 2011)。為了解投資自動餵飼系統與維持傳統餵飼系統何者較具經濟效益，本研究選擇以 DBEP 進行分析，而非使用常態的 BEP 評估。研究計算了原始單位成本 (C_{orig})，其公式為年度作業成本 (固定成本與變動成本之和) 除以有效年餵飼量。對於自動餵飼系統，由於考量了額外的產乳收益，研究還計算了淨單位成本 (C_{adj})，即原始單位成本減去每 kg TMR 帶來的額外產乳收益。透過比較兩系統在不同規模下的原始單位成本和自動系統的淨單位成本，可以更清晰地看出兩者在單位成本上的優劣勢，特別是在達到或超過 DBEP 之後。

本研究依據現場調查，自動化餵飼系統牧場的實際平均乳量高於 30 kg，在目前每公斤生乳價格為 28 元的

市場下，若以 100 頭泌乳牛規模試算，改以每頭牛每日生產 30 kg 為基準，可額外創造 1.2 元 / kg (rev_{kg}) 的產乳收益，使差異損益平衡點之臨界規模 (X) 降至 787,645 kg。進一步假設該場乳量可較傳統系統保守提升約 10%，則額外產乳收益將由原模型假設的 5% (1.2 元 / kg) 增至 2.4 元 / kg (rev_{kg})，臨界規模 (X) 將進一步降至 397,362 kg。此結果顯示，在乳價不變的情況下，乳量的高低與提升幅度對差異損益平衡點具有高度敏感性，乳量越高或提升幅度越大，自動化系統在經濟效益上的優勢愈顯著。

小規模飼養 60 – 100 頭泌乳牛時，因固定成本分攤效益有限，自動化的成本優勢不明顯，高於傳統系統。此時除非乳價高或整體乳量提升幅度較大，否則經濟誘因不足；顯示傳統系統在小規模與低工時配置下，人工成本比例低，反而能維持較低的總成本，但在擴張後人工成本迅速上升，削弱競爭力。隨著飼養規模與人力工時增大，綜合作業成本 (C)、乳量提升效益 (rev_{kg}) 與淨單位成本 (C_{adj})，在飼養規模 200 – 1000 頭泌乳牛時，乳量提升效益 (rev_{kg}) 進一步放大差距，使得自動餵飼系統的淨單位成本 (C_{adj}) 低於傳統系統；自動化在中大型規模下，固定成本被更多乳量攤平，較低的變動人工成本與乳量提升效益使其具有優勢。

綜上，DBEP 是較客觀更貼近成本之比較方式，其與飼養規模之關聯，可以發現小規模 (60 – 100 頭) 時，DBEP 介於 TMR 約 74 – 105 萬 kg / 年，顯示自動化要達成收支平衡需增加產量，對於低產能牧場挑戰大；中規模 (200 – 300 頭) 時，DBEP 下降至 69 – 86 萬 kg / 年，意味著隨規模擴大，自動化的固定成本負擔相對降低，盈虧平衡點較易達成。大型 (500 頭) 時，DBEP 進一步降至 83.5 萬 kg / 年，顯示規模經濟顯著發揮作用，但若需要引進多台自動餵飼設備，自動化的固定成本提高，DBEP 上升至 150 萬 kg / 年，顯示在較大規模下，如 1,000 頭，固定成本增加與產能利用率的平衡變得關鍵。DBEP 隨規模增加而下降，代表自動化在擴大規模時的經濟可行性提升。在任何規模下，考慮到自動系統的乳量增益效益後，其淨單位成本在較大飼養規模下甚至可能呈現負值，表明其在經濟效益上具有潛力。乳量提升效益的高低對 DBEP 影響顯著，若乳量提升幅度高於原設定之 5%，或場內平均乳量提高，DBEP 將大幅下降，經濟效益提高。

結 論

本土酪農經營已接近商業經營行為模式，利潤之獲得才是決定是否選用自動化之主要因素，設備的選用都應有成本分攤與效率評估的準則。國內酪農場在評估導入自動餵飼系統時，除了考慮其較高的初期投資，應聚焦於其在達到一定飼養規模後的經濟效益以及關鍵的額外產乳增益。本研究設定乳價為 28 元 / kg，平均乳產量為 25 kg / 頭 / 日，在泌乳牛數低於 200 頭且採單群飼養、每日餵飼頻率為 2 次以下等低工時配置且低人工成本比例條件下，傳統餵飼系統的攤提成本最低，較具經濟效益。然而，當泌乳牛數達到甚至超過 200 頭，或分群餵飼、每日餵飼頻率超過 2 次等條件下，自動化餵飼系統具有節省人力工時與乳量提升效益的優勢，且臨界年餵飼量明顯下降。在任何規模下，乳量提升效益的高低對臨界年餵飼量有明顯的影響，若乳量提升幅度高於 5%，或場內平均乳量提高，經濟效益將提高，故可視乳量改善效果再逐步擴大投入。若將政府補助納入考量，可降低自動化系統的初期固定成本支出與臨界年餵飼量，使得中小型酪農場提早達到成本效益平衡點，提升自動化導入之可行性。透過計算自身的預期年餵飼量並與臨界規模進行比較，酪農可判斷導入自動系統是否能在長期經營上帶來成本效益上的優勢。本研究提出以上建議，適用於不同規模的酪農場作為經營參考，以淨單位成本為比較基準，比作業成本更具積極含意，期為酪農在購置設備時提供決策參考。

致 謝

本研究承農業部之研究經費【114 農科 -10.1.3- 畜 -01】支持，北區分所農機庫陳偉珍提供試驗方面之協助，使試驗得以順利完成，特此誌謝。

參考文獻

- 田富洋、袁鑫、林雪彥、王中華、於鎮偉、宋占華、閻銀髮、閻振貴。2021。一種多功能螺旋推送式奶牛推料補飼機 (專利編號：CN113973734A)。
- 江榮吉。1931。臺灣農業機械化之經濟效益評估。單行本。臺灣大學農經系。

- 李盼、余祁暉、吳明哲。2019。全球智慧生乳產業代表性案例研究。智慧科技 57：21-33。
- 杜金池、梁連勝。1989。農試型落花生聯合收穫機之研究開發。臺灣農業 25(1)：47-51。
- 林月金、高德錚。2005。擴大經營規模降低產銷成本之個案研究。臺中區農業改良場特刊 279-297。
- 林正斌、程梅萍、王斌永。2021。智慧生乳產業機器人好幫手。農政與農情 351：36-41。
- 陳加忠、賴建洲。1989。雜糧收穫機械使用成本研究。中華農業研究 38(3)：374-384。
- 陳加忠。1933。稻作機械使用成本之研究。農業工程學報 29(4)：116-132。
- 陳加忠。1989。美國農機研究開發流程簡介。臺灣農業機械 4(1)：5-6。
- 經濟部。2024。新聞稿：民生電價凍漲 電價審議會決議產業電價平均漲幅 12.5% 並自 10 月 16 日實施。經濟部全球資訊網。 https://www.moea.gov.tw/MNS/populace/news/News.aspx?kind=1&menu_id=40&news_id=116090。
- 農業金融署。2018。配合新農業政策推動 放寬專案農貸規定。 <https://www.afna.gov.tw/view.php?theme=news&subtheme=news&id=373&print=Y>。
- 農業部。2024。113 年農業統計年報主要畜禽產品生產費用與收益 (113 年)。 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 農業部。2024。畜禽統計調查。 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- 農業機械委員會。1968。水田作機械化之全購連農業機械部。
- ASABE. 2006. Agricultural Machinery Management Data. ASABE D497.4, ASABE, St. Joseph, MI, USA.
- Bava, L., A. Tamburini, C. Penati, E. Riva, G. Mattachini, G. Provolo, and A. Sandrucci. 2012. Effects of feeding frequency and environmental conditions on dry matter intake, milk yield and behaviour of dairy cows milked in conventional or automated milking systems. *Ital. J. Anim. Sci.* 11(3): e42.
- Becker, G. S. 2008. Livestock Feed Costs: Concerns and Options. Congressional Research Service, Library of Congress, Washington, DC, USA.
- DeVries, T. J. and M. A. G. von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88: 625-631.
- Kastens, T. L. 1997. Farm Machinery Operation Cost Calculations. Kansas State Univ., Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Manhattan, KS, USA.
- Kinney, M. R. and C. A. Raiborn. 2011. Cost Accounting: Foundations and Evolutions. 8th ed. South-Western, Cengage Learning, Mason, OH, USA.
- Lanen, W. N., S. W. Anderson, and M. W. Maher. 2008. Differential analysis. In: *Fundamentals of Cost Accounting*. 3rd ed. McGraw-Hill/Irwin, New York, NY, USA. pp. 112-132.
- Lips, M. and F. Burose. 2012. Repair and maintenance costs for agricultural machines. *Int. J. Agric. Manage.* 1: 40-46.
- Macmillan, K., X. Gao, and M. Oba. 2017. Increased feeding frequency increased milk fat yield and may reduce the severity of subacute ruminal acidosis in higher-risk cows. *J. Dairy Sci.* 100: 1045-1054.
- Mäntysaari, P., H. Khalili, and J. Sariola. 2006. Effect of feeding frequency of a total mixed ration on the performance of high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 4312-4320.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. Ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Pavkin, D., D. Shilin, E. Nikitin, and I. Kiryushin. 2021. Designing and simulating the control process of a feed pusher robot used on a dairy farm. *Appl. Sci.* 11: 10665.
- Phillips, C. J. C. and M. I. Rind. 2001. The effects of frequency of feeding a total mixed ration on the production and behavior of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84(9): 1979-1987.
- Ridenour, H. E. and D. M. Byg. 1981. Combines and Combining. Ohio State Univ., Columbus, OH, USA.
- Romano, E., M. Brambilla, M. Cutini, S. Giovanazzo, A. Lazzari, A. Calcante, ... and A. Bragaglio. 2023. Increased cattle feeding precision from automated feeding systems: considerations on technology spread and farm level perceived advantages in Italy. *Animals* 13: 3382.

Evaluating the Economic Impact of Automated and Traditional Diesel TMR Feeding Systems on Dairy Farm Operations ⁽¹⁾

Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ Yih-Min Shy ⁽³⁾ Yueh-Tung Chen ⁽²⁾ Ming-Kuew Yang ⁽²⁾
Jen-Wen Shiau ⁽²⁾ Ming-Ya Huang ⁽⁴⁾ and Po-An Tu ^{(2) (5)}

Received: Jun. 3, 2025; Accepted: Sep. 8, 2025

Abstract

Following the shortage in labor force and promotion of energy-saving and carbon-reduction policies, automated feeding systems eventually become the key options for dairy farms. This study aimed to compare the economic impact of automated feeding systems (automated electric TMR) and traditional diesel feeding systems (tractor- or truck-mounted TMR) on dairy farm operational costs. As the underlying cost factors are subject to change with economic conditions and social environment, the cost estimates presented should be regarded as dynamic rather than absolute values. Two analytical approaches were employed: operating cost analysis and differential break-even analysis. The unit of comparison was defined as the “cost per kilogram of TMR,” with annual feed amount used as the scale variable. Cost components included fixed costs (including depreciation, interest, equipment installation costs, and barn renovation costs) and variable costs (including maintenance/repaid, fuel/electricity, labor, number of operators, operating hours, and number of cows used). Data were collected from the investigation on three dairy farms in 2023, incorporating actual cost records on equipment installation costs, barn renovation, maintenance, energy, and labor expenditures. Results showed that while the automated feeding system incurred higher fixed costs due to equipment and infrastructure renovation, its variable costs became relatively lower. Additionally, the system’s capacity to deliver multiple small meals per day contributed to an estimated 5% increase in milk yield (assuming each dairy cow produces 25 KG per day in average, increasing 5% of milk production). Using differential break-even analysis, the study calculated the critical annual feed amount at which the total yearly costs of both systems become equivalent. The results showed that, when the actual feed amount reached or exceeded this threshold, the net unit cost of the automated system (adjusted for milk yield gains) was significantly lower than the original unit cost of the traditional feeding system. When the number of lactating cows exceeds 200, the automated feeding system offers advantages in saving labor hours and improving milk yield. These findings suggest that for dairy farms operating at or above this scale, the net unit cost of the automated feeding system, when accounting for increased milk production, becomes lower than that of the traditional feeding system. The purpose of this study was to evaluate the operational costs of imported automated feeding systems versus traditional feeding equipment.

Key words: Scale economy analysis, Operational cost, Automated, Differential break-even analysis.

(1) Contribution No. 2839 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Sihoo, Miaoli 36848, Taiwan, R. O. C.

(3) Technical Service Division, MOA-TLRI, Hsinhua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Research and Development Section, Department of Agricultural Science and Technology, MOA, Zhongzheng Dist., Taipei, 100212, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: tpa@mail.tlri.gov.tw.

番鴨誘導多能性幹細胞株應用於水禽小病毒疫苗 生產之研究⁽¹⁾

劉振發⁽²⁾ 陳裕信⁽³⁾ 江兆弘⁽⁴⁾ 曲鳳翔⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：114 年 6 月 30 日；接受日期：114 年 9 月 8 日

摘 要

目前國內水禽小病毒疫苗生產使用番鴨胚蛋來進行，因此當發生全國性的疫情流行時，需要大量清淨的番鴨胚蛋來應急。但在禽流感暴發時，若生產胚蛋的番鴨受到侵襲，則胚蛋的來源將受到影響，故尋找替代的基質來生產疫苗將成為當務之急。本研究之目的是建立番鴨的誘導多能性幹細胞株 (induced pluripotent stem cells, iPSC)，後續再評估此細胞株用作為疫苗生產之潛力。研究結果顯示，番鴨誘導多能性幹細胞 (muscovy duck iPSC, MD-iPSC) 經水禽小病毒感染後回收細胞，以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 方式進行檢測，結果均呈陽性反應，證實可做為水禽小病毒宿主細胞。分析回收病毒的力價為 $10^{5.77}$ EID₅₀/mL，病毒液以福馬林去活化後注射到 64 週齡沒有染水禽小病毒的清淨鵝隻進行免疫測試，經 2 次免疫注射分析血液抗體可達 32 – 512 倍。顯示 MD-iPSC 可作為水禽小病毒宿主細胞及具疫苗生產的潛力。

關鍵詞：番鴨、誘導多能性幹細胞、疫苗。

緒 言

水禽小病毒由於對環境的抵抗力很強，即使以乙醚、氯仿、pH 3.0 酸處理、pH 10.0 鹼處理或在 65°C 維持 30 分鐘的環境下，病毒力價並不會降低 (Takehara *et al.*, 1994)，加上國際交通運輸日益便利，在 1978 年後包括英國、日本等地皆相繼爆發此疾病 (Takehara *et al.*, 1995)。水禽小病毒受感染的動物主要為 1 – 3 週齡的番鴨及鵝，惟對番鴨以外品種的鴨隻較無病原性 (Ji *et al.*, 2010)。臺灣則分別在 1982 年及 1989 年亦曾爆發二次流行，小鵝平均死亡率達 90% (張等, 1983)；小鴨致死率 67% (Lu *et al.*, 1993)，其常見臨床表現為生長遲緩、水樣腹瀉和高死亡率 (Jansson *et al.*, 2007; Woźniakowski *et al.*, 2012)，造成重大經濟損失。目前水禽小病毒疫苗則是利用 MD 番鴨胚蛋進行生產，番鴨是長光照繁殖的禽種，產蛋季節大致在每年的 5 月至 10 月，於非產蛋季節恐有胚蛋供應不足之慮。雖然於非產蛋季節可利用人工光照來調節，以持續供應疫苗生產所需之胚蛋，然而飼養於密閉式水簾鴨舍，會因不鏽鋼網狀高床致使鴨隻趾瘤症情形嚴重，造成的動物福祉問題。且以胚蛋來生產疫苗仍是有潛在風險。如一旦爆發禽流感，合格等級蛋源的取得極可能出現不足，以致影響到疫苗生產作業。因此發展細胞培養製程技術，是目前世界上公認的疫苗發展的最新趨勢。

建立合適的細胞株，是發展細胞培養製程技術進行疫苗生產的重要關鍵之一，近年來已有成功開發利用鴨幹細胞 (EB66 細胞株) 作為疫苗與蛋白質生產平台 (Olivier *et al.*, 2010)。本研究建立的番鴨誘導多能性幹細胞株 (MD-iPSC)，係利用特定的 LIN28、NANOG、SOX2、OCT3/4、KLF4 和 c-MYC 轉錄因子轉殖至 MD 番鴨胎體纖維母細胞使其產生再程序化而得。此細胞具有典型的幹細胞特性，包括表現 OCT4、SOX2、NANOG 等分化多能性基因及形成類胚體，本研究之目的為進一步評估 MD-iPSC 用作為疫苗生產之潛力。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2840 號。
(2) 農業部畜產試驗所遺傳生理組。
(3) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(4) 農業部畜產試驗所北區分所。
(5) 通訊作者，E-mail: fhchu@mail.tlri.gov.tw。

試驗材料與方法

本試驗動物免疫測試操作於畜試所北區分所試驗鵝舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容，經畜產試驗所北區分所實驗動物照護及使用小組以畜試竹動字 112-10 號核准。

I. 細胞培養

細胞株是源自 9 日齡之番鴨胚分離之纖維母細胞利用慢病毒 (Lentivirus) 轉染方式，將 LIN28、NANOG、SOX2、OCT3/4、KLF4 和 c-MYC 等轉錄因子轉染到番鴨胚纖維母細胞進行再程式化，以建立 MD-iPSC 細胞株，此細胞已被馴化成 2% 低血清需求，以含 2% FBS 及 2% antibiotic-antimycotic 的 DMEM 培養液，以及 38.5°C 及 5% CO₂ 之空氣的培養箱條件下培養，供生產水禽小病毒之增殖培養用 (劉等，2024)。

II. 水禽小病毒的增殖培養

病毒是使用水禽小病毒活毒疫苗 (動物製藥第 08212 號，家畜衛生試驗所，臺灣) 進行增殖培養。操作流程如下：

- (i) 將馴化後的 MD-iPSC (2.0×10^5 cell/mL) 置於 10 cm 培養皿 (Thermo Fisher, Nunclon Delta for adherent cells, Cat. No. 150464) 以 DMEM + 2% FBS 於 38.5°C 與含 5% CO₂ 之空氣的培養箱中培養 24 小時進行繼代，繼代培養 12 小時後再接種病毒。
- (ii) 將病毒調整為 $10^{1.5-102.5}$ TCID₅₀ / mL，取 500 μ L 輕輕滴入病毒培養皿進行病毒接種，並放置於 38.5°C 培養箱進行培養。
- (iii) 病毒接種後培養 36 – 72 小時，每天觀察細胞是否有發生細胞病變作用 (cytopathic effect, CPE) 或死亡的現象。

III. 病毒回收

當病毒感染細胞後產生 80 – 90% CPE 或死亡時，即將細胞及病毒刮下收集至 15 mL 離心管，以下列步驟進行病毒的回收：

- (i) 將大部分的培養液移除，僅留 2 – 3 mL 培養液在培養皿內。
- (ii) 以細胞刮杓刮下細胞 / 病毒混合物後，和剩下的培養液混合均勻。
- (iii) 將每個培養皿的細胞 / 病毒混合液從培養皿中吸出置於 15 mL 離心管中。以 -80°C 冷凍 / 37°C 解凍反覆進行 3 次後，以 805 xg 於 4°C 下進行離心 20 分鐘，收集上清液並分裝凍存於 -80°C 冰箱。

IV. 水禽小病毒檢測

利用病毒核酸萃取商業套組 (Xpress Virus DNA/RNA Kit, Cat# K1361-4, BioVision, Inc. USA) 將經水禽小病毒感染後回收的細胞進行 DNA 萃取，再以聚合酶連鎖反應方式進行檢測，針對水禽小病毒檢測所設計之引子：5'，-CCAAGCTACAACAACCACAT-3'，(sense) 和 5'，-TGAGCGAACATGCTATGGAAGG-3'，(antisense)。PCR 反應條件為：94°C，1 分鐘；之後進行 35 個 cycles 的 denature：94°C，15 秒；annealing：50°C，30 秒；extension：72°C，30 秒，接著 72°C，5 分鐘後進行 finalextension，維持在 4°C。若為陽性者經電泳分析則可擴增 1 段長度 539 bp DNA 片段 (Zádori *et al.*, 1995)。

V. EID₅₀ (50% embryo infective dose) 病毒力價分析

將病毒以序列稀釋的方法，接種於 96 孔細胞培養盤中之馴化後的 MD-iPSC，於 38.5°C 及 5% CO₂ 條件下培養 5 – 7 天，觀察是否有發生 CPE 並經由結晶紫 (crystal violet) 染色，來證實細胞受病毒感染的情形，以其最高具 50% CPE 的稀釋濃度決定 EID₅₀ 的效價。

選用 10 – 12 日齡水禽小病毒抗體陰性之 MD 正番鴨胚胎蛋，先利用燈光透視以鉛筆畫出氣室位置，並於胚胎對面無血管處進行標示，再拭以酒精進行消毒、打洞，再拭以酒精消毒，以 26 G/inch 長之針頭，採取與蛋平行方向插入 1/2 inch，將病毒液注入尿囊腔內 (圖 1)。病毒液以序列稀釋法稀釋成 $10^1 - 10^6$ ，再將不同稀釋的病毒液取 0.1 mL 分別接種五個水禽小病毒抗體陰性 10 – 12 日齡之 MD 正番鴨胚胎尿囊腔中，於接種後 7 天觀察胚胎是否有病變或死亡，並依 Reed and Muench (1938) 法計算病毒力價。

VI. 病毒的去活化

將上述增殖收集的病毒液，以最終濃度 0.02% 福馬林進行去活化處理 3 天 (林等，2005)，再將去活化處理後的病毒接種回細胞，觀察細胞是否有發生 CPE 或死亡的現象以確認是否完成去活化處理。

VII. 免疫測試

20 隻 64 週齡沒有染水禽小病毒的清淨鵝隻，其中 15 隻以 $10^{5.77}$ EID₅₀ / mL 的水禽小病毒去活化處理後作為抗原，再搭配親水性的乳化型免疫佐劑 (ImmunoFast™ Adjuvant, Energenesis Biomedical Co. Ltd., Taiwan) 混合。每隻雞免疫劑量之抗原與佐劑混合操作簡述如下，取 20 μL 的 Reagent 1 與 180 μL 抗原置於 2 mL 離心管進行預混合，再加入 300 μL 的 Reagent 2 混合，然後取 1.5 mL 注射筒搭配 26 號注射針以反覆吸放方式進行 5 分鐘，待抗原與佐劑完全乳化再進行免疫注射。5 隻對照組則以佐劑與 PBS 混合後進行注射，試驗期間共進行 2 次免疫注射，注射位置為胸部肌肉，注射量 0.5 mL / 隻。於第 1 次免疫注射，間隔 14 天再進行補強注射，並分別於第 1 次免疫注射前、補強注射前及補強注射後 14 天進行採血，供作免疫後抗體分析。

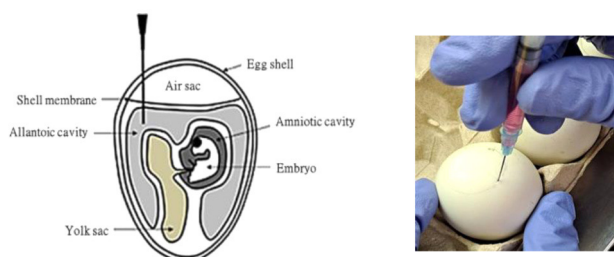


圖 1. 鴨胚蛋病毒液尿囊腔注射示意圖。

Fig. 1. Schematic diagram of injection of virus solution into the allantoic cavity of duck embryo eggs.

EID₅₀ 的效價計算方式 (Calculation of the index):

$$\text{Index} = (\% \text{ infected at dilution immediately above } 50\%) - 50\% / (\% \text{ infected at dilution immediately above } 50\%) - (\% \text{ infected at dilution immediately below } 50\%).$$

$$\text{Index} = (77\% - 50\%) \div (77\% - 42\%).$$

$$\text{Index} = 27 \div 35 = 0.77.$$

The index is then applied to the dilution that produces the percentage of infection immediate above 50%. Results suggested the optimal value is 10^{-4} dilution. The index of 0.77 is applied to this dilution.

In this working analysis the dilution that provided the 50% infection of eggs or 1 EID₅₀ is $10^{-4.77}$.

The reciprocal of this dilution is the amount virus contained in the 0.1 mL of the original suspension

$$= 10^{4.77} \text{ EID}_{50} / 0.1 \text{ mL}$$

$$= 10^{5.77} \text{ EID}_{50} / \text{mL}$$

VIII 血清中和試驗

將免疫注射後採集血液以 358 xg 離心 5 分鐘進行血清分離。將血清以 56°C 經 30 分鐘進行去補體 (decomplement) 處理後 (Gough and Spackma, 1982), 100 μL 血以 MEM 連續 2 倍稀釋，另水禽小病毒病毒液稀釋為 100 TCID₅₀ 等量加入稀釋之血清，置 37°C 反應 60 分鐘，再加入 0.2 mL 番鴨 iPSC 細胞，接種之細胞置 37°C 繼續培養 6 日後，以甲醛固定後加入 0.5% 結晶紫液染色，各孔細胞若出現有細胞病變效應，則視該抗體濃度未具中和能力之示。最高稀釋倍數仍具有中和能力之稀釋被倍數則為抗體之力價。

結果與討論

I. 水禽小病毒的增殖培養與檢測

CPE 指的是由病毒感染引起的宿主細胞的活率和形態變化，最常見的 CPE 包括細胞的腫脹或皺縮、變圓、裂解、脫落，形成蝕斑、聚團、合胞體或內涵體等。不同種類的病毒在不同的宿主細胞中會產生不同程度的 CPE，有些會迅速破壞整個單層細胞，而有些僅會影響部分宿主細胞的形態。研究人員可以透過 CPE 對病毒進行定量，對中和抗體和抗病毒藥物等進行檢測和篩選，因此 CPE 實驗被廣泛地應用於多種病毒的基礎研究以及各類疫苗。

MD-iPSC 以 DMEM + 2% FCS 培養 12 小時後接種水禽小病毒，於病毒接種 48 – 72 小時後可觀察到受感染的細胞變圓並收縮及脫落之 CPE 或死亡的現象 (圖 2)。

水禽小病毒為是一種無套膜單股線型的 DNA 病毒，基因體大小約為 5,100 鹼基 (Zádori *et al.*, 1994)。有兩個開放讀碼區 (open reading frame, ORF)，左邊的 ORF 為非結構蛋白 (non-structural proteins, NS)，右邊的 ORF 為結構蛋白 (viral protein, VP) 的讀碼區。病毒具有 3 個主要結構蛋白分別為 VP1、VP2、與 VP3 (Zádori *et al.*,

1995) 和 2 個非結構蛋白 NS1 和 NS2 (Smith *et al.*, 1999)。水禽小病毒在感染後期透過細胞裂解釋方式將複製的病毒顆粒釋放 (Daeffler *et al.*, 2003)，然後再感染附近的細胞，最終導致細胞毒性作用和細胞死亡。NS1 在水禽小病毒的複製過程中扮演重要角色 (Berns, 1990)，細胞毒性作用主要由 NS1 誘導 (Herrero *et al.*, 2004)，NS1 是一種多功能蛋白，在水禽小病毒感染細胞時也能誘導細胞凋亡 (Moffatt *et al.*, 1998; Mengyu *et al.*, 2015)。

Saleh and Khodier (2020) 以源自鵝場確認感染鵝小病毒 (goose parvovirus, GPV) 的鵝隻分離出 GPV 病毒，將其感染到鴨胚胎纖維母細胞，於感染後 72 小時可觀察到受感染的細胞型態變圓並縮小之 CPE 現象；到 96 – 120 小時，整個單層 (monolayer) 細胞也因小病毒的感染發生細胞剝落情形。上述的感染後發生 CPE 的時間與細胞型態的改變在本實驗亦觀察到相似情形。Zhang *et al.* (2019) 利用間接免疫螢光分析 (indirect immunofluorescence assay, IFA) 法進行 GPV 在 DFEs 複製觀察指出，GPV 在感染後 24 – 48 小時可觀察到複製情形，48 小時病毒快速複製並在 96 時達到複製高峰，於 120 小時後病毒量已趨於穩定。

當細胞被觀察到 CPE 或死亡的現象，此時即將細胞及培養液一併回收並凍存於 -80°C 。另取部分細胞以 -80°C 冷凍 / 37°C 解凍反覆進行 3 次致使細胞破裂釋放出病毒顆粒後，以 $805 \times \text{g}$ 於 4°C 下進行離心 20 分鐘離心，回收含有病毒顆粒之上清液。再以此含有病毒顆粒的上清液，重新進行細胞感染與病毒顆粒回收，做為進一步確認水禽小病毒是否可於 MD-iPSC 進行病毒顆粒的增殖複製。

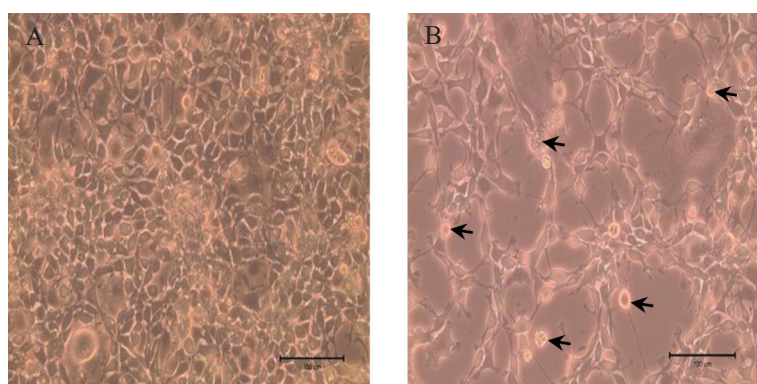


圖 2. 水禽小病毒感染測試。A：細胞沒有接種水禽小病毒，細胞生長狀況正常。B：細胞接種水禽小病毒後培養 48 – 72 小時，可見細胞死亡而脫落形成空洞及變圓收縮 (如箭頭所示) 等細胞病變作用 (CPE) 的現象。Scale bar = 100 μm 。

Fig. 2. Detection of waterfowl parvovirus infection. A: Cells without infection with waterfowl parvovirus. B: After infected with waterfowl parvovirus 48–72 hours, the cells showed cytopathic effects (CPE), including cell detachment leading to vacuole formation, as well as cell rounding and shrinkage (as indicated by arrows). Scale bar = 100 μm .

回收水禽小病毒感染後的細胞進行核酸萃取，再以 PCR 方式進行檢測。結果顯示感染後回收的細胞均呈現陽性反應，可被檢出一段分子量為 539 bp 的 DNA 片段。結果證實 MD-iPSC 經水禽小病毒感染後病毒可於細胞內進行複製，且所複製的病毒顆粒具有活性可再次感染細胞，確認 MD-iPSC 細胞株可作為水禽小病毒宿主細胞。此外，本研究同時也可以從沒有進行水禽小病毒感染操作的對照組 MD-iPSC 細胞 PCR 檢測呈陰性反應之結果，顯示本實驗建立之 MD-iPSC 細胞株為 parvovirus free (圖 3)。

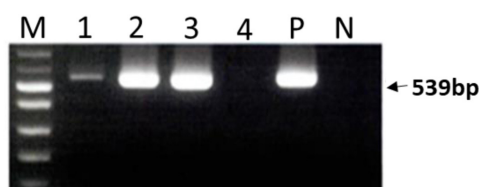


圖 3. 以聚合酶連鎖反應檢測經水禽小病毒感染的細胞。M：100 bp DNA ladder marker。1：以水禽小病毒感染之細胞。2 和 3：以水禽小病毒感染後回收細胞上清液感染之細胞。4：沒有感染之細胞。P：陽性對照組。N：陰性對照組。

Fig. 3. Polymerase chain reaction (PCR) analysis of waterfowl parvovirus-infected cells. M: 100 bp DNA ladder marker. 1: Cells infected with waterfowl parvovirus. 2 and 3: Cells infected with waterfowl parvovirus recovered from cell supernatants of infected cells. 4: Cells without infection with waterfowl parvovirus. P: Positive control. N: Negative control.

II. EID₅₀ (50% Embryo infective dose) 檢測

為了評估增殖的病毒顆粒是否具有作為疫苗的潛力，將回收的病毒液以序列稀釋成 $10^{-1} - 10^{-6}$ ，再分別取 0.1 mL 接種到水禽小病毒抗體陰性之番鴨胚蛋（10 - 12 日齡）尿囊腔中，於接種後 7 天進行胚胎觀察是否有病變或死亡。結果在接種稀釋 $10^{-1} - 10^{-3}$ 的病毒液有超過 50% 的病變（表 1），且觀察到受感染的鴨胚胎死亡並伴有全身出血情形（圖 4），Saleh and Khodier (2020) 研究亦有相似的結果。依 Reed and Muench 法計算出 EID₅₀ 為 $10^{5.77}$ EID₅₀ / mL。

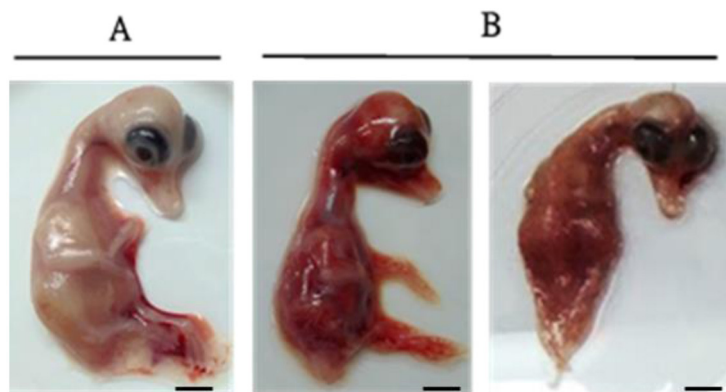


圖 4. 胚胎 EID₅₀ 感染劑量的測定。(A) 19 日齡 MD 番鴨胚胎作為對照組。(B) 胚胎在水禽細小病毒感染的第 7 天時表現出發育遲緩和皮下出血。Scale bar = 1 cm。

Fig. 4. Determination of embryo infection dose (EID₅₀). (A) A control 19-day-old MD muscovy duck embryo. (B) A waterfowl parvovirus infected embryos showed stunting and subcutaneous hemorrhage at 7 dpi. Scale bar = 1 cm.

表 1. MD iPSC 增殖之水禽小病毒進行 EID₅₀ 分析

Table. 1. EID₅₀ analysis of waterfowl parvovirus replicated by MD-iPSC

Dilution of inoculum	Check of eggs infected		Accumulated numbers		Total (A+B)	Percentage infected (%) A / (A + B) × 100%
	infected	not in-fected	infected (A)	not infected (B)		
10^{-1}	5	0	16	0	16	100 (16/16)
10^{-2}	4	1	11	1	12	91 (11/12)
10^{-3}	4	1	7	2	9	77 (7/9)
10^{-4}	3	2	3	4	7	42 (3/7)
10^{-5}	0	5	0	9	9	0 (0/9)
10^{-6}	0	5	0	14	14	0 (0/14)

III. 病毒液的去活化處理

將上述增殖收集 $10^{5.77}$ EID₅₀ / mL 的病毒液以最終濃度 0.02% 福馬林進行去活化處理 3 天，確保回收的病毒抗原無感染性，以利後續進行免疫測試。將去活化的病毒接種細胞進行感染測試，結果 MD-iPSC 接種去活化後的病毒液並未觀察到有 CPE 的現象，反之接種未去活化的病毒液之細胞有明顯 CPE 的現象發生（圖 5），顯示以最終濃度 0.02% 福馬林進行去活化處理 3 天，可以使病毒抗原尚失感染性。

IV. 血清抗體和試驗

20 隻 64 週齡沒有染水禽小病毒的清淨鵝分別於第 1 次免疫注射前、補強注射前及補強注射後 14 天進行採血分離血清，共採集 3 次血清。將不同稀釋倍數血清與等量之 $10^{5.77}$ EID₅₀ / mL 水禽小病毒液混合再加入細胞共培養 5 - 7 天，在以鵝隻免疫前收集的血清作為對照組均觀察到細胞有 CPE 現象，顯示免疫前的鵝隻血清中無抗體存在（圖 6）。本研究以 MD-iPSC 增殖之水禽小病毒去活化後為抗原進行免疫，於第一次免疫後 14 天與第二次免疫後 14 天血清中的抗體力價分別為 4 - 128 倍與 32 - 512 倍，在免疫前的血清樣品均無抗體被檢出，另外僅注射免疫佐劑加 PBS 的對照組亦無抗體被檢出（表 2）。

陳等人 (2014) 研究指出，以國產的水禽小病毒活毒疫苗對雛鵝於 2 日齡或 9 日齡施打疫苗，免疫後 14 日之抗體力價與未施打疫苗雛鵝隻抗體力價並無差異，且雛鵝施打疫苗無法使抗體及時爬升。因此目前國內生產的水禽小病毒活毒疫苗之使用均建議為提供健康種鴨、鵝進行免疫注射，藉由移行抗體保護雛鵝、雛鴨以預防水禽小病毒感染。

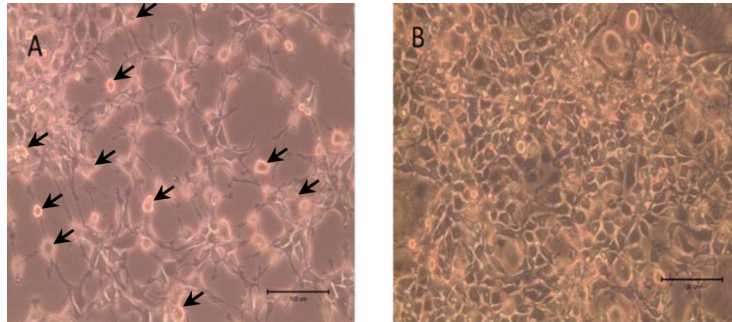


圖 5. 水禽小病毒去活化後感染測試。A：細胞感染未去活化處理之水禽小病毒，可見細胞死亡而脫落形成空洞及變圓收縮（如箭頭所示）等細胞病變作用 (CPE) 的現象。B：細胞接種去活化處理之水禽小病毒，細胞生長狀況正常。Scale bar = 100 μm。

Fig. 5. Post-inactivation infection assay of waterfowl parvovirus. (A) Cells infected with active virus displayed cytopathic effects (CPE), including cell detachment leading to vacuole formation, as well as cell rounding and shrinkage (as indicated by arrows). (B) Cells infected with inactivated virus maintained a normal morphology. Scale bar = 100 μm.

Goug and Spackman (1982) 指出，以減毒水禽小病毒疫苗對無抗體雛鵝施打，經免疫後 14 日檢測可觀察到抗體上升。李等人 (2005) 研究顯示利用胚蛋生產水禽小病毒製成不活化疫苗，對雛鵝及鴨進行免疫注射抗體力價均可達 800 倍以上。本研究以細胞進行水禽小病毒增殖去活化處理後作為抗原再搭配免疫佐劑，進行 MD 鵝隻免疫注射，在第 1 次免疫後 14 天亦可觀察到抗體的上升，大部分均可達 32 倍以上，且在經補強注射後 14 天其抗體力價可達 32 - 512 倍，但編號 1 - 8 和 1 - 13 其抗體第 1 次免疫後只小幅上升 4 倍；第 2 次免疫後僅再上升到 32 倍，推測可能與個體的免疫反應有關。

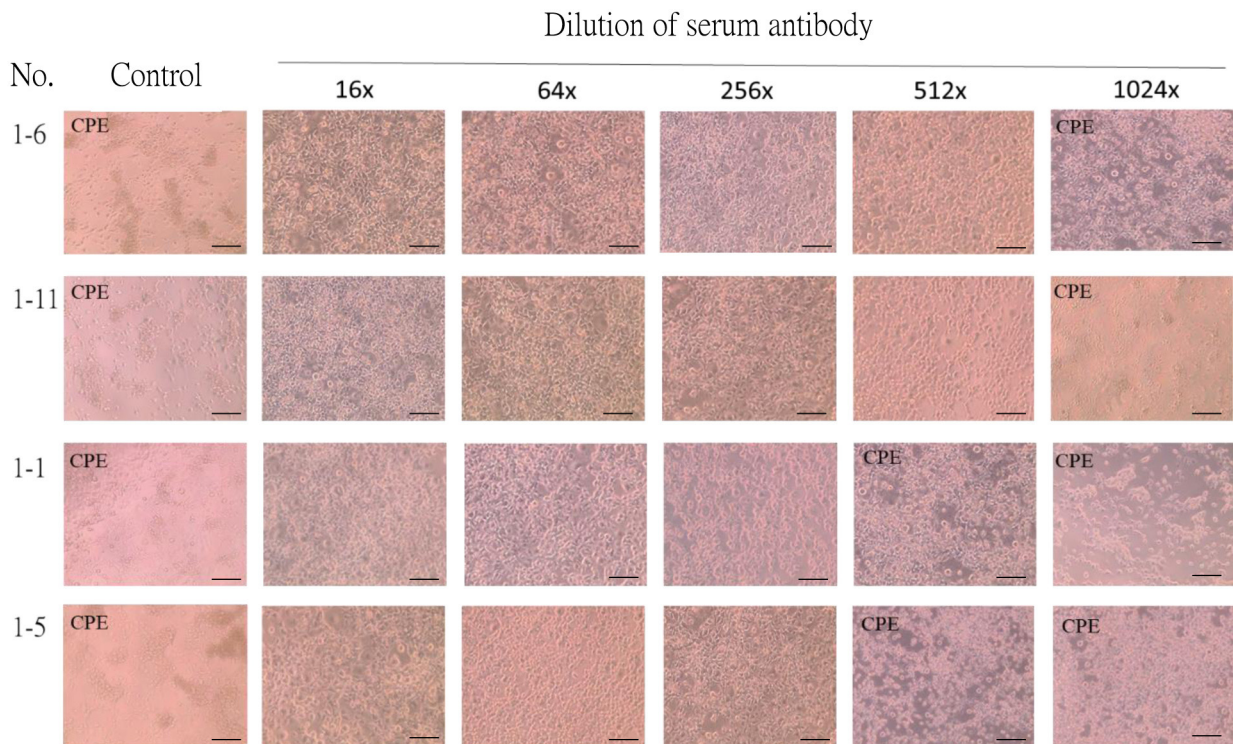


圖 6. 血清水禽小病毒抗體中和試驗。對照組：為免疫注射前收集之血清。Scale bar = 100 μm。

Fig. 6. Neutralization test of serum against waterfowl parvovirus antibody. Control group: serum collected before immunization. Scale bar = 100 μm.

表 2. 血清中水禽小病毒抗體力價分析

Table 2. Analysis of serum waterfowl parvovirus antibody titers

No.	Antibody titer		
	Before im — munization	14 days after the 1 st immunization	14 days after the 2 nd immunization
1 — 1	—	64	256
1 — 2	—	64	128
1 — 3	—	128	512
1 — 4	—	32	128
1 — 5	—	128	256
1 — 6	—	64	512
1 — 7	—	32	128
1 — 8	—	4	32
1 — 9	—	64	128
1 — 10	—	32	128
1 — 11	—	64	512
1 — 12	—	64	128
1 — 13	—	4	32
1 — 14	—	16	64
1 — 15	—	32	128
2 — 1	—	—	—
2 — 2	—	—	—
2 — 3	—	—	—
2 — 4	—	—	—
2 — 5	—	—	—

No. 1-1 ~ 1-15: The waterfowl parvoviruses were propagated in cells, inactivated with formalin, and mixed with an adjuvant for immunization. No. 2-1 ~ 2-5 : Control geese were injected with virus-free adjuvant.

目前商業化疫苗的生產方式主要可分為兩種：胚胎蛋製程與細胞培養製程。然以胚胎蛋為基礎的疫苗生產方式存在潛在風險，例如在禽流行情爆發期間，合格等級的蛋源可能出現短缺，進而影響疫苗的持續生產與供應。相較之下，細胞培養技術為目前全球疫苗開發領域所公認的最新發展趨勢。許多國際疫苗製造商已積極尋求替代胚胎蛋的生物基質，用以建立更穩定且可控的疫苗生產平台。以流感疫苗為例，細胞培養技術已被視為替代胚胎蛋生產的最佳方案。哺乳類細胞株如 Madin-Darby canine kidney(MDCK) 細胞與 African green monkey kidney epithelial(Vero) 細胞，已廣泛應用於商業化流感疫苗的生產 (Liu *et al.*, 2009 ; Ehrlich *et al.*, 2012)。

雖然已有部分研究報導禽類誘導多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 應用於疫苗生產 (Shittu *et al.*, 2016 ; Liou *et al.*, 2019)，亦有以鴨源胚幹細胞 (如 EB66 細胞株) 成功作為疫苗與重組蛋白生產平台的平臺 (Olivier *et al.*, 2010)，但目前可應用於商業化疫苗量產之禽類 iPSC 細胞株，其相關製程技術仍處於起步階段，尚需進一步研究與開發，以提升其應用成熟度與生產穩定性。

我國現行用於水禽小病毒疫苗的生產方式，主要採用 MD 番鴨胚蛋作為病毒培養基質。然而由於番鴨產蛋具明顯季節性，於非產蛋季節易發生胚蛋供應不足之問題，進而影響疫苗生產流程。本研究成功建立番鴨誘導多能性幹細胞株 (MD-iPSC)，並證實其可作為水禽小病毒之宿主細胞。經病毒感染後，該細胞株可支持病毒於細胞內複製，且所產生之病毒顆粒亦具再次感染 MD-iPSC 的能力。進一步由該細胞株培養並收集的病毒液，經去活化處理並添加免疫佐劑後，施打於 MD 鵝隻進行免疫實驗，結果顯示可誘發良好的抗體反應。綜合上述結果，MD-iPSC 可作為水禽小病毒的宿主細胞，並具作為疫苗生產平台之潛力。

參考文獻

林德田、吳文童、廖明輝、劉宏仁、李獻德。2005。水禽小病毒感染症與鴨病毒性肝炎混合不活化疫苗之商品化

(I)。94 年度行政院農業委員會動植物防疫檢疫局期末摘要報告。

- 張照夫、蔡信雄、游碧艷。1983。肆虐本省之鵝病毒性腸炎。臺灣省畜牧獸醫學會會報 42：37-46。
- 陳燕萍、涂央昌、李淑慧、蔡向榮。雛鵝之水禽小病毒免疫試驗。2014。家畜衛試所研報 49：51-64。
- 劉振發、張家語、曲鳳翔、陳立人。2024。番鴨誘導多能性幹細胞株之建立與水禽小病毒感染測試。畜產研究 57：98-106。
- Berns, K. I. 1990. Parvovirus replication. *Microbiol. Rev.* 54: 316-329.
- Cotmore, S. F., and P. Tattersall. 1987. The autonomously replicating parvoviruses of vertebrates. *Adv. Virus. Res.* 33: 91-174.
- Daeffler, L., R. R. Hörlein, and J. Nüesch. 2023. Modulation of minute virus of mice cytotoxic activities through site-directed mutagenesis within the NS coding region. *J. Virol.* 77: 2466-2478.
- Ehrlich, H. J., J. Singer, G. Berezuk, S. Fritsch, G. Aichinge, M. K. Hart, E. A. Wael, D. Portsmouth, O. Kistner, and P. N. Barrett. 2012. A cell culture-derived influenza vaccine provides consistent protection against infection and reduces the duration and severity of disease in infected individuals. *Clin. Infect. Dis.* 54: 946-954.
- Gough, R. E., and D. Spackman. 1982. Studies with a duck embryo adapted goose parvovirus vaccine. *Avian Pathol.* 11: 503-510.
- Herrero, Y. C. M., J. J. Cornelis, C. Herold-Mende, J. Rommelaere, J. R. Schlehofer, and K. Geletneky. 2004. Parvovirus H-1 infection of human glioma cells leads to complete viral replication and efficient cell killing. *Int. J. Cancer* 109: 76-84.
- Jansson, D. S., R. Feinstein, V. Kardi, T. Mató, and V. Palya. 2007. Epidemiologic investigation of an outbreak of goose parvovirus infection in Sweden. *Avian Dis.* 51: 609-613.
- Ji, J., Q. M. Xie, C. Y. Chen, S. W. Bai, L. S. Zou, K. J. Zuo, Y. C. Cao, C. Y. Xue, J. Y. Ma, and Y. Z. Bi. 2010. Molecular detection of Muscovy duck parvovirus by loop-mediated isothermal amplification assay. *Poult. Sci.* 89: 477-483.
- Liou, J. F., W. R. Wu, L. R. Chen, and Y. L. Shiue. 2019. Establishment of an induced pluripotent cell line from Taiwan black silkie chick embryonic fibroblasts for pseudovirus production. *Sci. Rep.* 9: 15745. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52282-72>.
- Liu, J., X. Shi, R. Schwartz, and G. Kemble. 2009. Use of MDCK cells for production of live attenuated influenza vaccine. *Vaccine* 27: 6460-64603.
- Lu, Y. S., D. F. Lin, Y. L. Lee, Y. K. Liao, and H. J. Tsai. 1993. Infectious bill atrophy syndrome caused by parvovirus in a co-outbreak with duck viral hepatitis in duckling in Taiwan. *Avian Dis.* 37: 591-596.
- Mengyu, T., L. Fei, C. Shun, W. Mingshu, and C. Anchun. 2015. Advances in parvovirus non-structural protein NS1 induced apoptosis. *Chinese J. Virol.* 31: 679-684.
- Moffatt, S., N. Yaegashi, K., Tada, N. Tanaka, and K. Sugamura. 1998. Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells. *J. Virol.* 72: 3018-3028.
- Olivier, S., M. Jacoby, C. Brillon, S. Bouletreau, T. Mollet, O. Nerriere, A. Angel, S. Danet, B. Souttou, F. Guehenneux, L. Gauthier, M. Berthomé, H. Vié, N. Beltraminelli, and M. Mehtali. 2010. EB66 cell line, a duck embryonic stem cell-derived substrate for the industrial production of therapeutic monoclonal antibodies with enhanced ADCC activity. *mAbs* 2: 405-415.
- Reed, L. J., and H. Muench. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Epidemiol.* 27: 493-497.
- Saleh, A. A., and M. H. Khodier. 2020. Preliminary Studies on the virus causing outbreak of duckling short beak and dwarfism syndrome (SBDS) in Egypt. *J. Appl. Vet. Sci.* 5: 55-60.
- Shittu, I., Z. Zhu, Y. Lu, J. M. Hutcheson, S. L. Stice, F. D. West, M. Donadeu, B. Dungu, A. M. Fadly, G. Zavala, N. Ferguson-Noel, and C. L. Afonso. 2016. Development, characterization and optimization of a new suspension chicken-induced pluripotent cell line for the production of Newcastle disease vaccine. *Biologicals* 44: 24-32.
- Smith, D., P. Ward, and R. Linden. 1999. Comparative characterization of rep proteins from the helper-dependent adeno-associated virus type 2 and the autonomous goose parvovirus. *J. Virol.* 73: 2930-2937.
- Takahashi, K., and S. Yamanaka. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676.
- Takehara, K., K. Hyakutake, T. Imamura, K. Mutoh, and M. Yoshimura. 1994. Isolation, identification and plaque titration of parvovirus from Muscovy ducks in Japan. *Avian Dis.* 38: 810-815.
- Takehara, K., T. Nishio, Y. Hayashi, J. Kanda, M. Sasaki, N. Abe, M. Hiraizumi, S. Saito, T. Yamada, and M. Haritani. 1995.

- An outbreak of goose parvovirus infection in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 4: 777-779.
- Woźniakowski, G., E. Samorek-Salamonowicz, and W. Kozdruń. 2012. Quantitative analysis of waterfowl parvoviruses in geese and Muscovy ducks by real-time polymerase chain reaction: correlation between age, clinical symptoms and DNA copy number of waterfowl parvoviruses. *BMC. Vet. Res.* <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/29>.
- Zádori, Z., J. Erdei, J. Nagy, and J. Kisary. 1994. Characteristics of the genome of goose parvovirus. *Avian Pathol.* 23: 359-364.
- Zádori, Z., R. Stefancsik, T. Rauch, and J. Kisary. 1995. Analysis of the complete nucleotide sequences of goose and muscovy duck parvoviruses indicates common ancestral origin with adeno-associated virus 2. *Virology* 212: 562-573.
- Zhang, J., P. Liu, Y. Wu, M. Wang, R. Jia, D. Zhu, M. Liu, Q. Yang, Y. Wu, X. Zhao, S. Zhang, Y. Liu, L. Zhang, Y. Yu, Y. You, S. Chen, and A. Cheng. 2019. Growth characteristics of the novel goose parvovirus SD15 strain in vitro. *BMC. Vet. Res.* 15: 63-71.

Study of induced pluripotent stem cell lines from muscovy ducks for applications in waterfowl parvovirus vaccine production ⁽¹⁾

Jenn- Fa Liou ⁽²⁾ Yu-Hsin Chen ⁽³⁾ Chao-Hung Chiang ⁽⁴⁾ and Fung-Hsiang Chu ⁽²⁾⁽⁵⁾

Received: Jun. 30, 2025; Accepted: Sep. 8, 2025

Abstract

Currently, the waterfowl parvovirus vaccines of Taiwan are produced by using muscovy duck embryonated eggs. When a nationwide endemic situation occurs, a large amount of clean fertilized duck eggs will be in critical demand. However, in the outbreak of avian influenza, the muscovy duck will also be under attack while the source of embryonated eggs will be affected. Therefore, an alternative matrix for vaccine production becomes a top priority. The purposes of this study was to establish muscovy duck induced pluripotent stem cell (MD-iPSC) line, followed by evaluating the potential of this cell line for vaccine productions. The results showed that muscovy duck iPSC (MD-iPSC) presented positive reaction via the polymerase chain reaction, after waterfowl parvovirus contracted infection and retrieved cells. It was confirmed that MD-iPSC could become the host cell of waterfowl parvovirus. The titers of retrieved cells for analysis was 105.77 EID₅₀ / mL, whereas the virus suspension was inactivated with formalin and administered via intramuscular injection into 64-week-old geese without waterfowl parvovirus for immunogenicity testing. Following two immunizations, the serum antibody titers ranged from 32 to 512 times, indicating the potential for MD-iPSC cell line to act as host cell for waterfowl parvovirus and production of vaccines against waterfowl parvovirus.

Key words: Muscovy duck, Induced pluripotent stem cells, Vaccine.

(1) Contribution No. 2840 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Genetics and Physiology Division, MOA-TLRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Livestock Management Division, MOA-TLRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Northern Region Branch, MOA-TLRI, Miaoli 36843, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: fhchu@mail.tlri.gov.tw.

飼糧中不同粗蛋白質含量對荷蘭泌乳牛碳排放量之影響⁽¹⁾

范耕榛⁽²⁾ 張俊達⁽²⁾ 賴京佑⁽²⁾ 李佳蓉⁽²⁾ 謝怡慧⁽³⁾ 洪兮雯⁽³⁾ 徐濟泰⁽⁴⁾ 程梅萍⁽⁵⁾⁽⁶⁾

收件日期：114 年 4 月 9 日；接受日期：114 年 9 月 19 日

摘 要

本研究旨在降低泌乳荷蘭牛飼糧中的粗蛋白質含量，並評估對其生產性能、氮排放與碳排放量的影響。使用 16 頭平均每日產乳量 30.63 kg 的泌乳牛，依乳量分成 4 組，分別餵飼粗蛋白質濃度 15、16、17 或 18% 之等能量值（泌乳淨能 1.69 Mcal/kg）及等精料、芻料與副產物比例（45：45：10）之飼糧，進行 4 × 4 拉丁方試驗，試驗為期 21 天，包括 14 天適應期與 7 天採樣期。牛隻以任飼任飲群飼，比較不同飼糧處理對乳量、乳成分、糞尿中氮排放量及溫室氣體估算排放量之差異。結果顯示，降低飼糧粗蛋白質濃度對泌乳牛之乾物質採食量與乳量並無負面影響，各組牛隻產乳量依飼糧蛋白質含量由低至高分別為 27.07、26.09、27.29 及 27.87 kg / 日，降低飼糧蛋白質會顯著減少乳中尿素氮濃度及糞便中氮之排放量 ($P < 0.05$)。以 IPCC 方法計算，在乳牛總碳排放量的數值上粗蛋白質 15% 組 (5,338 kg CO₂e / 頭 / 年) 較 17% (5,556 kg CO₂e / 頭 / 年) 或 18% 組 (5,515 kg CO₂e / 頭 / 年) 分別減少了 218 與 177 kg CO₂e / 頭 / 年，約減少 3.92 – 3.21%，但總碳排放量未達顯著差異，惟在糞尿處理過程中產生的甲烷 ($P = 0.0048$) 與氧化亞氮 ($P = 0.0272$) 排放量均顯著下降。荷蘭泌乳牛飼糧中粗蛋白質含量 15% 與較高粗蛋白質飼糧比較時，可維持產乳量並減少糞便及尿氮產生的浪費，同時溫室氣體排放量呈現降低趨勢，低蛋白質飼養技術是環境保護及產業永續的可行策略。

關鍵詞：泌乳牛、甲烷、碳排放量。

緒 言

全球人為溫室氣體排放農業生產方面約 10 – 12%，其中畜牧業約產生 50% 的甲烷 (CH₄) 和 60% 的氧化亞氮 (N₂O)。甲烷主要來自動物腸道發酵，而氧化亞氮則來自糞尿的氮循環 (Eckard *et al.*, 2010)。在人為碳排放量 12% 中，牛隻佔 62%，豬 14%、雞 9%、水牛 8%、山羊 4% 及綿羊 3%，畜牧業從肥料生產牧草到產品運輸之相關排放總計為 62 億噸二氧化碳當量，直接排放源為牛隻打嗝嘔氣反射將瘤胃中的甲烷氣排出及其排泄物發酵產生的氧化亞氮 (FAO, 2023)。我國國家溫室氣體排放清冊報告 (行政院環境保護署, 2022) 指出 2020 年農業部門溫室氣體排放約占臺灣溫室氣體排放 1.17%，其中畜禽腸胃發酵占 17.35%，畜禽腸胃發酵與畜禽糞尿處理約占農業部門排放量的 44.27%。依李等 (2000) 研究結果在臺灣以全株玉米、狼尾草、盤固草製成青貯料飼餵荷蘭泌乳牛，結果在泌乳牛胃腸道中甲烷產生量，以玉米青貯飼糧最低，是降低泌乳牛溫室氣體排放量較佳的選擇，在乾乳牛方面，以狼尾草青貯飼糧餵飼乾乳牛其甲烷日產量每頭 264 L，低於餵飼盤固草的 340 L 或玉米青貯飼糧之 350 L，平均降低幅度達 23%；在生長女牛則以狼尾草與全株玉米兩種飼糧優於盤固草，但狼尾草飼糧乾物質採食量偏低，以全株玉米青貯飼糧較佳。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2841 號。

(2) 農業部畜產試驗所畜產經營組。

(3) 農業部畜產試驗所動物營養組。

(4) 國立臺灣大學動物科學技術學系。

(5) 農業部畜產試驗所副所長室。

(6) 通訊作者，E-mail: mpcheng@tlri.gov.tw。

飼糧組成影響乳牛的健康及泌乳量，未消化成分排泄後造成環境負荷。蛋白質是乳牛生長、維持生理功能及泌乳的所必需的基本營養素，其需求量與飼糧中蛋白質的含量、消化率與利用效率密切相關，處於懷孕、泌乳及生長階段的乳牛對蛋白質需求量較高，一般情形下為提高泌乳牛產乳量，許多酪農會餵飼高蛋白飼糧，然而，過量的蛋白質攝取不僅增加了飼養成本，還會導致多餘氮的排放，對環境造成壓力 (Kebreab *et al.*, 2001; Steinfeld *et al.*, 2006)。研究指出降低飼料中的總蛋白質含量，可選擇較高飼料效率的蛋白質原料來源，如油菜籽、豌豆或豆粕等，可以確保牛隻獲得必要的胺基酸，高效率蛋白質飼料原料不僅能提高飼料轉換率外，同時可有效減少氮排放 (Schmidt, 2017)。在降低飼糧蛋白質含量時，也需注意其他營養成分的平衡，特別是能量的供應，碳水化合物和脂肪等也需要一併考量，以確保牛隻有足夠的能量維持泌乳量及體態的需要量。

Eckard *et al.* (2010) 指出動物育種、飼料調整、瘤胃環境控制、糞尿管理、土壤管理等措施，可有效降低碳排放量，例如：以營養策略來提高牛乳產量和飼料利用效率，可以降低每單位生乳的甲烷排放量；提高飼料品質 (增加可發酵性碳水化合物，減少纖維) 可降低甲烷排放；添加脂肪 (如椰子油、亞麻籽油) 可降低甲烷產生 10% – 25%；使用縮合單寧 (condensed tannins, CT) 可抑制甲烷菌群，但過量可能影響消化；使用酵母培養物或特定酶制劑控制瘤胃發酵，刺激瘤胃中的產乙酸菌，消耗氫氣產生乙酸，間接可能減少甲烷生成。Agle *et al.* (2010) 及 Groof and Wu (2005) 研究指出，隨著氮採食的量增加時，糞便 (糞便和尿液) 中的氮含量亦會隨之增加，較多的排出導致氮利用率降低。降低商業乳牛場的飼糧蛋白質含量時，可使糞尿中氮及氨排放量減少，減少溫室氣體排放，而且不會影響乳牛的產奶量和成分，但低蛋白質飼料並未減少瘤胃甲烷的排放量 (Hristov *et al.*, 2015; Rendón-Huerta *et al.*, 2018)。為在 2030 年前減少 30% 的溫室氣體排放量 (與 2020 年相比)，從源頭減量改善氣候變遷的可能性，本研究以飼料配方技術調整泌乳牛之飼糧組成，固定精料、芻料與副產物比例 (乾基) 為 45:45:10，及固定瘤胃未降解蛋白質佔蛋白質比例 (35%) 之配方，比較餵飼粗蛋白質佔飼糧乾基 15、16、17 或 18，評估調降飼糧蛋白質對生產性能與效率之影響，同時測定氮之利用效率，比較不同蛋白質含量在臺灣環境飼養下，泌乳牛之活體胃腸道及糞尿溫室氣體排放量，並評估飼糧調整是否能降低氮的排放，進而減少碳排放量。

材料與方法

I. 試驗動物與飼糧處理

動物試驗經過畜試所實驗動物照護及使用小組審核通過 (編號 113-17)，並於畜試所畜產經營組乳牛舍進行。泌乳牛飼糧營養分依據美國 NRC (2021) 乳牛營養需要量每日 28 kg 泌乳量進行飼料配方設計配製完全混合日糧 (total mixed ration, TMR)，固定精料、芻料與副產物比例 (乾基) 為 45:45:10，設計等能量 (飼糧每 kg 乾物質提供泌乳淨能 1.69 Mcal) 固定瘤胃未降解蛋白質佔蛋白質比例 (35%) 之配方，比較餵飼粗蛋白質佔飼糧乾基 15、16、17 或 18% 之碳排差異比較，並以 17% 作為對照組。本次試驗於 113 年 3 月至 6 月進行，主要使用的蛋白質飼料原料為大豆粕、魚粉、苜蓿乾草及啤酒粕，降低蛋白質含量時主要為調降大豆粕的使用量，並降低少量的魚粉添加量，苜蓿乾草及啤酒粕用量僅略為調整，配方及營養組成分如表 1。

將 16 頭荷蘭牛 (平均乳量 30.63 ± 4.64 kg、平均泌乳天數 116.75 ± 36.00 天及平均胎次 1.50 ± 0.63 胎) 依照乳量逢機均分為 4 組，飼養於隧道式通風牛舍，每組 4 頭群飼，每欄均有足夠空間的飼槽及水槽，牛隻每日餵飼 1 次並於上午 7:30 – 8:30 左右進行，剩料於 7:00 收集，其餘餵飼牛群飼養管理依標準作業流程進行。每日分別於上午 4:30 與下午 3:30 擠乳，以 4 × 4 拉丁方試驗，每次試驗 21 日進行。試驗開始前後測量體重、乾物質採食量 (群飼，計算每頭平均值)、乳量及乳成分 (乳脂率、乳蛋白率、乳糖率、無脂固形物率、總固形物率及乳中尿素氮)，並以直腸收集糞便分析乾物質 (dry matter, DM)、粗蛋白質 (crude protein, CP)、中洗纖維 (neutral detergent fiber, NDF) 及酸洗纖維 (acid detergent fiber, ADF) 含量。於試驗第 14 至第 15 日暫停牛舍內之刮糞機運作，於牛舍內分別全量收集 4 組之糞便排泄量 2 日，尿液會隨著畜舍走道斜度排出，以人力使用土鏟收集全量之糞便秤重紀錄，採樣烘乾後計算乾物率，保存於 -20°C 環境中供後續分析一般成分，計算排泄物總乾物質量與飼糧消化率。尿液則使用刺激法於試驗第 14 至第 15 日上午 9:00 左右，進行個別牛隻採樣 2 日各 150 mL 並加入 5 mL 50% 之硫酸防止氮揮發，於試驗第 16 至第 17 日測定當日於 8:00 各組進入已清理乾淨之試驗欄並於水泥地上鋪設足量且已記錄重量之墊料，收集各組之全部糞尿秤重，以堆肥墊料吸附後之總重量扣除糞便量，推估尿液量，將 2 日收集之樣品混合後取樣保存於 -20°C 環境中，供後續分析尿氮與糞氮量。並依生產表現計算扣除飼料費後之粗收益，作為比較經濟效益評估依據。

II. 測定項目

- (i) 體重：於每次試驗開始與結束日，各連續 2 日上午 9：30 餵飼後過磅。
- (ii) 飼糧組成：於每次試驗第 14 日起，於試驗第 17、19 及 21 天採集 3 次飼料原料，先以 -20°C 保存，試驗結束後以 55°C 烘乾 48 小時，熱秤得乾物質率，將每項原料的 3 個乾燥後樣品均勻再採樣以混合成 1 個樣品，經 1 mm Wiley mill 磨細後依 AOAC (2000) 分析營養組成。
- (iii) 採食量：每日記錄各組牛群的餵飼量及剩餘量。於試驗第 17 至 21 天最後 5 日連續採集 TMR 飼糧及隔日剩料，先行冷凍保存後再烘乾如飼糧原料之處理，並依飼糧乾物質供應量及剩料乾物質率，計算各組平均每頭的乾物質採食量。
- (iv) 泌乳性能：試驗開始前 2 日連續記錄個別牛乳量並採集個別乳樣送驗，作為基期性能數據。於試驗第 18 日至 21 日連續 4 日記錄個別牛的泌乳量，於試驗第 19 日至 21 日連續 3 日依個別牛上下午採集之乳樣，混合成單日乳樣，每個試驗期每頭牛有 3 個乳樣品，送本所北區分所牛乳檢驗室，以全自動多功能乳成分分析儀 (MilkScan™ FT⁺, Foss, Denmark) 分析一般乳成分，包括乳脂率、乳蛋白質率、乳糖率、乳總固形物率及乳中尿素氮等。

表 1. 不同蛋白質含量飼糧餵飼泌乳牛試驗之飼糧配方及組成成分 (%，乾基)

Table 1. Diet formulations and compositions for feeding experiments with different protein content fed to lactating cows or goats (% of DM basis)

Ingredients	CP 15 (-2%)	CP 16 (-1%)	CP 17 (control)	CP 18 (+1%)
Corn silage	15.54	15.42	15.49	15.49
Bermudagrass grass	16.43	16.31	16.38	16.37
Alfalfa hay	14.19	14.09	14.15	14.15
Brewer grain, Wet	5.46	5.42	5.44	5.44
Wheat bran	4.79	4.76	4.78	4.78
Corn, ground	28.63	26.55	24.32	21.97
Soybean meal, 43% CP	4.70	7.24	8.68	10.30
Soybean oil	2.69	2.46	2.47	2.41
Fish meal, 60% CP	3.19	3.41	3.91	4.39
Salt	0.27	0.26	0.27	0.27
Limestone	1.18	1.17	1.18	1.34
Dicalcium phosphate	1.18	1.17	1.18	1.34
Sodium phosphate	1.45	1.44	1.45	1.45
Premix ¹	0.30	0.30	0.30	0.30
Composition ² , % of DM				
CP, %	15.0	16.1	17.1	17.9
UIP, % of CP	35.0	35.0	35.0	35.0
NDF, %	33.1	33.1	33.2	33.3
ADF, %	17.6	17.7	17.9	18.0
Ca, %	1.2	1.2	1.3	1.4
P, %	0.6	0.6	0.7	0.7
Nel ³ , Mcal/kg	1.69	1.69	1.69	1.69

¹ Each kilogram of premix contains: Vit. A, 10,000,000 IU; Vit. E, 70,000 IU; Vit. D₃, 1,600,000 IU; Fe, 50 g; Cu, 10 g; Zn, 40 g; I, 0.5 g; Se, 0.1 g; Co, 0.1 g.

² DM: dry matter; CP: crude protein; UIP: undegradable intake protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; Ca: calcium; P: phosphate; Nel: net energy for lactation.

³ Nel value is calculated according to NRC (2021).

III. 溫室氣體排放量之計算方法

透過不同方法評估飼糧總能量，並應用 IPCC (2006) 方法，搭配收集之採食量、消化率和成分分析資料，以總能量攝取 (MJ / 頭 / 日) 計算腸胃道甲烷排放量；依照前述之總能量攝取、飼糧消化情況、成分分析資料和糞

尿處理系統比例，計算揮發性固體物 (volatile solids, VS，為牛糞尿中可在 550°C 下揮發的有機物質，主要包含未消化的纖維與飼料殘渣、尿中有機氮化合物、微生物生物量及可溶性有機物) 和糞尿處理過程產生之甲烷和氧化亞氮排放量，計算各自 4 組飼糧之總碳排放量 (二氧化碳當量 / 頭)，比較減碳效果。

(i) 腸胃道甲烷年排放量 (kg / 頭 / 年) = (總能量攝取 (MJ / 頭 / 日) × Ym ÷ 100 × 365) ÷ 55.65。

MJ：百萬焦耳 (megajoule, MJ)，1 焦耳定義為使用 1 牛頓力使物體沿力的方向移動 1 米所消耗的能量；
Ym = 6.5 (%)，總能量攝取以熱卡計分析之數值並導入前揭公式，進行腸胃道甲烷年排放量估算。

(ii) 糞尿甲烷年排放量 (kg / 頭 / 年) = 排放係數 (kg / 頭 / 年) × 動物數量。

1. 排放係數 EF = VS × 365 × [糞尿最大甲烷產生量 B₀ × 0.67 kg/m³ × Σ (糞尿處理系統甲烷轉換因子 MCF ÷ 100 × 糞尿處理系統 MS)]。

2. 揮發性固體物 VS = [總能 × (1 - 消化率 ÷ 100) + (尿能 % × 總能)] × [(1 - 灰分 %) ÷ 18.45]。

3. 糞尿最大甲烷產生量 B₀ = 查詢 IPCC (2006) 第 4 卷第 10 章表 10A-4。

4. 糞尿處理系統甲烷轉換因子 MCF = 查詢 IPCC (2006) 第 4 卷第 10 章表 10.17 和表 10A-4。採用 25°C 下之集約式堆肥處理 (composting-intensive windrow)、液體儲存 (liquid)、加蓋式厭氧槽 (anaerobic digester) 係數及好氧處理 (aerobic treatment)。

5. 糞尿處理系統比例 MS (%) = 依農業部畜產試驗所牛舍糞尿處理系統處理槽容積比例計算，以廢棄物清理計畫書設定固液分離後固形物堆肥化處理比例為 5%，再計算加蓋式厭氧槽處理比例為 62.71%、耗氧處理比例為 24.93%，並將其餘槽體皆視為液體儲存共 7.36%。

(iii) 糞尿氧化亞氮年排放量 (kg N₂O / 頭 / 年) = 年直接排放 (kg N₂O / 頭 / 年) + 年揮發間接排放 (kg N₂O / 頭 / 年) + 年逕流間接排放 (kg N₂O / 頭 / 年)，各項目之排放量計算 = 氮年排放量 (kg N / 頭 / 年) × 排放係數 EF (kg N₂O-N/kg N)，得到氧化亞氮年排放量 (kg N₂O-N / 頭 / 年)，再乘以 44/28 來換算成氧化亞氮年排放量 (kg N₂O / 頭 / 年)。各項目之細部計算列於以下方程式。

1. 氧化亞氮年直接排放量 = 氮年排放率 Nex (kg N / 頭 / 年) × 糞尿處理系統比例 MS (%) × 排放係數 EF₃ × 44/28。

(1) 年氮排放率 Nex = 日氮攝取量 (kg N / 頭 / 日) × (1 - 日氮蓄積比例 (%)) × 365。

(2) 日氮攝取量 = 總能量攝取 (MJ / 頭 / 日) ÷ 18.45 × (CP% ÷ 100 ÷ 6.25)。

(3) 日氮蓄積比例 = [乳量 (kg / 頭 / 日) × (乳蛋白 % ÷ 100) ÷ 6.38] + {體增重 (kg / 日) × [268 - (7.03 × 生長淨能 (MJ / 日) ÷ 體增重 (kg / 日)) ÷ (1,000 × 6.25)]}。

(4) 生長淨能 = 22.02 × (體重 (kg) × 轉換係數 C × 成熟體重 0.75 (kg)) × 日增重 1.097 (kg / 日)，其中母牛之轉換係數 C 為 0.8。

2. 氧化亞氮年揮發間接排 = 氮年揮發間接排放量 (kg N / 頭 / 年) × 排放係數 EF₄ × 44/28。

(1) 氮年揮發間接排放量 = 氮年排放率 Nex (kg N / 頭 / 年) × 糞尿處理系統比例 MS (%) × (糞尿管理系統中以 NH₃ 和 NO_x 揮發的比例 FracGasMS (%) ÷ 100)。

3. 氧化亞氮年逕流間接排 = 氮年逕流間接排放量 (kg N / 頭 / 年) × 排放係數 EF₅ × 44/28。

(1) 氮年逕流間接排放量 = 氮年排放率 Nex (kg N / 頭 / 年) × 糞尿處理系統比例 MS (%) × (糞尿管理系統中以 NH₃ 和 NO_x 逕流的比例 FracLeachMS (%) ÷ 100)。

IV. 統計分析

試驗所得數值資料採用 SAS 套裝軟體 (SAS, 2014) 進行分析，以飼料為處理，使用一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，再以最小顯著性差異法 (Fisher's least significant difference test, LSD) 進行試驗資料處理間差異比較，本試驗以 P < 0.05 為顯著差異水準。

結 果

I. 降低飼糧粗蛋白質含量對採食量及生產性能的影響

餵飼不同飼糧蛋白質含量對泌乳牛採食量及乳成分之影響如表 2 及表 3，結果顯示，隨著飼糧中粗蛋白質增加，在乾物質採食量雖無顯著差異 (約 20.19 - 20.65 kg / 頭 / 天)，但採食的總粗蛋白質量則有顯著提升 (由 3.16 kg / 頭 / 天顯著增加至 3.63 kg / 頭 / 天) (P < 0.05)。21 日的試驗期間餵飼不同飼糧粗蛋白質含量對泌乳牛體重影響極小，各處理組間並無顯著差異，產乳量亦無顯著變化，但對乳成分有觀察到變化的趨勢，生乳中的乳

脂率 ($P = 0.0597$)、乳糖率 ($P = 0.0972$) 及無脂固形物率 ($P = 0.0609$) 皆會隨著飼糧粗蛋白質含量增加而呈上升趨勢。餵飼高粗蛋白質飼糧時，伴隨乳中尿素氮 (Milk urea nitrogen, MUN) 的顯著提升，從 12.67 mg/dL 升至 14.44 mg/dL ($P = 0.0129$)。經濟效益評估如表 5，由每 kg 飼糧乾物質的單價 (依 113 年 3 月分之各飼料原料購買價格，計算各組不同配方組合下各組之飼糧單價)，計算每天每頭乾物質採食量下每日的飼糧花費，並使用生乳價格評價表 (民國 111 年 06 月 08 日公告之乳品加工廠收購酪農原料生乳驗收及計價要點第二點附表) 查生乳品質對應的每 kg 乳價 (以夏季計算) 與平均乳量計算每日乳款收入，並計算扣除飼料費之後的粗收益，結果顯示降低飼糧粗蛋白質含量對於乳牛之經濟效益並不會受到影響。

II. 降低飼糧粗蛋白質含量對糞尿排泄與消化率的影響

飼糧蛋白質含量對泌乳牛糞便及尿液排放之影響如表 2，試驗結果顯示乳牛飼糧蛋白質含量增加會提高糞便的排出量及糞的總粗蛋白質的排出量，CP 15% 組 0.84 kg / 頭 / 天增至 CP 18% 組的 1.20 kg / 頭 / 天 ($P < 0.01$)。尿液的總排出的氮量亦隨著飼糧的增加而提高排出量，但處理組間並無顯著差異。糞便中的中洗纖維或酸洗纖維排出量處理組間並無顯著差異。在飼糧表面消化率方面，乾物質和粗蛋白質表面消化率隨著粗蛋白質含量提高而顯著下降 ($P < 0.01$)。乾物質消化率從 CP 15% 組的 72.62% 下降到 CP 18% 組的 64.28%，而粗蛋白質消化率則由 73.36% 下降到 66.90%。

III. 降低飼糧粗蛋白質含量對溫室氣體排放的影響

飼糧蛋白質含量對泌乳牛碳排放量之影響如表 4，在腸胃道及糞尿處理溫室氣體排放方面，使用熱卡計檢測之總能代入公式，並配合相關生產表現及糞尿含量處理等參數計算，再以 IPCC AR6 的 GWP 值進行總排放量換算。結果顯示，在乳牛總碳排放量的數值上 CP 15% 組 (5,338 kg CO₂e / 頭 / 年) 較 CP 17% (5,556 kg CO₂e / 頭 / 年) 或 CP 18% 組 (5,515 kg CO₂e / 頭 / 年) 分別減少了 218 (5,556 kg CO₂e / 頭 / 年 - 5,338 kg CO₂e / 頭 / 年) 與 177 kg CO₂e / 頭 / 年 (5,515 kg CO₂e / 頭 / 年 - 5,338 kg CO₂e / 頭 / 年)，約減少 3.92 - 3.21% (218 kg CO₂e / 5,556 kg CO₂e × 100% - 177 kg CO₂e / 5,515 kg CO₂e × 100%)，總碳排放量處理間差異未達統計顯著，然而在分項中，糞尿處理階段產生的甲烷與氧化亞氮排放量均呈顯著下降 (CH₄, $P = 0.0048$; N₂O, $P = 0.0272$)。換算每公斤生牛乳的碳排放量 CP 17% 組及 CP 15% 組由 0.56 kg CO₂e (5,556 kg CO₂e / 365 日 / 27.29 kg 泌乳量) 至 0.54 kg CO₂e (5,338 kg CO₂e / 365 日 / 27.07 kg 泌乳量)。

討 論

Barros *et al.* (2017) 泌乳牛研究顯示飼糧 CP 濃度從高量 162 g/kg DM (16.2%) 減少至中等量 144 g/kg DM (14.4%) 時，牛隻的乾物質採食量 (24.2 與 23.8 kg) 和泌乳量 (31.8 與 31.4 kg) 持續能夠維持在較高的水準，但降至 131 g/kg DM (13.1%) 及 118 g/kg DM (11.8%) 時，採食量及產乳量呈現線性下降；Hynes *et al.* (2016) 研究將飼糧 CP 由 181 g/kg DM (18.1%) 降至 141 g/kg DM (14.1%) 時，乳牛的乾物質採食量 (20.7 kg) 和產乳量 (25.8 kg) 並未顯著降低，表示荷蘭泌乳牛在 25 - 30 kg 的泌乳量下，餵飼中等 CP 含量飼糧即可獲得足夠的氮源來因應生產所需，並可維持良好的生產性能。由於瘤胃微生物在乳牛的蛋白質代謝中極為重要，降低飼糧 CP 含量時產乳量能維持穩定可能是乳牛在較低 CP 飼糧下，瘤胃內部的氮源會更依賴微生物蛋白的再利用，避免過量氮進入血液轉化為尿素，造成過量氮的流失，因而提高氮的利用效率 (Hynes *et al.*, 2016; Barros *et al.*, 2017)。Sinclair *et al.* (2014) 報告亦指出，降低泌乳牛飼糧中粗蛋白質濃度至 14% (乾基) 可增加氮捕捉 (N capture) 效率以及減少氮的排出。Law *et al.* (2009) 報告中亦顯示低 CP 飼糧有較佳的氮利用效率，氮利用率隨飼糧 CP 增加而下降，需根據泌乳階段調整 CP 在飼糧中的含量，供應過量的 CP 不僅無法顯著提升產乳量，反而會導致氮的流失，降低氮的利用效率 (Castillo *et al.* 2000)；Bach *et al.* (2005) 研究顯示瘤胃尿素再循環可提供微生物所需的氮，使得瘤胃環境及代謝趨於穩定，將體內的尿素回流至瘤胃補充氮源，可維持瘤胃內菌群的平衡，在將氮重新分配給瘤胃微生物的過程中，可減少體內直接將氮排出的總量，尤其是在飼糧瘤胃降解蛋白質不足的情況下，其不僅有助於瘤胃微生物利用有限的氮源外，還能避免飼糧蛋白質在瘤胃中過度分解產生氨的累積或增加血液中氨的含量，低蛋白質日糧 (CP < 14%) 中適當增加瘤胃未降解蛋白質比例可確保氮的有效利用，透過增加瘤胃未降解蛋白質的利用，減緩因微生物蛋白生成下降而造成的生產性能降低，藉由優化瘤胃降解蛋白質與瘤胃未降解蛋白質的比例，調整瘤胃降解蛋白質供應量，搭配可發酵的碳水化合物，可以提高瘤胃內氮的捕獲率及氮利用效率。本試驗中降低泌乳牛飼糧中的 CP 含量時並未影響牛隻的乾物質採食量及產乳量，且低 CP 組也有顯著較高的蛋白質的表面消化率，綜合上述內容顯示，合理減少飼料中的 CP 含量不會對乳牛的生產品能造成負面影響。

表 2. 不同蛋白質含量飼糧對泌乳牛採食量、糞便排出量、表面消化率及體重之影響

Table 2. Effect of different dietary proteins on feed intake, feces excrete, apparent digestibility, and body weight in dairy cow

Item	Treatment ²				SEM	P-value
	CP 15	CP 16	CP 17	CP 18		
Intake						
DM ¹	(kg/head/d)	20.65 ± 0.473	20.27 ± 0.79	20.61 ± 0.99	20.19 ± 1.08	0.46 NS
CP	(kg/head/d)	3.16 ± 0.06 ^c	3.27 ± 0.13 ^{bc}	3.47 ± 0.15 ^{ab}	3.63 ± 0.17 ^a	0.0185
GE	(MJ/head/d)	361.78 ± 7.44	358.97 ± 13.84	365.53 ± 17.41	358.41 ± 19.01	8.71 NS
NDF	(kg/head/d)	6.40 ± 0.68	6.57 ± 0.80	6.74 ± 1.02	6.48 ± 1.03	0.79 NS
ADF	(kg/head/d)	3.68 ± 0.73	3.65 ± 0.82	3.77 ± 0.99	3.67 ± 0.95	0.88 NS
Feces						
DM	(kg/head/d)	5.63 ± 0.30 ^c	6.28 ± 0.24 ^b	6.78 ± 0.14 ^{ab}	7.16 ± 0.23 ^a	0.16 0.0025
CP	(kg/head/d)	0.84 ± 0.06 ^c	0.96 ± 0.06 ^{bc}	1.08 ± 0.04 ^{ab}	1.20 ± 0.07 ^a	0.04 0.0027
NDF	(kg/head/d)	2.59 ± 0.23	2.86 ± 0.20	2.85 ± 0.27	2.90 ± 0.23	0.20 NS
ADF	(kg/head/d)	1.58 ± 0.23	1.64 ± 0.18	1.75 ± 0.24	1.72 ± 0.21	0.22 NS
Urine						
Voided vol-ume	(kg/head/d)	27.55 ± 1.22	26.43 ± 3.03	25.85 ± 2.59	24.83 ± 3.01	1.34 NS
CP	(kg/head/d)	1.18 ± 0.11	1.19 ± 0.10	1.20 ± 0.12	1.35 ± 0.14	0.10 NS
Apparent digestibility						
DM	%	72.62 ± 2.06 ^a	68.93 ± 1.28 ^{ab}	66.89 ± 1.45 ^{bc}	64.28 ± 1.97 ^c	1.08 0.0081
CP	%	73.36 ± 2.50 ^a	70.20 ± 2.26 ^{ab}	68.71 ± 1.41 ^{ab}	66.90 ± 2.07 ^b	1.50 0.0990
NDF	%	59.54 ± 2.53	56.50 ± 2.37	57.74 ± 2.18	55.26 ± 2.29	1.86 NS
ADF	%	57.11 ± 2.48	55.08 ± 2.28	53.62 ± 2.04	53.24 ± 2.31	1.90 NS
Body weight						
IBW	(kg)	593.69 ± 17.26 ³	587.13 ± 15.34	595.31 ± 15.87	588.75 ± 17.35	5.59 NS
FBW	(kg)	588.13 ± 17.23	587.63 ± 15.24	589.06 ± 13.82	592.25 ± 16.94	6.69 NS

¹ Abbreviations: DM = Dry matter; CP = Crude protein; GE = Gross energy; NDF = Neutral detergent fiber; ADF = Acid detergent fiber; IBW = Initial body weight; FBW = Final body weight.

² Treatment: CP 15 = diet with 15% of crude protein; CP 16 = diet with 16% of crude protein; CP 17 = diet with 17% of crude protein; CP 18 = diet with 18% of crude protein.

³ Mean ± SE (n = 16) for intake, feces and apparent digestibility; Mean ± SE (n = 64) for body weight.

^{a, b, c} Means within each row followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 3. 不同蛋白質含量飼糧對泌乳牛生產性能之影響

Table 3. Effect of different dietary proteins on lactating performance in dairy cow

Item	Treatment ²				SEM	P-value
	CP 15	CP 16	CP 17	CP 18		
Yield (kg/day)	27.07 ± 1.24 ³	26.09 ± 1.34	27.29 ± 1.23	27.87 ± 1.58	0.95	NS
Fat (%)	3.62 ± 0.04 ^B	3.65 ± 0.05 ^B	3.69 ± 0.04 ^{AB}	3.77 ± 0.03 ^A	0.04	0.0597
Protein (%)	3.25 ± 0.04	3.26 ± 0.06	3.31 ± 0.04	3.33 ± 0.02	0.04	NS
Lactose (%)	4.85 ± 0.03 ^B	4.89 ± 0.04 ^{AB}	4.91 ± 0.02 ^{AB}	4.95 ± 0.02 ^A	0.03	0.0972
SNF ¹ (%)	8.82 ± 0.04 ^B	8.82 ± 0.07 ^B	8.96 ± 0.03 ^A	8.94 ± 0.04 ^{AB}	0.05	0.0609
MUN (mg/dL)	12.67 ± 0.46 ^b	12.77 ± 0.51 ^b	13.75 ± 0.52 ^{ab}	14.44 ± 0.45 ^a	0.42	0.0129
FFA (mmol/100g fat)	0.82 ± 0.08	0.75 ± 0.08	0.94 ± 0.07	0.90 ± 0.10	0.07	NS

¹ Abbreviations: SNF = Solid-non-fat; MUN = Milk urea nitrogen; FFA = Free fatty acids.

² Treatment: CP 15 = diet with 15% of crude protein; CP 16 = diet with 16% of crude protein; CP 17 = diet with 17% of crude protein; CP 18 = diet with 18% of crude protein.

³ Mean ± SE (n = 64).

^{a, b} or ^{A, B} Means within each row followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% or 10% level by Fisher's protected LSD test.

表 4. 不同蛋白質含量飼糧對泌乳牛溫室氣體排放量之影響

Table 4. Effect of different dietary proteins on GHG emissions in dairy cow

Item	Treatment ²				SEM	P-value
	CP 15	CP 16	CP 17	CP 18		
IPCC tier 2 ¹						
CH ₄ from livestock (kg/head/yr)	154.22 ± 3.16 ³	153.03 ± 5.91	155.83 ± 7.43	152.81 ± 8.10	3.70	NS
CH ₄ from manure management (kg/head/yr)	19.86 ± 1.00 ^c	22.00 ± 0.84 ^b	23.59 ± 0.55 ^{ab}	24.53 ± 0.72 ^a	0.56	0.0048
N ₂ O from manure management (kg/head/yr)	1.75 ± 0.08 ^c	1.86 ± 0.07 ^{bc}	2.01 ± 0.09 ^{ab}	2.07 ± 0.09 ^a	0.06	0.0272
Total emissions (kg CO ₂ e/head/yr)	5,338.14 ± 92.39	5,392.72 ± 190.13	5,556.27 ± 239.00	5,514.74 ± 260.76	123.49	NS

¹ Data derived from gross energy. Gross energy was measured by the Bomb calorimeter.

² Treatment: CP 15 = diet with 15% of crude protein; CP 16 = diet with 16% of crude protein; CP 17 = diet with 17% of crude protein; CP 18 = diet with 18% of crude protein.

³ Mean ± SE (n = 16) for values estimated from IPCC tier 2.

^{a, b, c} Means within each row followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 5. 飼養不同蛋白質含量飼糧對泌乳牛影響之經濟效益評估

Table 5. Effect of different dietary protein levels on the economic benefits of lactating cows

	CP 15 (-2%)	CP 16 (-1%)	CP 17 (control)	CP 18 (+1%)
Dry matter price of feed, NT\$/kg	16.18	16.67	17.24	17.87
Daily feed cost per cow, NT\$	334	338	355	361
Milk price per kg, NT\$/kg	32.37	32.37	32.37	32.56
Daily milk revenue, NT\$	876	845	883	907
Gross income after feed cost, NT\$	542	507	528	547
Gross income increases or decrease compared to the control group, %	2.57	-3.89	—	3.41

氮排放是畜禽飼養業的一個重要環境問題，過量的氮不僅會影響水質，還可能導致大氣中的溫室氣體增加 (Aneja *et al.*, 2008)。高蛋白質飼糧會導致瘤胃中產生過量氨，當無法同步提供微生物可用的碳源或超過微生物的利用能力時，氨會被瘤胃吸收進入血液並送往肝臟，轉化為尿素後再經由腎臟隨尿液排出體外。根據 Yan *et al.* (2007) 的研究顯示，隨著日糧中 CP 含量的增加，尿液中的氮排放量顯著上升，降低飼糧中的 CP 濃度可以減少氨的產生，進而降低尿液中的氮含量。Schils *et al.* (2013) 指出，降低飼糧中的 CP 濃度可以減少尿液中氮排放，能降低土壤中硝酸鹽的積累，有助於控制水污染風險，糞便中的氮以有機形式存在，不會像尿液氮進入土壤後很快轉化為氨，容易揮發或進一步轉化為硝酸鹽，糞便中的氮相對於尿液中的氮更穩定，因為糞便中的有機氮需要經過微生物的分解才能釋放。在蛋白質品質對氮排出的影響方面，優化反芻動物對氮的利用效率，可能有效減少尿液中氮的流失，進而降低糞便中氨氣與氧化亞氮的排放 (Montes *et al.*, 2013)，透過降低飼糧中瘤胃可降解蛋白質的含量，並提高瘤胃未降解蛋白質的比例，可提升整體氮利用效率，並確保足夠的代謝蛋白質輸送至小腸供動物使用 (Calsamiglia *et al.*, 2010)。然而在 de Melo Coelho *et al.* (2022) 的研究中，添加瘤胃未降解蛋白質並未減少尿液中氮的流失，且導致氧化亞氮排放增加，對甲烷和氨的排放則無顯著影響，推測可能有 3 個原因，(一) 瘤胃未降解蛋白質飼糧中的可降解蛋白質含量仍足以滿足瘤胃微生物對氮的需求，導致未能形成顯著的尿素再循環以減少尿氮排出；(二) 當胺基酸進入小腸超出動物需求時，過量部分會被氧化產生尿素，增加尿氮的生成；(三) 高瘤胃未降解蛋白質飼糧可能導致尿液中含有較多的尿素，增加氧化亞氮排放。因此降低飼糧蛋白質含量可能比改善品質更有減碳效果。Castillo *et al.* (2000) 的文獻回顧中亦指出，乳牛對氮的利用效率低，約 72% 的採食的氮會透過糞便與尿液排出，當氮攝取量超過 400 g/d，氮排放主要以尿液形式增加，糞便和牛奶中氮排放量的增長幅度則呈線性下降，建議將日糧 CP 含量從 200 g/kg DM 降至 150 g/kg DM，可減少 21% 的糞氮排放與 66% 的尿氮排放。在本試驗中乳牛的糞便的氮排出量亦隨著飼料 CP 的減少而減少，尿液也有相同的現象，由 180 g/kg DM 降至 150 g/kg DM 時分別減少 30% 的糞氮及 12.6% 的尿氮排放 (表 2)，本試驗尿氮降低效果低於文獻可能是糞尿量的收集方式所造成的差異，但整體的結果與文獻是一致的。

Hristov *et al.* (2022) 研究指出飼料添加物可透過改變瘤胃發酵環境與微生物組成，影響氫 (H₂) 的利用途徑。當氫由甲烷生成途徑轉向被替代電子受體 (如硝酸鹽) 所利用時，可有效降低甲烷排放。此外，部分甲烷抑制劑添加物會改變瘤胃短鏈脂肪酸組成，增加丁酸比例，進而促進瘤胃氨的吸收與轉化，使乳中尿素氮濃度上升，改變氮的利用與分配。Niu *et al.* (2016) 研究則發現改變飼糧中 CP 含量對甲烷排放無顯著影響，但採食過量的 CP 除增加未被利用的氮隨糞尿排出，進一步形成氧化亞氮，增加溫室氣體排放量外，糞尿處理時有機物的分解也會增加碳排放量，故適當降低飼料中的 CP 能有效降低乳牛的碳排放量 (Gerber *et al.*, 2013)。在本試驗中雖然「總碳排放量」在處理組間差異未達顯著 (P > 0.05) (表 4)，但由各項溫室氣體來源顯示糞尿處理過程中甲烷與氧化亞氮排放量隨日糧蛋白質降低而顯著下降 (分別為 P = 0.0048 與 P = 0.0272)。然而，胃腸道甲烷排放仍是主要的排放來源，飼糧處理並未顯著降低其排放量，因而換算成 CO₂ 當量加總後，處理間之差異未達顯著。泌乳牛糞便及尿液中的氮與有機物 (未消化的物質) 排出，間接降低後續糞尿管理 (廢棄物處理時的堆肥化與廢水厭氣發酵) 產生的溫室氣體排放，即使胃腸道甲烷排放未顯著下降，整體仍具有減碳潛力，此結果與文獻 (Yan *et al.*, 2007; Gerber *et al.*, 2013; Schils *et al.*, 2013) 相符。碳排放量是畜牧業永續經營的關鍵因素，雖然至目前尚無充分證據支持降低飼糧 CP 即能直接顯著減少反芻動物胃腸道發酵產生的甲烷量，改變甲烷生成量關鍵仍是與瘤胃中碳水化合物的發酵有關，在供應乳牛能量的主要方式為飼糧碳水化合物 (澱粉和 NDF) 於瘤胃中發酵 (Abbas *et al.*, 2020) 及少量的脂肪 (Aschenbach *et al.*, 2010)，其中，纖維可以增加纖維分解菌的數量，從而提高 NDF 的利用率，並提高利用氫氣的產甲烷菌 (Flint, 2004; Abbas, *et al.*, 2020)，因此與氮代謝密切相關的碳水化合物和脂肪被認為是影響甲烷排放的主要因素 (Hristov

et al., 2013; Zhang *et al.*, 2024)。相較之下，澱粉可以促進瘤胃中的丙酸發酵，增加澱粉分解菌和乳酸利用菌的數量，它們會與產甲烷菌競爭氫氣以抑制甲烷排放 (Mohammed *et al.*, 2010)。富含纖維的飼糧則會促進乙酸發酵，產生更多的氫氣供產甲烷菌利用 (Moss *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2018)，因此，增加非纖維碳水化合物飼料調整方向可能是更有效的甲烷減排策略，然而，高量的非纖維碳水化合物可能會增加飼料成本和瘤胃酸中毒的風險 (Benchaar *et al.*, 2001)。反芻動物胃腸道產生的甲烷總量與糞便排放的甲烷量相比時，糞便產生的甲烷量很小 (Benchaar and Hassanat, 2019)，而降低 CP 日糧的碳排放策略主要作用反應在減少氮的排放及其後續廢棄物處理發酵過程所產生的碳排放量 (Gerber *et al.*, 2013)，同時在降低 CP 的同時，若不增量牧草纖維時，非纖維碳水化合物的含量即會增加，因此降低飼糧蛋白質對於降低碳排放量仍是有效的作法。由於試驗期間為乳牛泌乳後約 90 天內之中早期階段，此階段為乳牛營養需求與產乳量均相對穩定之期間，亦為整體泌乳期產量相對較高的階段，具有一定之代表性作為年碳排放量估算基礎，雖試驗仍存在時間範圍之侷限，不同泌乳階段的蛋白質需求與氮排放會有所差異，可能影響碳排放推算低估或高估實際總排放，但本試驗主要目的在開發飼糧調整減碳技術供產業參考應用，在國家溫室氣體排放清單報告中使用的活體溫室氣體排放量則同時間有其他研究使用呼吸室進行實際量測，後續可再進行數值上的比對分析。

在飼養成本方面，日糧中的蛋白質成分通常是飼料成本的主要組成部分，適度減少蛋白質含量可以明顯的降低每公斤飼料成本，同時在前述討論已了解降低飼糧 CP 可以減少氮的損失及浪費，因此可能降低乳牛的飼養成本，這對生產者來說具有直接的經濟效益可行措施。本試驗經濟效益評估中也顯示飼糧粗蛋白質含量降低時每日的飼料花費亦隨之減少，但由於乳量有數值上的不同，因此整體換算完後之扣除飼料費後的粗收益與對照組的差異相近，因此經濟效益上也是可行的做法。隨著全球對畜牧業的溫室氣體排放、氮氣排放及氮循環污染問題的關注，相關環境保護法規和政策將越來越嚴格，在減少飼糧中的蛋白質含量而不影響產能下，促進降低氮和碳的排放，為符合環保政策可行的方法之一，有助於促進畜牧業的永續經營與競爭力。

結 論

降低泌乳牛飼糧中的粗蛋白質含量，具有減少糞尿中氮排放和碳排放的潛力，同時維持生產性能及乳款收入，在乳牛碳排放量的數值上 CP 15% 組 (5,338 kg CO₂e / 頭 / 年) 較 CP 17% 或 CP 18% 組分別減少了 218 與 177 kg CO₂e / 頭 / 年，約減少 3.92 – 3.21%，雖然總碳排放量未達統計顯著差異，但在糞尿管理產生的甲烷與氧化亞氮排放量均呈顯著下降 (P < 0.05)，顯示低蛋白質飼糧的減碳作用主要來自於降低泌乳牛糞尿中的氮排放及其後續糞尿處理間接系統生成的溫室氣體。

參考文獻

- 行政院環境保護署。2022。中華民國國家溫室氣體排放清單報告。111 年 8 月，行政院環境保護署。
- 李春芳、蕭宗法、陳吉斌、劉秀洲。2000。溫室氣體產量測定及減量對策 - 反芻動物甲烷排放及減量對策 (II)：省產牧草對荷蘭牛泌乳性能與溫室氣體產量的影響。八十八年度國科會 / 環保署科技合作研究計畫書。
- Abbas, W., J. T. Howard, H. A. Paz, K. E. Hales, J. E. Wells, L. A. Kuehn, G. E. Erickson, M. L. Spangler. 2020. Influence of host genetics in shaping the rumen bacterial community in beef cattle. *Sci. Rep.* 10: 15101.
- Agle, M., A. N. Hristov, S. Zaman, C. Schneider, P. Ndegwa, and V. K. Vaddella. 2010. The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93: 1625-1637.
- Aneja, V. P., J. Blunden, K. James, W. H. Schlesinger, R. Knighton, W. Gilliam, G. Jennings, D. Niyogi, and S. Cole. 2008. Ammonia assessment from agriculture: US status and needs. *J. Environ. Qual.* 37: 515-520.
- Aschenbach, J. R., N. B. Kristensen, S. S. Donkin, H. M. Hammon, and G. B. Penner. 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life* 62: 869e77.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy sci.* 88: E9-E21.
- Barros, T., M. A. Quaassdorff, M. J. Aguerre, J. O. Colmenero, S. J. Bertics, P. M. Crump, and M. A. Wattiaux. 2017. Effects of dietary crude protein concentration on late-lactation dairy cow performance and indicators of nitrogen utilization. *J. Dairy Sci.* 100: 5434-5448.

- Benchaar, C., C. Pomar, and J. Chiquette. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. *Can. J. Anim. Sci.* 81(4): 563-574.
- Benchaar, C. and F. Hassanat. 2019. Methane emissions of stored manure from dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. *J. Dairy Sci.* 102: 10632-10638.
- Calsamiglia, S., A. Ferret, C. K. Reynolds, N. B. Kristensen, and A. M. Van Vuuren. 2010. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. *Animal* 4: 1184-1196.
- Castillo, A. R., E. Kebreab, D. E. Beever, and J. France. 2000. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. *J. Anim. Feed Sci.* 9: 1-32.
- de Melo Coelho, L., L. de Figueiredo Brito, J. D. Messana, A. da Silva Cardoso, G. M. Carvalho, R. de Nazaré Santos Torres, and T. T. Berchielli. 2022. Effects of rumen undegradable protein sources on nitrous oxide, methane and ammonia emission from the manure of feedlot-finished cattle. *Scientific Reports* 12: 9166.
- Eckard, R. J., C. Grainger, and C. A. M. de Klein. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livest. Sci.* 130: 47-56.
- Flint, H. J. 2004. Polysaccharide breakdown by anaerobic microorganisms inhabiting the mammalian gut. *Adv. Appl. Microbiol.* 56: 89-120.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2023. Pathways towards lower emissions – A global assessment of the greenhouse gas emissions and mitigation options from livestock agrifood systems.
- Gerber, P. J., H. Steinfeld, B. Henderson, A. Mottet, C. Opio, J. Dijkman, A. Falcucci, and G. Tempio. 2013. Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, Italy.
- Groff, E. B. and Z. Wu. 2005. Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci.* 88: 3619-3632.
- Hristov, A. N., A. Melgar, D. Wasson, and C. Arndt. 2022. Symposium review: Effective nutritional strategies to mitigate enteric methane in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 105: 8543-8557.
- Hristov, A. N., J. Oh, C. Lee, R. Meinen, F. Montes, and T. Ott. 2013. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production - A review of technical options for nonCO₂ emissions. FAO Animal Production and Health Paper No. 177. Rome, Italy.
- Hristov, A. N., K. Heyler, E. Schurman, K. Griswold, P. Topper, M. Hile, V. Ishler, E. Wheeler, and S. Dinh. 2015. Case study: Reducing dietary protein decreased the ammonia-emitting potential of manure from commercial dairy farms. *The Professional Animal Scientist* 31: 68-79.
- Hynes, D. N., S. Stergiadis, A. Gordon, and T. Yan. 2016. Effects of crude protein level in concentrate supplements on animal performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows fed fresh-cut perennial grass. *J. Dairy Sci.* 99: 8111-8120.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories.
- Kebreab, E., J. France, D. E. Beever, and A. R. Castillo. 2001. Nitrogen pollution by dairy cows and its mitigation by dietary manipulation. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 60: 275-285.
- Law, R. A., F. J. Young, D. C. Patterson, D. J. Kilpatrick, A. R. G. Wylie, and C. S. Mayne. 2009. Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. *J. Dairy Sci.* 92: 1001-1012.
- Li, Z., N. Liu, Y. Cao, C. Jin, F. Li, C. Cai, and J. Yao. 2018. Effects of fumaric acid supplementation on methane production and rumen fermentation in goats fed diets varying in forage and concentrate particle size. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9: 21.
- Mohammed, R., J. J. Kennelly, J. K. G. Kramer, K. A. Beauchemin, C. S. Stanton, and J. J. Murphy. 2010. Effect of grain type and processing method on rumen fermentation and milk rumenic acid production. *Animal* 4: 1425-1444.
- Montes, F., R. Meinen, C. Dell, A. Rotz, A. N. Hristov, J. Oh, G. Waghorn, P. J. Gerber, B. Henderson, H. P. S. Makkar, and J. Dijkstra. 2013. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: II. A review of manure management mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91: 5070-5094.
- Moss, A., J. P. Jouany, and J. Newbold. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann Zootech (Paris)* 49: 231-253.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. The National Academies Press. Washington, USA.

- National Research Council (NRC). 2021. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 8th ed. National Academy Press. Washington, D. C.
- Niu, M., J. A. D. R. N. Appuhamy, A. B. Leytem, R. S. Dungan, and E. Kebreab. 2016. Effect of dietary crude protein and forage contents on enteric methane emissions and nitrogen excretion from dairy cows simultaneously. *Anim. Prod. Sci.* 56: 312-321.
- Rendón-Huerta, J. A., J. M. Pinos-Rodríguez, and E. Kebreab. 2018. Animal nutrition strategies to reduce greenhouse gas emissions in dairy cattle. *Acta Universitaria* 28(5): 34-41.
- Schils, R. L. M., J. Eriksen, S. F. Ledgard, T. V. Vellinga, P. J. Kuikman, J. Luo, S. O. Petersen, and G. L. Velthof. 2013. Strategies to mitigate nitrous oxide emissions from herbivore production systems. *Animal* 7: 29-40.
- Schmidt, A. 2017. Modelling economic incentives to reduce nitrogen surpluses of Swiss agriculture in the agent-based model SWISSland. PhD Diss. ETH, Zurich.
- Sinclair, K. D., P. C. Garnsworthy, G. E. Mann, and L. A. Sinclair. 2014. Reducing dietary protein in dairy cow diets: Implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Animal* 8: 262-274.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2014. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute, Cary, NC.
- Steinfeld H., P. Gerber, T. D. Wassenaar, V. Castel, M. Rosales, and C. de Haan. 2006. *Livestock's long shadow: Environmental issues and options*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Yan, T., J. P. Frost, T. W. J. Keady, R. E. Agnew, and C. S. Mayne. 2007. Prediction of nitrogen excretion in feces and urine of beef cattle offered diets containing grass silage. *J. Anim. Sci.* 85: 1982-1989.
- Zhang, C., X. Jiang, S. Wu, J. Zhang, Y. Wang, Z. Li, and J. Yao. 2024. Dietary fat and carbohydrate-balancing the lactation performance and methane emissions in the dairy cow industry: A meta-analysis. *Anim. Nutr.* 17: 347-357.

The effect of different crude protein levels in feed on greenhouse gas emissions in Holstein Lactating Cows ⁽¹⁾

Geng-Jen Fan ⁽²⁾ Chun-Ta Chang ⁽²⁾ Jing-You Lai ⁽²⁾ Jia-Rong Lee ⁽²⁾ Hu-Wen Hung ⁽³⁾ Yi-Hui Hsieh ⁽³⁾ Jih-Tay Hsu ⁽⁴⁾ and Mei-Ping Cheng ⁽⁵⁾⁽⁶⁾

Received: Apr. 9, 2025; Accepted: Sep. 19, 2025

Abstract

This study evaluated the effects of reducing dietary crude protein (CP) concentration in lactating Holstein cows on production performance, nitrogen (N) excretion, and greenhouse gas (GHG) emissions. Sixteen cows with an average daily milk yield of 30.63 kg were assigned to four groups based on milk yield and fed diets containing 15%, 16%, 17%, or 18% CP. All diets were formulated to be isoenergetic (NEI = 1.69 Mcal/kg) with fixed proportions of concentrate, forage, and by-products (45:45:10). A 4 × 4 Latin square design was used, with each period lasting 21 days (14 days of adaptation and 7 days of data collection). Cows were group-housed and had ad libitum access to feed and water to compare the effects of different diets on milk yield, milk composition, nitrogen excretion, and GHG emissions. The results showed that reducing dietary CP concentration had no negative effects on dry matter intake or milk yield ($P > 0.05$). Milk yield for the 15%, 16%, 17%, and 18% CP groups was 27.07, 26.09, 27.29, and 27.87 kg/day, respectively. Lower CP diets significantly reduced milk urea nitrogen concentration and fecal N excretion ($P < 0.05$). Based on the methodology of the Intergovernmental Panel on Climate Change, total carbon emissions in the 15% CP group (5,338 kg CO₂e/head/year) were lower than those in the 17% (5,556 kg CO₂e/head/year) and 18% (5,515 kg CO₂e/head/year) groups, representing reductions of 218 and 177 kg CO₂e/head/year (approximately 3.92%–3.21%), although the differences were not statistically significant. However, methane ($P = 0.0048$) and nitrous oxide ($P = 0.0272$) emissions from manure management were significantly reduced. In conclusion, feeding lactating Holstein cows a diet containing 15% CP maintained milk yield while minimizing nitrogen losses in feces and urine and reducing GHG emissions. Therefore, low-protein feeding strategies represent a practical approach for environmental protection and sustainable dairy production.

Key words: Dairy cows, Methane, Carbon emissions.

(1) Contribution No. 2841 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Livestock Management Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan, 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, No. 50, Lane 155, Sec. 3, Keelung Road, Taipei 106, Taiwan, R. O. C.

(5) Deputy Director General Office, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

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

太陽麻及盤固草混植栽培模式之建立⁽¹⁾

蔡立中⁽²⁾⁽³⁾ 張世融⁽²⁾ 李姿蓉⁽²⁾ 林正斌⁽²⁾

收件日期：114 年 7 月 1 日；接受日期：114 年 9 月 26 日

摘 要

太陽麻 (*Crotalaria juncea* L.) 為高產且粗蛋白質 (Crude protein, CP) 含量高之豆科作物，在世界多國廣泛應用於綠肥、纖維及飼料用途。由於臺灣畜牧業長期依賴進口豆科乾草，若能開發國產豆科牧草，有望強化國產芻料自給率並降低動物飼養成本。本研究之目標為建立太陽麻及盤固草 (*Digitaria decumbens* Stent.) 之禾豆混植模式，探討最適栽種比例及收穫期，以期提供國產豆科牧草新選擇。試驗於臺南市新化區進行，設定 4 個太陽麻播種量 (10、20、40 及 60 kg/ha)，並以相鄰盤固草純草地作為對照組。試驗於春、秋兩季進行，分別於種植後 30、45 及 60 日 (DAP30、45 及 60) 收穫，並評估其農藝性狀及芻料品質。結果顯示，以 60 kg/ha 之太陽麻播種量種植具有最高之產量，且與對照組相比其 CP 及中洗纖維 (Neutral detergent fiber, NDF) 含量具有顯著改善，芻料品質有所提升。種植日數方面，於 DAP45 時收穫能兼顧產量與芻料品質，避免 CP 含量過度降低，NDF 及酸洗纖維 (Acid detergent fiber, ADF) 含量過度增加。因此本研究建議盤固草混植太陽麻之混植方法為採用 60 kg/ha 之太陽麻播種量播種，並於 DAP45 時收穫。本研究展現了開發太陽麻作為國產豆科牧草之可行性與潛力。

關鍵詞：太陽麻、盤固草、禾豆混植。

緒 言

太陽麻 (*Crotalaria juncea* L.) 為一年生直立型熱帶豆科植物，原產自印度，常被世界各地利用作為覆蓋作物、纖維來源與飼料作物等用途，以印度、巴西、孟加拉、巴基斯坦、中國及韓國等為太陽麻主要生產國 (Eberle and Shortnacy, 2021; Garzon *et al.*, 2021)。太陽麻作為豆科作物，根部能進行固氮作用，提供土壤一定氮源，因其植株生長迅速，植體耕埋入土壤後能成為優良的綠肥作物。此外，太陽麻具有生物量大及粗蛋白質 (Crude protein, CP) 含量高等特性，亦可作為優質飼料作物，補充動物飼糧中禾本科乾草較為缺乏之蛋白質，因此評估太陽麻作為芻料餵飼動物之相關研究不曾間斷。

早期學界曾認為 *Crotalaria* 屬的植物含有吡咯利啉生物鹼 (Pyrrolizidine alkaloids, PA)，會對飼養動物造成不良影響，但後來研究顯示太陽麻含有之 PA 主要存在於種子內，且含量不多，只要不是完全餵飼動物太陽麻種子，少量的種子混在植株內，對飼養動物並無影響 (Mosjidis *et al.*, 2012)。Mansoor *et al.* (1997) 之研究顯示太陽麻葉的中洗纖維 (Neutral detergent fiber, NDF) 及酸洗纖維 (Acid detergent fiber, ADF) 含量皆適中，可作為放牧乳牛的高品質芻料。Garzon *et al.* (2021) 以太陽麻取代一半的百慕達乾草餵飼小母牛，其乾物質採食量 (Dry matter intake) 與體內乾物質消化率 (*In vivo* dry matter digestibility) 皆較完全餵飼百慕達乾草之小母牛無顯著差異，顯示以太陽麻取代部分禾本科乾草是可行的。Eberle 及 Shortnacy (2021) 之研究顯示在美國懷俄明州種植之太陽麻，其 CP、NDF 及 ADF 含量等營養組成皆能與高品質的苜蓿乾草相當，且在灌溉充足條件下，太陽麻生長快速，產量較苜蓿為高，對於飼料作物生產更有利。除了放牧、鮮飼或乾草調製，太陽麻做適度調製也能成為優良之青貯料，王等 (2009) 將太陽麻添加青割玉米，以 1 : 4 之比例調製青貯料，結果顯示其 Flieg 氏評分點 (Flieg's point) 可達 83，屬於「良好」品質之青貯料。胡 (2011) 以太陽麻混合玉米之青貯料餵飼乳羊，結果顯示不僅能被乳羊接受，且其產乳性能與單獨餵飼青割玉米青貯料之乳羊亦相近。Wanapat *et al.* (2021) 於原本餵飼稻稈的雜交肉牛芻料中添加太陽麻青貯料，發現能顯著提高乾物質、有機質、CP 及氮的消化率，並促進瘤胃的運作，且能符合雜交肉牛每日營養需求。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2842 號。

(2) 農業部畜產試驗所飼料作物組。

(3) 通訊作者，E-mail: humanspider123@tlri.gov.tw。

由於臺灣國產豆科芻料普遍缺乏，通常必須仰賴進口苜蓿乾草，在國際市場價格波動時會對嚴重影響我國畜產業，因此開發國產豆科芻料，逐步取代進口，有利於我國畜產業發展。太陽麻具有生長快速、生物產量高及對土壤適應佳等優點，在臺灣之種植面積約為 15,000 公頃，年產量可達每公頃 15 至 20 公噸，分別屬於臺灣種植面積第二大，年產量第三高之綠肥作物（農業部，2024）。目前太陽麻在臺灣多以綠肥作物來利用，但其高產、易栽培及氮含量高之特性，作為豆科芻料在畜牧業中利用有其誘因。

禾豆混植是指禾本科與豆科牧草同時混合種植的栽培模式，比起傳統單植栽培模式，禾豆混植的優點在於豆科牧草的固氮作用能增加土壤氮素，因此施用的氮肥可以減量，在收成牧草時比起傳統單植亦能簡化工序、降低勞力成本。本研究之目的為建立豆科牧草太陽麻及禾本科牧草盤固草 (*Digitaria decumbens* Stent.) 混植之最適栽種比例及最適收穫期，為我國牧草生產業者提供國產豆科牧草新選擇，期能提升牧草自給率。

材料與方法

I. 試驗材料與試驗處理

本試驗於 2024 年 3 月 27 日至同年 11 月 11 日間，在農業部畜產試驗所（臺南市新化區）盤固草剪草區進行。於盤固草地耕犁出每塊 2.5 m × 20 m (50 m²) 之小區，以人工方式撒播太陽麻種子，撒播量分別為 A. 10、B. 20、C. 40 及 D. 60 kg/ha 等 4 組作為試驗處理，並以周邊相鄰之純盤固草地 (A254 品系) 作為對照組 CK。試驗設計採逢機完全區集設計 (Randomized complete block design, RCBD)，每個組別 3 重複。試驗分別於春秋兩季進行，並於太陽麻種植後 (Days after planting, DAP) 30 日、45 日及 60 日 (DAP30、45 及 60) 分別採樣調查，春作之試驗期間為 3 月 27 日至 5 月 23 日，秋作為 9 月 12 日至 11 月 11 日。試驗期間之雨量及氣溫資料顯示於圖 1，氣象資料取自臺南市新化區畜產試驗所之農業氣象站。試驗區之土壤背景資料顯示於表 1。春作試驗初期由於降雨不足，太陽麻種子發芽不佳，因此有輔以沼液灌溉以改善發芽率，待發芽成功後便停止灌溉，除此之外，春作及秋作於試驗期間並無額外進行其餘施肥、除草、灌溉等栽培管理工作。

II. 農藝及經濟性狀調查

- (i) 葉尖株高 (Plant height of leaf tip)：將植株葉部向上方拉直，自土面量至葉片頂點，每區測量 3 筆。
- (ii) 鮮重產量 (Fresh yield, FY)：取 2.5 m × 1 m 之鐵製方框框取範圍，收穫方框內之芻料並去除雜草，之後將芻料中太陽麻及盤固草分開，秤重並調查其單獨之鮮重產量，再將調查之鮮重產量換算為每公頃產量。總鮮重產量為單獨鮮重產量之合計。
- (iii) 乾物產量 (Dry matter yield, DY)：調查完鮮重產量後以 65°C 烘乾至恆重，後秤其總乾物產量並換算為每公頃乾物產量。乾物產量並無再將太陽麻及盤固草分開調查。
- (iv) 乾物率 (Dry matter)：總乾物產量與總鮮重產量之比值 (DY/FY)。乾物率同樣無再將太陽麻及盤固草分開調查。

III. 植體營養成分分析方法

農藝性狀調查完畢後進行 65°C 之烘乾作業，並磨粉進行植體營養成分分析。植體營養成分並無將太陽麻及盤固草分開分析。

- (i) CP：以 Kjeldahl method 測定 (Bremner and Mulvaney, 1982; A.O.A.C., 1990)。
- (ii) 水溶性碳水化合物 (Water soluble carbohydrate, WSC)：將植體樣本加入蒸餾水以 100°C 煮沸後冷卻並定量至 100 mL，後取適量萃取液依照 Paleg (1959) 之比色法測定，以分光光譜儀 (Double beam spectrophotometer. U-2900. Hitachi High-Tech, Tokyo, Japan) 設定波長 560 nm 對樣本進行 WSC 含量之測定。

表 1. 試驗前之土壤理化性質

Table 1. Soil physic and chemical properties before the trial

Season	pH	EC ¹	OM	TN	AP	EK	ECa	EMg	Soil texture
		μS/cm	----- % -----	----- ppm -----					
Spring	5.9	722.5	7.95	0.24	19.4	270.5	1100.0	439.3	Clay
Fall	5.2	50.0	4.05	0.09	3.3	32.8	800.0	135.8	Clay

¹ EC: Electrical conductivity; OM: Organic matter; TN: Total nitrogen; AP: Available phosphorus; EK: Exchangeable potassium; ECa: Exchangeable calcium; EMg: Exchangeable magnesium.

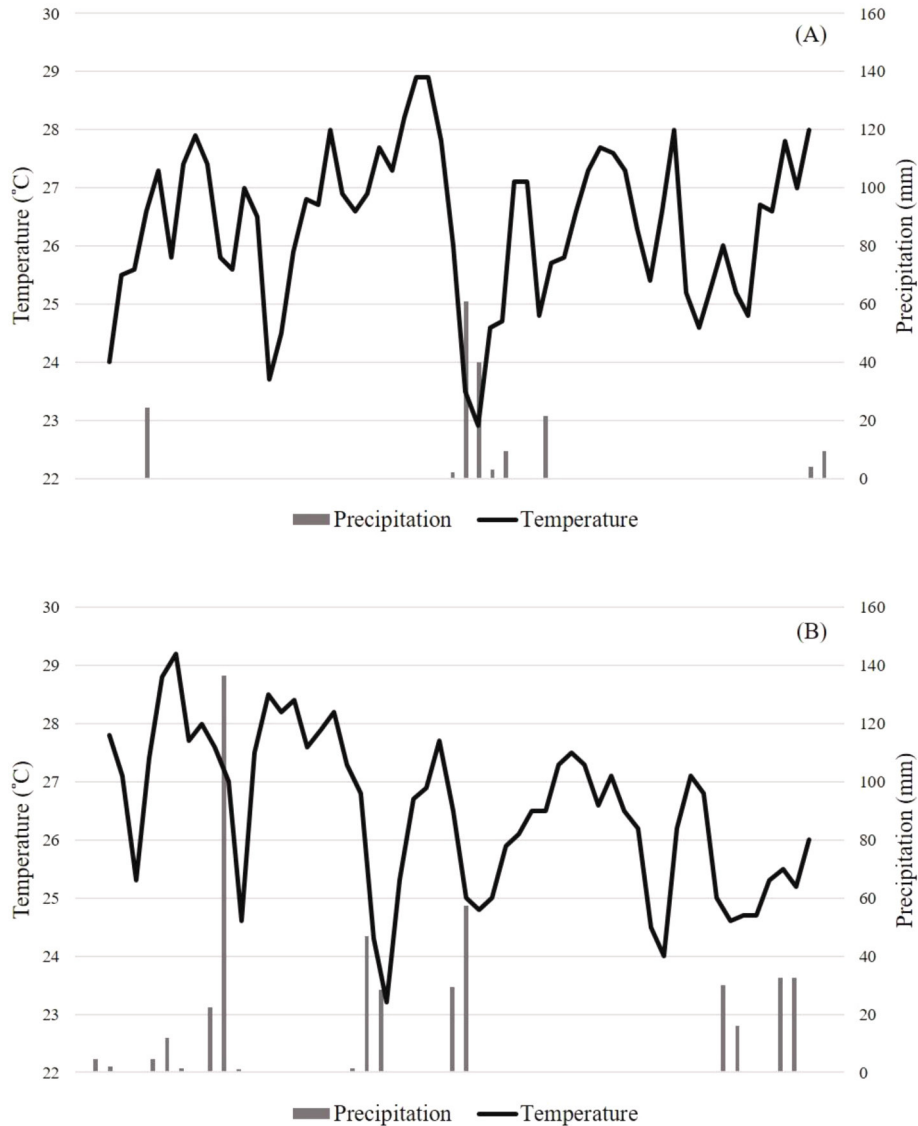


圖 1. 春作 (A) 及秋作 (B) 試驗期間之雨量及氣溫。

Fig. 1. Precipitation and temperature during the spring (A) and fall (B) trials.

(iii) 澱粉 (Starch)：以 Yoshida *et al.* (1976) 之方法進行萃取，將植體樣本製成萃取液並加入呈色劑，之後以標準品檢量線經分光光譜儀測定 560 nm 之吸光值測定樣本之澱粉含量。

(iv) NDF、ADF 及酸洗木質素 (Acid detergent lignin, ADL)：以纖維分析器 (Fiber analyzer. A200. ANKOM Technology, Macedon, NY, USA) 進行測定。

IV. 土壤成分分析

於試驗前採集試驗區深度 30 cm 以下之表層土壤，以自然陰乾後過篩，並分析其土壤質地、pH 值、電導度值 (Electrical conductivity, EC)、有機質 (Organic matter, OM)、總氮，及有效性磷、交換性鉀、鈣、鎂等項目。

(i) 土壤質地：以波氏比重計 (Bouyoucos hydrometer) 進行土壤質地之分析。

(ii) 土壤 pH 值：取土壤樣品加入等量蒸餾水 (土與水比例為 1:1) 並震盪 30 分鐘，之後以桌上型 pH 計 (Laboratory pH/mV/Temp. meter. SP-2100. SUNTEX INSTRUMENTS, New Taipei City, Taiwan) 測定土壤 pH 值。

(iii) EC：以電導度計 (Microprocessor benchtop conductivity/resistivity meter. SC-2300. SUNTEX INSTRUMENTS, New Taipei City, Taiwan) 測定土壤電導度，土水比為 1:1。

(iv) OM：先測定樣品中之粗灰分含量，測定方法修正自 Adrian (1973) 之乾式灰化法 (Dry-ashing method)，再利用 $OM (\%) = (100 - \text{粗灰分含量}) \times 100\%$ 求出樣品之 OM 含量。

(v) 總氮：以 Kjeldahl method (A.O.A.C., 1990) 測定土壤總氮。

(vi) 有效性磷：以 Bray-1 method (Bray and Kurtz, 1945) 萃取土壤有效性磷，並以分光光度計 (Double beam

spectrophotometer. U-2900. Hitachi High-Tech, Tokyo, Japan) 進行測定。

(vii) 交換性鉀、鈣及鎂：以中性醋酸銨溶液萃取土壤中之陽離子，再以原子吸收光譜儀 (Polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer. Z-8230. Hitachi High-Tech, Tokyo, Japan) 進行測定。

V. 統計分析

試驗資料以 SPSS 軟體 (SPSS 2011, SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. SPSS, Chicago, IL, USA) 進行統計分析，將太陽麻 5 個播種量 (包含對照組) 及 3 個種植日數設定為固定因子 (Fixed effects) 進行二因子變方分析 (Two-Way ANOVA test)，並以 LSD test 進行差異比較。

結果與討論

I. 春作

春作於 3 月底播種，試驗進行期間大致為 4 至 5 月。農藝性狀調查之差異顯著性如表 2，結果顯示太陽麻葉尖株高、太陽麻鮮重產量、總鮮重產量及總乾物產量受太陽麻播種量之影響皆達顯著差異，且所有農藝性狀調查項目顯著受種植日數之影響，反之，太陽麻播種量及種植日數在所有的農藝性狀調查項目間皆無呈現顯著交感效應 (如表 2)。太陽麻葉尖株高、太陽麻鮮重產量、總鮮重產量及總乾物產量皆以 D 組最高，顯著高於 A 及 B 組，而總鮮重產量及總乾物產量除了高於 A 及 B 組外，D 組亦高於對照組 (表 3)。盤固草之產量在所有組別間無顯著差異，而處理組間總鮮重產量及總乾物產量之差異主要取決於太陽麻產量之差異，以 D 組顯著高於其他組。Jaramillo *et al.* (2010) 發現太陽麻在 17 至 39 kg/ha 之播種量下的生物產量並無顯著差異，Eberle and Shortnacy (2021) 亦發現在灌溉足夠的條件下，播種量並不影響太陽麻生物產量，並推測在生長環境適當時，太陽麻在低密度狀況下仍能長出更多側枝，藉以彌補生物產量。在本研究中，A、B 及 C 三組之鮮重產量無顯著差異，符合過去文獻之描述，而當播種量增加至 D 組 60 kg/ha 時，其鮮重產量才具有顯著增長。

表 2. 春作太陽麻及盤固草農藝性狀調查之變方分析顯著性

Table 2. Significance of ANOVA on sunn hemp and pangolagrass agronomic traits in spring cultivation

Fixed source of variation	PHL ¹		FY			Total DM	Total DY
	Pangolagrass	Sunn hemp	Pangolagrass	Sunn hemp	Total		
Seeding rate (SR)	0.095 ²	0.006	0.428	0.002	< 0.001	0.231	0.029
Growth days (GS)	0.005	< 0.001	0.007	< 0.001	0.040	0.037	< 0.001
SR × GS	0.499	0.255	0.979	0.592	0.897	0.607	0.455

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DM: Dry matter; DY: Dry matter yield.

² Probability value for the significance of the F test.

表 3. 太陽麻播種量對春作太陽麻株高、太陽麻鮮重產量、總鮮重產量及總乾物產量之影響

Table 3. The effect of sunn hemp seeding rate on sunn hemp PHL, sunn hemp FY, total FY, and total DY1 in spring cultivation

Seeding rate	Sunn hemp PHL	Sunn hemp FY	Total FY	Total DY
kg/ha	cm	----- t/ha/cut -----		t/ha/cut
A. 10	125.4 ^b	6.1 ^b	20.6 ^b	4.0 ^b
B. 20	124.0 ^b	5.4 ^b	18.3 ^b	3.5 ^b
C. 40	136.6 ^a	8.3 ^b	21.6 ^{ab}	4.4 ^{ab}
D. 60	140.5 ^a	11.6 ^a	27.9 ^a	5.6 ^a
CK. Pangolagrass			18.5 ^b	4.2 ^b

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DY: Dry matter yield.

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

此外，所有的農藝性狀數值皆隨著種植日數增加而有顯著提升(表4)。DAP45及DAP60之盤固草鮮重產量顯著高於DAP30，而在DAP45及DAP60之間並無顯著差異，顯示盤固草產量在DAP45後成長趨緩。太陽麻鮮重產量在DAP45及DAP60之差異為顯著，顯示太陽麻產量在DAP45之後尚有比較大的成長。

表4. 種植日數對春作太陽麻及盤固草農藝性狀之影響

Table 4. The effect of growth days on sunn hemp and pangolagrass agronomic traits in spring cultivation

DAP ²	PHL ¹		FY			DM	Total DY
	Pangolagrass	Sunn hemp	Pangolagrass	Sunn hemp	Total		
	----- cm -----		----- t/ha/cut -----			%	t/ha/cut
30	60.0 ^b	88.2 ^c	10.1 ^b	3.7 ^c	13.0 ^c	17.2 ^b	2.1 ^c
45	65.0 ^{ab}	141.1 ^b	16.8 ^a	7.5 ^b	22.8 ^b	20.7 ^{ab}	4.7 ^b
60	69.4 ^a	165.6 ^a	18.5 ^a	12.3 ^a	28.3 ^a	22.0 ^a	6.2 ^a

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DM: Dry matter; DY: Dry matter yield.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

芻料品質方面，CP、WSC、澱粉、NDF及ADF含量受太陽麻播種量之影響皆為顯著，CP、澱粉、NDF、ADF及ADL含量受種植日數之影響皆為顯著，太陽麻播種量及種植日數在澱粉含量中之交感效應呈現顯著，其餘分析項目則無呈現交感(表5)。所有處理組之CP、WSC及NDF含量皆與對照組顯著不同，CP含量顯著高於對照組，而WSC及NDF含量顯著低於對照組，處理組間則無顯著差異；ADF含量為B組顯著低於C、D兩組及對照組(表6)。芻料品質在處理組間的差異並不顯著，主要的差異在於各處理組及對照組之間，因此處理組在混植太陽麻後，CP含量較純盤固草之對照組提升，WSC含量及NDF含量降低，ADF含量則並無變化。NDF及ADF含量一般分別與飼料作物之採食量及消化率呈負向關係(Waghorn and Clark, 2004)，因此混植太陽麻後可能有助於增加芻料之動物採食量，卻無法增加其消化率。CP含量隨著種植日數增加而顯著降低，NDF、ADF及ADL含量皆隨著種植日數增加而顯著提升(表7)。Garzon *et al.* (2021) 針對不同品種太陽麻進行芻料品質分析，太陽麻之CP含量依品種不同而有差異，但在DAP60時多為13至15%，且在開花時降至10至12%。本研究與過去文獻之結果相符，CP含量隨著種植日數增加而逐漸降低。Mansoor *et al.* (1997) 之研究顯示太陽麻NDF及ADF含量皆隨著種植日數增加而提升，與本研究之結果相符，此結果亦與一般作物隨著種植日數增加累積纖維之生長狀況相符。太陽麻播種量及種植日數在澱粉含量中之交感效應呈現顯著，表8顯示太陽麻播種量及種植日數對澱粉含量之影響。澱粉含量在DAP30時無顯著差異，但在DAP45及DAP60時皆以太陽麻播種量較高之C、D兩組較低，其中D組顯著低於A、B兩組及對照組；所有太陽麻播種量之處理組皆隨著種植日數增加而降低，其中C、D兩組達顯著差異程度。

表5. 春作芻料品質之變方分析顯著性

Table 5. Significance of ANOVA on forage quality in spring cultivation

Fixed source of variation	CP ¹	WSC	Starch	NDF	ADF	ADL
Seeding rate (SR)	< 0.001 ²	0.003	< 0.001	< 0.001	0.012	0.560
Growth days (GS)	< 0.001	0.973	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
SR × GS	0.420	0.082	0.027	0.131	0.077	0.571

¹ CP: Crude protein; WSC: Water soluble carbohydrate; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; ADL: Acid detergent lignin.

² Probability value for the significance of the F test.

II. 秋作

秋作於9月中播種，試驗進行期間為9至11月。所有農藝性狀調查項目受太陽麻播種量及種植日數之影響皆為顯著，太陽麻播種量及種植日數在盤固草鮮重產量及乾物率間呈現顯著交感效應，其餘無交感(表9)。表10呈現太陽麻播種量數對農藝性狀之影響，盤固草葉尖株高以C組顯著最低，對照組顯著最高。太陽麻葉尖株

高、太陽麻鮮重產量、總鮮重產量及總乾物產量皆隨太陽麻播種量增加而顯著提升，其中 D 組及對照組之總鮮重產量顯著最高，總乾物產量則以對照組顯著最高。盤固草葉尖株高、太陽麻葉尖株高、太陽麻鮮重產量、總鮮重產量及總乾物產量皆隨著種植日數增加而顯著提升 (表 11)。太陽麻播種量及種植日數對盤固草鮮重產量及總乾物率之影響如表 12，秋季盤固草經耕犁後再生緩慢，所有處理組之盤固草鮮重產量皆顯著低於對照組，且只有對照組隨著種植日數增加而提升，其餘處理組則無顯著變化。乾物率在 DAP30 時之處理組間以 D 組為顯著最低，在 DAP45 及 DAP60 時之處理組間則無顯著差異，且不論種植日數所有處理組皆顯著低於對照組；而各播種量處理組的乾物率大致上隨著種植日數增加而提升。

表 6. 太陽麻播種量對春作粗蛋白質、水溶性碳水化合物、中洗纖維及酸洗纖維含量之影響

Table 6. The effect of sunn hemp seeding rate on CP, WSC, NDF, and ADF1 content in spring cultivation

Seeding rate	CP	WSC	NDF	ADF
kg/ha	----- % -----			
A. 10	14.7 ^a	2.0 ^b	60.9 ^b	35.1 ^{ab}
B. 20	15.7 ^a	2.4 ^b	58.2 ^b	33.6 ^b
C. 40	14.0 ^a	2.3 ^b	59.8 ^b	36.6 ^a
D. 60	14.4 ^a	1.9 ^b	59.7 ^b	36.8 ^a
CK. Pangolagrass	10.3 ^b	2.8 ^a	68.4 ^a	36.4 ^a

¹ CP: Crude protein; WSC: Water soluble carbohydrate; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber.

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 7. 種植日數對春作粗蛋白質、中洗纖維、酸洗纖維及酸洗木質素含量之影響

Table 7. The effect of growth days on CP, NDF, ADF, and ADL1 content in spring cultivation

DAP ²	CP	NDF	ADF	ADL
	----- % -----			
30	17.7 ^a	58.0 ^b	31.7 ^c	3.8 ^c
45	13.9 ^b	60.2 ^b	34.2 ^b	5.4 ^b
60	9.8 ^c	66.0 ^a	41.3 ^a	8.1 ^a

¹ CP: Crude protein; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; ADL: Acid detergent lignin.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 8. 太陽麻播種量及種植日數對春作澱粉含量之影響

Table 8. Effects of sunn hemp seeding rate and growth days on starch content in spring cultivation

Seeding rate	DAP ¹		
	30	45	60
kg/ha	----- % -----		
A. 10	6.7 ^{aA}	5.9 ^{abA}	5.2 ^{bA}
B. 20	6.6 ^{aA}	6.0 ^{abA}	5.3 ^{bA}
C. 40	8.2 ^{aA}	5.2 ^{bcB}	4.0 ^{bcB}
D. 60	6.8 ^{aA}	4.4 ^{cB}	2.9 ^{cB}
CK. Pangolagrass	8.9 ^{aA}	7.0 ^{aA}	8.4 ^{aA}

¹ DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

^{A, B} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

表 9. 秋作太陽麻及盤固草農藝性狀調查之變方分析顯著性

Table 9. Significance of ANOVA on sunn hemp and pangolagrass agronomic traits in fall cultivation

Fixed source of variation	PHL ¹		FY			Total DM	Total DY
	Pangolagrass	Sunn hemp	Pangolagrass	Sunn hemp	Total		
Seeding rate (SR)	< 0.0012	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Growth days (GS)	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
SR × GS	0.351	0.401	< 0.001	0.381	0.394	< 0.001	0.285

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DM: Dry matter; DY: Dry matter yield.

² Probability value for the significance of the F test.

表 10. 太陽麻播種量數對太陽麻及盤固草秋作農藝性狀之影響

Table 10. The effect of sunn hemp seeding rate on sunn hemp and pangolagrass agronomic traits in fall cultivation

Seeding rate	PHL ¹		FY		Total DY
	Pangolagrass	Sunn hemp	Sunn hemp	Total	
kg/ha	cm		t/ha/cut		
A. 10	31.8 ^{bc}	100.8 ^c	3.2 ^c	3.7 ^c	0.9 ^d
B. 20	32.0 ^{bc}	106.3 ^{bc}	5.4 ^b	5.9 ^b	1.4 ^c
C. 40	31.4 ^c	111.6 ^{ab}	6.5 ^b	6.9 ^b	1.6 ^c
D. 60	33.6 ^b	115.5 ^a	7.7 ^a	8.2 ^a	2.0 ^b
CK. Pangolagrass	36.9 ^a			8.3 ^a	2.6 ^a

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DY: Dry matter yield.

^{a, b, c, d} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

表 11. 種植日數對太陽麻及盤固草秋作農藝性狀之影響

Table 11. The effect of growth days on sunn hemp and pangolagrass agronomic traits in fall cultivation

DAP ²	PHL ¹		FY		Total DY
	Pangolagrass	Sunn hemp	Sunn hemp	Total	
	cm		t/ha/cut		
30	29.2 ^c	59.5 ^c	3.2 ^b	4.1 ^c	0.9 ^c
45	36.8 ^a	129.6 ^b	6.7 ^a	7.4 ^b	1.9 ^b
60	33.4 ^b	136.5 ^a	7.3 ^a	8.3 ^a	2.3 ^a

¹ PHL: Plant height of leaf tip; FY: Fresh yield; DY: Dry matter yield.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

秋作處理組中的盤固草幾乎不生長，導致處理組盤固草產量顯著低於對照組（表 12），因此秋作各組之總產量主要取決於太陽麻產量，以 D 組最高而 A 組最低（表 10）。季節性差異對盤固草產量具有顯著影響 (Vicente-Chandler *et al.*, 1961)，在本研究中，春作及秋作在試驗期中的平均氣溫分別為 26.4 及 26.5°C，累積雨量為 175 及 461 mm。單看平均氣溫及累積雨量，秋作之氣候條件似乎不比春作差，即氣溫及雨量可能並非為秋作盤固草生長緩慢之限制因子，但其他氣候因子之差異，諸如日照長度、日照率、夜溫、日夜溫差等，卻還是可能會影響盤固草之生長，成為秋作盤固草生長緩慢之限制因子。另外春作及秋作兩試驗區之土壤成分差異可能亦為影響盤固草生長的因素之一，春作之土壤 EC 值為 722.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，而秋作之土壤 EC 值僅為 50.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ （表 1），秋作試驗區之土壤明顯較春作為貧瘠。此外，春作試驗初期由於太陽麻種子發芽不佳，因此有輔以沼液灌溉以改

善發芽率，而秋作期間因颱風季，雨量較為充沛，因此並無輔以沼液灌溉，可能也是導致春秋兩作盤固草產量差異的原因之一。除了上述之環境因子之外，混植作物之競爭性亦可能為影響因素，張等 (2009) 以盤固草混植尼羅草之研究顯示，在春季進行混植時，隨生育日數增加，混植草地中盤固草之百分比會逐漸提高，而在秋季時，屬溫帶草種之尼羅草拓展較熱帶草種之盤固草為快，導致尼羅草競爭性強，盤固草之比例逐漸下降，因此混植作物之競爭性可能隨季節不同而有差異。在本研究中亦同樣展現此情形，秋作之盤固草在經混植處理後，其生長顯著劣於未混植之對照組，而在春作時卻未見此情形，顯示秋作時太陽麻給予盤固草之競爭壓力大於春作。

表 12. 太陽麻播種量及種植日數對秋作盤固草鮮重產量及總乾物率之影響

Table 12. Effects of sunn hemp seeding rate and growth days on pangolagrass FY and DM1 in fall cultivation

Seeding rate	Pangolagrass FY			DM		
	DAP30 ²	DAP45	DAP60	DAP30	DAP45	DAP60
kg/ha	t/ha/cut			%		
A. 10	0.4 ^{ba}	0.6 ^{ba}	0.7 ^{ba}	21.6 ^{ba}	23.4 ^{ba}	25.6 ^{ba}
B. 20	0.3 ^{ba}	0.5 ^{ba}	0.6 ^{ba}	19.3 ^{bcB}	23.2 ^{ba}	25.6 ^{ba}
C. 40	0.4 ^{ba}	0.3 ^{ba}	0.3 ^{ba}	19.8 ^{bcC}	23.3 ^{bb}	26.2 ^{ba}
D. 60	0.3 ^{ba}	0.4 ^{ba}	0.5 ^{ba}	17.9 ^{cC}	24.1 ^{bb}	27.2 ^{ba}
CK. Pangolagrass	6.1 ^{ab}	9.3 ^{aa}	10.5 ^{aa}	30.4 ^{aa}	33.6 ^{aa}	29.7 ^{aa}

¹ FY: Fresh yield; DM: Dry matter.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A, B, C} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

芻料品質方面，所有分析項目受太陽麻播種量及種植日數之影響皆為顯著，太陽麻播種量及種植日數在WSC、澱粉及ADF間呈現顯著交感效應，其餘無交感(表13)。所有處理組之CP及ADL含量皆顯著高於對照組，而NDF含量顯著低於對照組，處理組間則無顯著差異(表14)。表15呈現種植日數對CP、NDF及ADL含量之影響。秋作收成之CP含量在處理組中約介於15至20%之間，顯著高於純盤固草之CP含量，且與苜蓿之CP含量相當(Li *et al.*, 1996)。與春作時一致，CP含量隨著種植日數增加而顯著降低，NDF含量隨著種植日數增加而顯著提升。ADL含量則為DAP45時顯著低於DAP30及DAP60。太陽麻播種量及種植日數對WSC、澱粉及ADL含量之影響如表16，WSC及澱粉含量皆為對照組顯著高於所有處理組，且處理組之間無顯著差異，各處理組在不同種植日數間大致上無顯著差異。所有太陽麻播種量處理組之ADF含量皆隨著種植日數增加而提升，且在DAP45時B、C及D三組顯著高於A組及對照組，在DAP60時所有處理組顯著高於對照組，再次顯示盤固草地混植太陽麻並不能降低牧草之ADF含量。過去文獻中，在DAP55時太陽麻之ADF含量約為46至50%之間(Mansoor *et al.*, 1997; Lepcha *et al.*, 2019)，在本研究中對照組CK純盤固草在DAP60時之ADF含量為38.2%，顯示太陽麻之ADF含量確實高於盤固草。

表 13. 秋作芻料品質之變方分析顯著性

Table 13. Significance of ANOVA on forage quality in fall cultivation

Fixed source of variation	CP ¹	WSC	Starch	NDF	ADF	ADL
Seeding rate (SR)	< 0.001 ²	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.010
Growth days (GS)	< 0.001	< 0.001	0.002	< 0.001	< 0.001	< 0.001
SR × GS	0.138	0.011	0.007	0.174	0.032	0.067

¹ CP: Crude protein; WSC: Water soluble carbohydrate; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; ADL: Acid detergent lignin.

² Probability value for the significance of the F test.

表 14. 太陽麻播種量對秋作粗蛋白質、中洗纖維及酸洗木質素含量之影響

Table 14. The effect of sunn hemp seeding rate on CP, NDF, and ADL content in fall cultivation

Seeding rate	CP	NDF	ADL
kg/ha	----- % -----		
A. 10	17.7 ^a	47.6 ^b	9.3 ^{ab}
B. 20	17.6 ^a	47.7 ^b	9.6 ^a
C. 40	17.7 ^a	47.6 ^b	10.1 ^a
D. 60	16.7 ^a	49.0 ^b	10.4 ^a
CK. Pangolagrass	6.7 ^b	63.5 ^a	8.1 ^b

¹ CP: Crude protein; NDF: Neutral detergent fiber; ADL: Acid detergent lignin.

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

表 15. 種植日數對秋作粗蛋白質、中洗纖維及酸洗木質素含量之影響

Table 15. The effect of growth days on CP, NDF, and ADL¹ content in fall cultivation

DAP ²	CP	NDF	ADL
	----- % -----		
30	16.8 ^a	46.4 ^c	10.0 ^a
45	15.1 ^b	51.4 ^b	7.6 ^b
60	13.9 ^c	55.5 ^a	10.9 ^a

¹ CP: Crude protein; NDF: Neutral detergent fiber; ADL: Acid detergent lignin.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

表 16. 太陽麻播種量及種植日數對秋作水溶性碳水化合物、澱粉及酸洗木質素含量之影響

Table 16. Effects of sunn hemp seeding rate and growth days on WSC, starch, and ADF content in fall cultivation

Seeding rate	WSC			Starch			ADF		
	DAP30 ²	DAP45	DAP60	DAP30	DAP45	DAP60	DAP30	DAP45	DAP60
kg/ha	----- % -----								
A. 10	3.2 ^{bA}	3.4 ^{bA}	2.5 ^{bA}	1.3 ^{bA}	0.7 ^{bA}	0.6 ^{bA}	33.6 ^{aB}	35.7 ^{bB}	41.9 ^{bA}
B. 20	3.5 ^{bA}	3.2 ^{bA}	2.3 ^{bA}	0.8 ^{bA}	0.5 ^{bA}	0.6 ^{bA}	34.0 ^{aB}	40.6 ^{aA}	43.3 ^{abA}
C. 40	3.5 ^{bA}	2.8 ^{bAB}	2.2 ^{bB}	0.5 ^{bA}	0.5 ^{bA}	0.5 ^{bA}	35.1 ^{aC}	40.1 ^{aB}	44.6 ^{abA}
D. 60	2.9 ^{bA}	2.9 ^{bA}	2.2 ^{bA}	0.4 ^{bA}	0.3 ^{bA}	0.5 ^{bA}	35.9 ^{aB}	42.4 ^{aA}	45.2 ^{aA}
CK. Pangolagrass	5.6 ^{aB}	7.7 ^{aA}	5.6 ^{aB}	3.9 ^{aA}	2.4 ^{aB}	2.0 ^{aB}	35.1 ^{aB}	34.7 ^{bB}	38.2 ^{aA}

¹ WSC: Water soluble carbohydrate; ADF: Acid detergent fiber.

² DAP: Days after planting.

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^{A, B, C} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

結 論

依本試驗結果建議不論是春作或秋作種植，盤固草混植太陽麻皆以 60 kg/ha 之太陽麻播種量播種最適宜，此播種量有最高之產量，且除了 ADF 含量稍高之外，其 CP、WSC、NDF 及 ADL 含量與其他播種量比較並無顯著差異；種植日數方面應於 DAP45 時收穫，其乾物產量雖低於 DAP60，但 CP、NDF 及 ADF 含量皆較 DAP60 為優。

盤固草地進行禾豆混植是否影響後續盤固草之收穫，及禾豆混植是否具有改善土壤成分之效果，值得未來進行多年試驗進一步研究。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇、游翠凰、劉信宏。2009。太陽麻 (*Crotalaria juncea* L.) 之青貯調製研究。畜產研究 42：309-318。
- 胡同嘉。2011。不同成熟度太陽麻或花生藤分別和玉米混合製作青貯於替代泌乳羊芻料之應用。國立臺灣大學生物資源暨農學院動物科學技術學系，碩士論文，臺北市。
- 張世融、梁玉玲、林正斌、許福星。2009。混植盤固草對培植尼羅草草地之影響。中華民國雜草學會會刊 30：51-61。
- 農業部。2024。農業統計年報 (112 年)。 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
- Adrian, W. J. 1973. A comparison of a wet pressure digestion method with other commonly used wet and dry-ashing methods. *Analyst* 98: 213-216.
- Association of the Official Analytical Chemists (A.O.A.C.). 1990. Official methods of analysis. Vol. 1. 15th ed. A.O.A.C., Arlington, VA, USA.
- Bray, R. H. and L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-46.
- Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. In: Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edition. eds. Page, A. L., Miller, R. H., and Keeney, D. R. Amer. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, USA, pp. 610-613.
- Eberle, C. and L. Shortnacy. 2021. Sunn hemp planting date effect on growth, biomass accumulation, and nutritive value in southeastern Wyoming. *Crop Sci.* 61: 4447-4457.
- Garzon, J., J. M. Vendramini, M. L. Silveira, P. Moriel, H. M. da Silva, J. C. B. Dubeux Jr, M. Kaneko, C. C. Carnelos, and P. A. Mamede. 2021. Harvest management and genotype effects on sunn hemp forage characteristics. *Agron. J.* 113: 298-307.
- Jaramillo, D. M., J. C. B. Dubeux Jr, J. M. B. Vendramini, L. M. D. Queiroz, E. R. S. Santos, M. Ruiz-Moreno, L. Garcia, D. S. de Abreu, L. R. de Miranda, and M. C. F. de Siqueira. 2020. Establishment techniques affect productivity, nutritive value and atmospheric N₂ fixation of two sunn hemp cultivars. *Grass Forage Sci.* 75: 153-158.
- Li, R., J. J. Volenec, B. C. Joern, and S. M. Cunningham. 1996. Seasonal changes in nonstructural carbohydrates, proteins and macronutrients in roots of alfalfa, red clover, sweetclover and birdsfoot trefoil. *Crop Sci.* 36: 617-623.
- Lepcha, I., H. D. Naumann, F. B. Fritschi, and R. L. Kallenbach. 2019. Herbage accumulation, nutritive value, and regrowth potential of sunn hemp at different harvest regimens and maturity. *Crop Sci.* 59: 413-421.
- Mansoor, Z., D. W. Reeves, and C. W. Wood. 1997. Suitability of sunn hemp as an alternative late-summer legume cover crop. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 246-253.
- Mosjidis, J. A., J. M. Burke, and J. B. Hess. 2012. The facts about sunn hemp toxicity. *Crop Sci.* 52: 1469-1474.
- Paleg, L. G. 1959. Citric acid interference in the estimation of reducing sugars with alkaline copper reagents. *Anal. Chem.* 31: 1902-1904.
- Vicente-Chandler, J., J. Figarella, and S. Silva. 1961. Effects of nitrogen fertilization and frequency of cutting on the yield and composition of Pangola grass in Puerto Rico. *J. Agr. U. Puerto Rico* 45: 37-45.
- Waghorn, G. C. and D. A. Clark. 2004. Feeding value of pastures for ruminants. *New Zeal. Vet. J.* 52: 320-331.
- Wanapat, M., P. Totakul, B. Viennasay, and M. Matra. 2021. Sunnhemp (*Crotalaria juncea*, L.) silage can enrich rumen fermentation process, microbial protein synthesis, and nitrogen utilization efficiency in beef cattle crossbreds. *Trop. Anim. Health Prod.* 53: 187.
- Yoshida, S., D. A. Forno, J. H. Cock, and K. A. Gomez. 1976. Determination of sugar and starch in plant tissue. In: Laboratory manual of physiological studies of rice. 3rd edition. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, pp. 46-49.

Establishment of a mixed intercropping system of sunn hemp and pangolagrass ⁽¹⁾

Li-Chung Tsai ⁽²⁾⁽³⁾ Shyh-Rong Chang ⁽²⁾ Tzu-Rung Li ⁽²⁾ and Jeng-Bin Lin ⁽²⁾

Received: Jul. 1, 2025; Accepted: Sep. 26, 2025

Abstract

Sunn hemp (*Crotalaria juncea* L.) is a high-yield legume crop with high crude protein (CP) content, widely utilized as green manure, fiber, and forage in most countries. The animal husbandry in Taiwan has long relied on imported legume crops. The development of domestic legume forage crops will likely improve its self-sufficiency rate and reduce animal feeding costs. This study aimed to establish a mixed intercropping system of sunn hemp and pangolagrass (*Digitaria decumbens* Stent.) through the analysis of the optimal sunn hemp seeding rates and harvest times to provide a new option for domestic legume forage crop. The trials were conducted in Xinhua, Tainan City, using four sunn hemp seeding rates (10, 20, 40, and 60 kg/ha) as treatments for comparison with a neighboring pure pangolagrass field as the control. Trials were conducted in both spring and fall, and harvested on Day 30, Day 45, and Day 60 after planting (DAP30, 45 and 60). Additionally, the agronomic traits and forage quality were evaluated. Results showed that a sunn hemp seeding rate of 60 kg/ha produced the highest yield. Compared with the control, this treatment also exhibited significant improvement on CP content and neutral detergent fiber (NDF) content, resulting in superior forage quality. Regarding the growth days, harvesting at DAP45 achieved a balance between yield and forage quality, avoiding excess declines in CP and excess increases in NDF and acid detergent fiber (ADF). In conclusion, we recommend a mixed intercropping strategy of sunn hemp and pangolagrass using a sunn hemp seeding rate of 60 kg/ha, in addition to harvesting at DAP45. This study demonstrates the feasibility and potential of sunn hemp as a domestic legume forage crop in Taiwan.

Key words: Sunn hemp, Pangolagrass, Mixed intercropping.

(1) Contribution No. 2842 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Forage Crops Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: humanspider123@tlri.gov.tw.

酵素處理於食用包裝原料性質及食品保鮮影響之綜論⁽¹⁾

黃寂槐⁽²⁾ 葉瑞涵⁽²⁾ 吳鈴彩⁽²⁾⁽³⁾ 郭卿雲⁽²⁾

收件日期：113 年 11 月 20 日；接受日期：114 年 10 月 13 日

摘要

傳統包裝使用的石油基聚合物材料存在環境污染等問題，因此食品包裝行業面臨開發兼具環境友善和經濟性包材的挑戰，可生物降解和可再生特性的替代包裝材料彰顯其重要性。本文回顧酵素在食用包裝中的應用，包括轉麩醯胺酸酶 (transglutaminase, TG)、乳過氧化酶系統 (lactoperoxidase system, LPOS) 及溶菌酶 (lysozyme, LY) 等，可以改善包裝性能。TG 可催化蛋白質交聯作用，提高蛋白薄膜的機械性能及改善薄膜水蒸氣透過率等。LPOS 與 LY 為天然的抗菌劑，於食用包裝中展示出抗菌特性，能有效延長食品的保鮮期。另結合高強度超音波預處理，可提升 TG 對於薄膜性能影響；本文也探討其他添加劑，例如抗壞血酸 (ascorbic acid, AA)、鷹嘴豆白蛋白萃取物 (chickpea albumin extract, CPAE) 及 α -生育醇等，在食品包裝中的協同作用或影響。本篇報告回顧近年酵素應用於食品包裝研究，期讓讀者了解酵素處理在食用包裝和延長食品保鮮期方面的應用潛力，供未來研究依循之參考。

關鍵詞：食用薄膜、塗層、酵素。

緒言

傳統的包裝材料主要來源為石油衍生的聚合物，這些材料存在諸多問題，例如環境污染、資源枯竭、一次性廢物的產生、化學物質滲入食品及回收侷限等，隨著食品行業致力於減少對環境影響，鼓勵變革以採取有效的可持續食品包裝方法，而現代消費者越來越關注這些合成聚合物對環境的影響和健康危害，食品行業面臨的主要挑戰之一是開發環保、經濟及永續的包裝系統，具可生物降解和可再生特性的替代包裝材料的需求變得迫切 (Kumar *et al.*, 2022; Khandeparkar *et al.*, 2024)。一般而言，蛋白質與多醣薄膜具有較強的機械特性，在中低相對濕度下對氧氣有很強的屏障作用，但由於其親水性質，對水蒸氣的屏障作用較弱 (Devi *et al.*, 2024)。蛋白質結構和蛋白質之間相互作用可以通過物理、化學和酵素處理進行修飾 (Cruz-Diaza *et al.*, 2019)。可食用包裝在食品保鮮方面被特別重視，因為它們能提高整體食品品質，將天然抗菌劑 (包括細菌素、酵素及水果提取物) 納入食用包裝中是研發的重點 (Cissé *et al.*, 2012)。在保護環境的迫切需求下，促使尋求可生物降解的食用包裝成為一大挑戰，酵素被廣泛使用作為提升食用包裝性能的添加物之一。因此，本研究以「可食用薄膜」及「酵素」作為主要關鍵詞，進行文獻檢索，依據酵素類別分類整理，旨在探討數種酵素在食用包裝之應用，以提升其應用性能。

食用包裝

食品包裝的主要目的在於維護食品品質與安全，同時提升運輸及儲存的便利性。因此，所選用的包裝材料應具備良好的阻隔性，能有效防止水分、氧氣、二氧化碳與光線等，隔絕可能導致食品劣變的因子，具有良好的保鮮、抗菌、防潮及防氧化功能。近年來，食品級原料製成的可食性包裝具備生物可降解性，逐漸受到重視，食品級原料可以形成可食性薄層，用於塗覆食品或作為可生物降解的包裝，可食性塗層 (edible coatings) 和可食性薄膜 (edible films) 的術語相似，有時會引起混淆，因此，常使用可食性包裝 (edible packages) 來表示這兩種產品 (Ribeiro *et al.*,

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2843 號。

(2) 農業部畜產試驗所畜產加工組。

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

2024)。可食用包裝分為兩種應用形式：I. 直接塗覆於食品上的可食用塗層或 II. 包裹食品的預成型薄膜 (Suhag *et al.*, 2020)。由不同基材材料製成的可食用薄膜的功能特性也各不相同，單一基材的可食用薄膜在某些方面存在缺陷，通常在可食用薄膜中添加功能性成分，如蛋白質、多醣類、精油、天然產品、納米材料、乳化劑等，以改善其功能特性 (Li *et al.*, 2024)。各種可食用薄膜和塗層使用碳水化合物、脂質、蠟、蛋白質及其混合物等為主要成分配製而成 (Ribeiro *et al.*, 2024)。選擇合適的塗層方法不僅影響食品產品上形成的保護效果，生產成本和製程效率亦有差異 (Suhag *et al.*, 2020)。相關文獻對於可食用包裝之製備如表 1 所示。

轉麩醯胺酸酶

I. 介紹

轉麩醯胺酸酶 (transglutaminase, TG) 在自然界中廣泛存在，它們存在於哺乳動物組織、許多無脊椎動物及微生物細胞中，TG 也存在於大豆、菊芋、飼料甜菜及蘋果的植物組織中 (Kieliszek and Misiewicz, 2014)。研究發現一種產生 TG 的微生物，該微生物的 TG 從菌株 S - 8112 的培養濾液中純化出來，該菌株被認為屬於鏈黴菌屬，其 TG 的活性不需要鈣離子，它與已知的哺乳動物器官中萃取的 TG 明顯不同，後者被定義為鈣依賴性酶 (Ando *et al.*, 1989)。後來，微生物來源的 TG (mTG) 逐漸成為商業應用的主要來源，隨著基因工程技術的發展，不斷提高其活性、穩定性及產量 (Zhang *et al.*, 2023)。mTG 催化三種反應類型 (i) 醯基轉移反應 (acyltransfer reaction)：醯基轉移反應發生在 γ -carboxamide group 或蛋白結合麩醯胺 (protein-bound glutamine) (醯基供體) 與一級胺 (醯基受體) 之間，(ii) 蛋白質交聯反應 (cross-linking reaction)：當醯基受體是蛋白質結合離胺酸的 ϵ -氨基團 (ϵ -amino group of protein-bound lysine) 時，會形成分子內和 / 或分子間的交聯，進而使蛋白質聚合，(iii) 脫醯胺作用 (deamidation)：如果胺基物無法作為醯基受體，mTG 可以催化 glutamyl residues 的脫醯胺作用，使用水作為醯基受體；就乳蛋白而言，由於酪蛋白中離胺酸和甘胺酸含量豐富，交聯更有可能發生 (Velazquez-Domingues *et al.*, 2023)。

II. 使用限制及加工食品應用範圍

TG 自 1998 年起被美國食品藥物管理局 (FDA) 認定為公認安全物質 (generally recognized as safe, GRAS) (Romeih and Walker, 2017)，被廣泛應用於食品加工領域。主要作用機制為促進蛋白質分子間的交聯反應，改善蛋白質的結構穩定性。mTG 的最佳反應溫度範圍是 45 至 55°C，並且根據微生物的不同會略有變化；其活性在 pH4.0 至 9.0 之間保持穩定，而應用於不同蛋白基質，最適交聯反應的 pH 條件會有所變化 (Zhang *et al.*, 2023)。通常在交聯作用結束後，透過 75°C 加熱 10 至 15 分鐘作為 TG 失活處理 (Jiang *et al.*, 2020; Ahammed *et al.*, 2021)。在乳製品應用方面，可提升優格的附著力、硬度與保水能力；在冷凍品方面，有助於強化冰淇淋的結構穩定性、改善流變現象並減少冰晶形成；此外，亦能增強豆腐的凝膠強度及提升其保水能力 (Akin *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Ziarno and Zaręba, 2020)。TG 還可以增強肉塊的凝聚力，而無須進行熱處理或添加鹽或磷酸鹽 (Kieliszek and Misiewicz, 2014)。顯示其能在多種蛋白質主原料之加工食品中廣泛應用。在工業生產中，為了提升經濟效益，應積極尋找能夠合成大量高活性酵素並應用低成本培養基原料的新型菌株 (Kieliszek and Misiewicz, 2014)。

III. TG 於食用包裝的應用

(i) 改善薄膜機械性能

蛋白質基薄膜具有生物降解的優點，但因含有高比例的親水性胺基酸，在機械性能和水阻隔性方面不如傳統塑膠薄膜，透過改善機械性能，使其在食品包裝中更具實用性和競爭力。

Jiang *et al.* (2016) 研究以不同體積比例的濃縮乳清蛋白 (whey protein concentrates, WPC) 與羧甲基化幾丁聚醣 (carboxymethylated chitosan, CMC) 製備複合膜，結果顯示，當體積比 WPC : CMC = 75 : 25 時，mTG 顯著提升膜材的伸長率，並略提升膜熱性 (thermal properties)，對透光率影響不大，顯示 mTG 有助於改善 WPC - CMC 複合膜的機械性能。

Jiang *et al.* (2020) 發現先將 TG 添加於 WPC 中催化交聯後再混合羧甲基幾丁聚醣 (carboxymethyl chitosan, CMCS) 較 TG 直接添加於 WPC - CMCS 溶液中，薄膜的斷裂伸長率由 21% 提升至 35%；當 TG 添加於已混合的 WPC - CMCS 溶液中進行催化 (WPC - CMCS - TG)，其斷裂伸長率顯著下降，推測可能因 CMCS 抑制 TG 催化 WPC 交聯反應。透過 TG 增強薄膜機械性能，使薄膜不易破裂或損壞，進而提升使用耐久性，同時可提升薄膜的水不溶性，使其在高濕度環境中維持結構與功能性。

表 1. 可食用包裝之製備
Table 1. Preparation of edible packages

Preparation method	Preparation process	Advantages and disadvantages	References
Film - casting method (wet procedure)	Biopolymers are dissolved in a solvent, then undergo vacuum degassing before being placed in a mold for dehydration and membrane formation.	Advantages: Easy to manufacture, low cost, etc. Disadvantages : Limited form and production yield, variations in evaporation rates, etc.	Cha <i>et al.</i> , 2003; Jensen <i>et al.</i> , 2015; Suhag <i>et al.</i> , 2020; Kumar <i>et al.</i> , 2022
Film - extrusion method (dry procedure)	The film forming solution (FFS) is heated and either passed through the slit die for calendaring (slit - die extrusion) or blown through circle die.	Advantages: No solvent required, handling high viscosity polymers easily, etc. Disadvantages : High equipment cost, limits the use of certain polymers, etc.	Skurtys <i>et al.</i> , 2010; Jebalia <i>et al.</i> , 2019; Ochoa - Yepes <i>et al.</i> , 2019; Suhag <i>et al.</i> , 2020; Kumar <i>et al.</i> , 2022
Coating - dipping method	Dip the product in the coating solution, then heat and dry to form a stable layer.	Advantages: Good coating uniformity on rough surfaces. Disadvantages: Dilution of the coating solution , dirt accumulation and microbial growth in the dipping vat, etc.	Andrade <i>et al.</i> , 2012; Valdés <i>et al.</i> , 2017; Suhag <i>et al.</i> , 2020
Coating -spraying method	Coating solution is distributed onto the surface of the food in droplet form through a set of nozzles. The atomization pressure is a critical parameter in the spraying technique.	Advantages: Provides a uniform thickness coating and for multilayer applications, such as alternating the use of sodium chloride and calcium chloride solutions. Disadvantages: High - viscosity solutions caused the higher thickness of the coating material on the surface.	Suhag <i>et al.</i> , 2020
Coating -fluidized - bed processing method	The coating solution is sprayed through multiple nozzles onto the surface of fluidized powder, forming a shell-like structure.	Advantages: Compared to the panning method, it reduces excessive aggregation of coated products or the formation of uneven deposits. It demonstrates efficient drying effectiveness and allows to utilize a lower dimension of surfactant option in examination with dipping and panning forms. Disadvantages: The cost is higher compared to other coating methods.	Suhag <i>et al.</i> , 2020
Coating -panning method	Placing products that to be coated in a large rotating pan, sprinkling the coating solution, and ensure the products are evenly coated through rotate and tumble within the pan.	Advantages: This method produces a highly transparent edible coating with excellent flexibility and a glossy solution, and can be applied to extruded food products of various shapes. Disadvantages: Frequent evaporation of water is required to prevent food products from sticking together, large amounts of solution or suspension cannot be freely sprayed on food products. The operation time is long, and the economic efficiency is relatively low.	Suhag <i>et al.</i> , 2020

Ahmed *et al.* (2021) 製備玉米醇溶蛋白與明膠複合膜，透過 1% TG 處理下，TG 顯著提升複合膜抗拉應力 (tensile stress, TS)、斷裂伸長率 (elongation at break, EAB) 和楊氏模數 (Young's Modulus, YM) 等機械性能，與交聯程度呈正相關，同時，亦大幅改善水不溶性，使複合膜在水中 98% 不溶於水，優於以戊二醛交聯處理之效果，主要歸因於 TG 改變蛋白質的 α 螺旋次級結構。

(ii) 改善薄膜水蒸氣阻隔性

蔬果收穫後的水分損失導致產品的收縮和重量減少。Marquez *et al.* (2017) 將分離乳清蛋白 (whey protein isolate, WPI) 與山梨醇、果膠混合製備複合塗層，添加 TG 後，應用於新鮮的蘋果切片、馬鈴薯及胡蘿蔔表面，進行 10 天冷藏觀察。結果顯示，添加 TG 複合塗層在儲存 6 天內能可防止重量損失，10 天後略有減重；相較之下，未添加 TG 的蛋白質塗層在 6 天後與未塗層的損失重量幾乎相等。此與 Jianga *et al.* (2016)、Ahmed *et al.* (2021)、Seiwert *et al.* (2021) 研究結果一致，經 TG 處理後，降低 WPC - CMC 複合膜、木聚糖 - WPI 複合膜及明膠 - 玉米醇溶蛋白複合膜之水蒸氣滲透率 (water vapor permeability)。顯示 TG 可改善多種蛋白基質可食用塗層或薄膜之水蒸氣阻隔性。

(iii) 超音波預處理對 TG 的影響

研究顯示，超音波 (ultrasound, US) 預處理可有效改變蛋白質結構，使其容易受到 TG 作用，進而增強交聯效率。Ahmadi *et al.* (2017) 證實，超音波處理乳清蛋白溶液 2.5 分鐘，顯著降低流動行為指數 (flow behavior index, n)；在沒有超音波情況下添加 TG 對硬度值沒有影響，但經 US 處理樣品的硬度顯著增加，這顯示 US 對蛋白質結構的關鍵影響，但超音波處理時間達到 7.5 分鐘時，硬度顯著下降，可能是過度交聯阻礙均勻結構的形成。傳統上，乳清蛋白需要經過熱變性，使其結構容易被酵素作用，然而熱處理不僅需要較高的能源成本，還可能降低蛋白質的營養價值 (Phillips and Williams, 2011)。超音波預處理能部分取代熱變性，使蛋白質結構更易受酵素作用，使薄膜生產製程上可以達到更高效率和更低的成本。

酸、鹼或交聯劑等化學處理方法已被廣泛用於改善薄膜性能，用於蛋白質共價交聯的化學試劑包括戊二醛、乙二醛或甲醛等醛類，由於醛類化合物具有毒性，因此許多研究探討使用天然交聯劑來改善蛋白質薄膜的性能 (Wittaya, 2012)。Wang and Xiong (2021) 利用天然多酚 - 氧化阿魏酸 (oxidized ferulic acid, OFA) 與氧化單寧酸 (oxidized tannic acid, OTA) 改善乳清蛋白薄膜理化性質，結果顯示 OFA 僅在較高的處理濃度 (5.0%) 下提高了膜的拉伸強度和楊氏模數，但在 2.5 和 5.0% 的濃度下均提高了膜的延展性；OTA 在 2.5 和 5.0% 的濃度下均顯著提高了拉伸強度和彈性，但不影響膜的延展性。綜合而言，TG 作為天然交聯劑前提下，能夠改善蛋白質薄膜的性能，在實際應用時需控制反應條件，且相較於化學交聯劑成本較高，具成本效益驗證挑戰。

乳過氧化酶

I. 介紹

乳過氧化酶系統 (lactoperoxidase system, LPOS) 是一種存在於牛奶、淚液及唾液中的天然抗菌酶系統，系統包含三個主要元素：(I) 乳過氧化酶 (lactoperoxidase, LPO)、(II) 過氧化氫 (hydrogen peroxide, H_2O_2) 和 (III) 硫氰酸鹽 (thiocyanate, SCN^-)。LPO 催化 SCN^- 的氧化，在 H_2O_2 的幫助下，生成氧化產物如次氫氰酸根 (hypothiocyanite, $OSCN^-$) 和次氫氰酸 (hypothiocyanous acid, $HOSCN$)，這些活性化合物透過氧化微生物蛋白質和酶中存在的巰基 (sulfhydryl, SH)，最終導致細胞死亡 (Yousefi *et al.*, 2022)。LPOS 具有廣泛的抗菌範圍，可用於食品包裝 (Mohamed *et al.*, 2013)。

II. 使用限制及加工食品應用範圍

LPOS 具抗菌特性，且被公認為安全物質 GRAS，因此常被作為天然的食品防腐劑進行研究 (Elliot *et al.*, 2004)。國際乳品聯盟 (International Dairy Federation) 發布在缺乏冷藏設備的情況下，應用 LPOS 作為生乳保存的指引方針 (IDF, 1988; Seifu *et al.*, 2005)，顯示 LPOS 的使用獲得國際乳業組織的認可，以及其在乳品冷鏈缺乏環境下之應用價值。LPO 在 78°C 加熱 15 sec 內完全失活，在 pH 3 至 5 酸性條件下熱穩定性差，在 pH 3 時會失去活性 (de Wit and Hooydonk, 1996; Kussendrager and van Hooijdonk, 2000)。根據國際食品法典委員會 (Codex Alimentarius Commission, CAC) 的規定，新鮮生乳中添加約 10 mg 的 SCN^- 可外源性地活化 LPOS (Yousefi *et al.*, 2022)。LPOS 價格昂貴可能是導致其與海藻酸鈉塗層應用在雞胸肉研究不足的原因之一 (Yousefi *et al.*, 2018)。由於 $OSCN^-$ 的生成通常受限於 SCN^- 濃度，需依賴人工合成的 SCN^- 添加，Golmohamadi *et al.* (2016) 研究指出可望利用低經濟價值白芥種子粕農副產物作為 SCN^- 萃取來源，用於製備 GRAS 之 LPOS。LPOS 在食品工業中的

主要是作為天然的抗菌系統，用於延長食品的保存期限。在乳品產業，特別是在生乳儲存或運輸至加工廠過程中做為保鮮用途 (Seifu *et al.*, 2005)。在發酵乳製品方面，LPOS 對於發酵菌種造成影響，其能降低乳酸菌之酸生產速率，延遲優格製作的凝乳時間 (Basaga and Dik, 1994)；以 LPOS 處理乳源製作切達起司呈現較弱凝乳結構，產率略低於未經處理製作的生乳源，以 LPOS 處理山羊乳製作高達起司之脂肪分解程度較低，有助於減輕山羊起司濃烈風味，大腸桿菌及葡萄球菌數量亦較低 (Zall *et al.*, 1983; Seifu *et al.*, 2004)。在肉品方面，可減少豬肉火腿與肉醬氧化程度 (Beño *et al.*, 2024)。將 LPOS 食品應用上，可能有降低產品製成率、影響發酵菌株、價格昂貴之限制，而將 LPOS 結合包裝，可避免對產品之影響，然而必須考量酵素的生產成本、有效載體等經濟及技術的因素。

III. LPOS 於食用包裝的應用

與直接應用抗菌劑相比，抗菌的可食用薄膜更受青睞，因為可以控制擴散到食品表面的劑量 (Yousefi *et al.*, 2022)。表 3 列出 LPOS 於食用包裝之抗菌效果。

多項研究證實含有 LPOS 的食用薄膜於海鮮食品具抗菌性。Min *et al.* (2005) 研究顯示，在 4 與 10°C 的冷藏條件下，含有 LPOS 的乳清蛋白塗層可有效抑制冷燻鮭魚表面之李斯特單胞菌 (*Listeria monocytogenes*) 生長，約降低 1.5 log CFU/cm² 的抑菌效果。相比之下，於瓊脂培養基中抑菌效果更顯著，達 4.2 log CFU/cm²，被歸因培養基中水活性較高，促進 OSCN⁻, HOSCN 等氧化產物擴散並發揮抗菌作用。相對地，煙燻鮭魚中含有較多 SH 化合物，易與氧化產物反應，降低 LPOS 抗菌效率。Rostami *et al.* (2017) 研究結果顯示，鱸魚片在 16 天貯存期間，乳清蛋白-LPOS 塗層結合 MAP 相較於單一乳清蛋白塗層，具有最低的細菌數量 [腐敗希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*) 和螢光假單胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 的總活菌數與低溫細菌數在貯存結束時均低於 7 log CFU/g]，總揮發性基氮 (total volatile basic nitrogen, TVB-N) 值最低。Ehsani *et al.* (2019) 研究使用含 LPOS 或鼠尾草精油 (sage essential oil, SEO) 的 3 種可生物降解薄膜，幾丁聚醣、藻酸鹽及明膠，對冷藏溫度 (4 ± 2°C) 下儲存 20 天的魚漢堡之品質影響，結果顯示含有 LPOS 幾丁聚醣薄膜，具有最低的細菌數量，而藻酸鹽薄膜的抑菌效果優於明膠薄膜，此外含有 LPOS 或 SEO 的幾丁聚醣薄膜具有良好的感官特性。進一步研究顯示 α-生育醇 (α-tocopherol) 可能影響 LPOS 的抗菌效果。Shokri and Ehsani (2017) 研究顯示含有 LPOS (2.5%) 和不同濃度 α-生育醇 (1.5 和 3%) 的乳清蛋白塗層溶液 (whey protein coating solution, WPS)。在 4°C 冷藏期間對鱸魚片保質期 (16 天) 之初始總菌數 (total viable counts, TVC) 及嗜冷菌 (psychrotrophic bacteria) 數量顯著低於未添加 LPOS 組別 (P < 0.05)，而 LPOS + WPS 塗層對 4°C 貯存下的鱸魚片對於 TVC、嗜冷菌、螢光假單胞菌及腐敗希瓦氏菌抑制效果最高外，同時發現，含有 α-生育醇 (1.5 和 3%) 會降低塗層的抗菌效果，依據此細菌學結果推論 α-生育醇可能會影響 LPOS 的抗菌效果，然而，需要更多研究來確認 LPOS 和 α-生育醇之間的相互作用機制。

幾丁聚醣由於帶正電荷的氨基 (-NH₂)，容易與多陰離子相互作用，形成聚電解質複合物 (Ardean *et al.*, 2021)，其亦可與其他抗菌性物質結合增加抗菌效果。Mohamed *et al.* (2013) 探討不同濃度的幾丁聚醣膜 (0.5、1 及 1.5%) 與乳過氧化酶系統 (LPOS) 的結合，對於多種病原菌的抑制效果，結果顯示 1 和 1.5% w/w 的幾丁聚醣結合 LPOS 和 / 或碘對 *Xanthomonas campestris* pv. *mangifera indica* 的抑制效果高於單獨使用的幾丁聚醣膜或低濃度 (0.5%) 的幾丁聚醣。另 Cissé *et al.* (2012) 製備幾丁聚醣-LPOS 複合膜，抗菌效果受溫度和貯存時間的影響，在 25°C 下製作並存放 5 天時，抗菌效果最佳，OSCN⁻ 與 OI⁻ 濃度隨著溫度增加至 25°C 達到最高值，此乃化學反應速率隨溫度升高而增加，使分子獲得的動能增加，從而提高有效碰撞的次數，導致反應產物的生成。

Yousefi *et al.* (2018) 研究含有不同濃度 LPOS 的藻酸鹽塗層對雞胸肉片保質期的影響，結果顯示 4 和 6% 的 LPOS 濃度對綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 有效的抗菌效果，感官評估中含 6% LPOS 塗層的評分最高與不含 LPOS 的藻酸鹽塗層分數有顯著差異 (P < 0.05)，顯示高濃度 LPOS 對於雞胸肉片的整體感官特性具有正面的影響。

綜合上述多項研究結果，LPOS 應用於食用包裝中，展現出良好的天然抗菌潛力，可於魚肉與禽肉等高蛋白、高水活性食品的保鮮應用，主要機制來自於 LPOS 系統中活性氧化產物 (如 OSCN⁻、HOSCN) 對微生物的抑制作用。然而，LPOS 的抗菌效果受多項因素影響，包括基質中 SH 化合物的中和作用、膜製備條件、貯存溫度及與其他添加劑 (如 α-生育醇) 的拮抗性。因此，雖然 LPOS 作為食品包裝中天然抑菌技術的應用潛力廣泛，仍需針對其與不同材料、環境條件及活性成分間的交互作用進行深入探討與改善其實用性。

表 2. 轉麩醯胺酶於食用包裝對食品保鮮之效用
 Table 2. The effects of transglutaminase on edible packages for food preservation

Edible packages	Activity of TG	Food	Function	References
Whey protein -carboxymethylated chitosan composite films	10 U/g protein	—	Improved the water vapor barrier properties and mechanical properties, and there was no impairment of thermal stability of composite films.	Jiang <i>et al.</i> , 2016
Whey proteins film	10 U/g protein	Cheese slices	Increased puncture deformation values and made films less green, more yellow and darker than non - added films.	Cruz - Diaz <i>et al.</i> , 2019
Cardoon seed oil cake proteins film	100 mU/mL	Peanuts	Improved Young' s modulus and tensile strength, less hydrophilic and permeable to gases likely due to the formation of a more compact structure due to isopeptide bonds formed by TG.	Mirpoor <i>et al.</i> , 2024
Zein - oleic acid composite films	—	—	Under low pH and high drying temperatures with TG treatment improves tensile strength, solubility, and water vapor permeability.	Masamba <i>et al.</i> , 2016
Gelatin - zein composite films	—	—	Improved water insolubility, water vapor permeability and mechanical properties are potential candidates for high moisture food packaging application.	Ahmed <i>et al.</i> , 2021
Xylan - whey protein isolate composite films	30 IU/100g WPI	—	With the addition of xylan and TG, water vapor permeability and oxygen permeability decreased, and tensile stress increased.	Seiwert <i>et al.</i> , 2021
Whey protein - pectin edible coating	8 U/g protein	Apples, carrots, potatoes	Reduction of weight loss, microbial growth prevention, antioxidant activity preservation and no change in fruit and vegetable hardness and chewiness.	Marquez <i>et al.</i> , 2017
Whey protein concentrate carboxymethyl - chitosan composite films	6 U/g protein	—	Improved the film's elongation at break, tensile strength, and crystallinity.	Jiang <i>et al.</i> , 2020

表 3. 乳過氧化酶系統於食用包裝之抗菌效果
Table 3. Antimicrobial effects of lactoperoxidase system on edible packages

Edible packages	Concentration of LPOS	Function	References
Whey protein packages	29 mg/g of coating	Reduced the number of <i>Listeria monocytogenes</i> on smoked salmon.	Min <i>et al.</i> , 2005
Chitosan film	5% v/v of film	Inhibited <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Mangiferae</i> indicae and did not changed the chitosan film permeability to gas and water vapor.	Cissé <i>et al.</i> , 2012
Chitosan film	5% v/v of film	Inhibited bacterial and fungal. Presence of a second electron donor such as iodine could positively influence the antimicrobial effect of LPOS against some mango pathogens.	Mohamed <i>et al.</i> , 2013
Whey protein coating	1.25, 2.5, 5 or 7.5% v/v	Reduced <i>Shewanella putrefaciens</i> and <i>Pseudomonas fluorescens</i> of the rainbow trout filets more than 1.5 log.	Shokri <i>et al.</i> , 2014
Whey protein coating	2.5% v/v	Whey protein coating combined LPOS and MAP packaging inhibited microbial growth, reduced the TBARS values and TVB - N formation.	Rostami <i>et al.</i> , 2017
Whey protein coating	2.5% v/v	Combination of LPOS and α -tocopherol inhibited bacteria, showed antioxidant properties, and could have a high potential to be applied in the shelf life extension of pike - perch filets during cold storage.	Shokri and Ehsani., 2017
Alginate coating	2, 4 or 6% v/v	Alginate coatings containing 6% v/v LPOS exhibited better antibacterial effects.	Yousefi <i>et al.</i> , 2018
Alginate film, chitosan film, gelatin film	10% v/v of film	Chitosan films containing LPOS significantly suppress <i>Pseudomonas</i> spp. and <i>Shewanella</i> spp. during 20 - day storage at refrigerated condition compared with other treatments ($P < 0.05$).	Ehsani <i>et al.</i> , 2019

溶菌酶

I. 介紹

溶菌酶 (lysozyme, LY) 為天然抗菌劑，也稱為胞壁酸酶，是一種小型水解酶，在自然界中無處不在，幾乎存在於所有分泌物、人類、動物組織及鳥蛋中 (Amara *et al.*, 2016)。它被認為是一種耐高溫酵素，在廣泛的 pH 範圍內具有高穩定性 (Amara *et al.*, 2016)。它的抑菌機制可以分為酵素的溶解及非酵素溶解的抗菌機制 (Wu *et al.*, 2019)。它通過破壞細菌細胞壁肽聚糖聚合物中的 N- 乙醯胞壁酸 (nacetyl muramic acid) 和 N- 乙醯葡萄糖胺 (N-acetyl glucosamine) 的 β 1 - 4 糖苷鍵，對革蘭氏陽性細菌具有很強的抗菌活性 (Amara *et al.*, 2016)。當 LY 與乙二胺四醋酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 結合時，EDTA 會破壞革蘭氏陰性菌的外膜，顯著增加抗菌範圍 (Kandemir *et al.*, 2005)。近幾十年來，與生鮮和最少加工產品相關的食源性疾病日益嚴重，抗菌包裝是一個有前景的領域，因為它可以通過使用最少量的抗菌劑來抑制食品表面的致病或腐敗微生物的生長 (Boyacı *et al.*, 2016)。作為一種天然存在且具有抗菌活性的酵素，LY 亦常添加到包裝材料中，增加抑菌性 (Kandemir *et al.*, 2005; Datta *et al.*, 2008)。表 4 列出食用包裝添加 LY 的抗菌效果。

II. 使用限制及加工食品應用範圍

美國食品藥物管理局和歐盟批准 LY 為公認安全的食品添加劑 (Kaewprachu *et al.*, 2015)。溶菌酶在溫度 30 - 60°C、pH 4 - 7 範圍間具有良好的穩定性 (Yao *et al.*, 2022)。然而，在溶入包裝後，其酶活性可能會降低。研究指出，以天然的胞外多醣體基質製備薄膜時，酵素活性回收率僅為理論值的 23 至 70% 之間；此外，薄膜中含有蔗糖，可能會降低其活性穩定性，於 21 天儲藏後，活性損失接近 35% (Kandemir *et al.*, 2005)。LY 與 LPOS 的價格相較於其他食品防腐劑更高，因此有許多研究集中於其固化與改質。為提升溶菌酶對革蘭氏陰性菌的抑菌能力，已有許多透過紅外線光譜、螢光光譜、核磁共振等物理或化學方式改質溶菌酶之研究日益增加 (Wu *et al.*, 2019)。另外，將溶菌酶和與螯合劑併用，可增強對革蘭氏陰性菌的抗菌效果 (Padgett *et al.*, 1998)。但當鈣、鎂、鐵、鈉、鉀離子等多種陽離子的存在時，會降低甚至中和溶菌酶 - 螯合劑組合抗菌效果 (Boland *et al.*, 2004)。在食品加工應用方面，LY 與膠結合可作為防腐劑與乳化劑應用於蛋黃中 (Hashemi *et al.*, 2018)。將梨子浸入溶菌酶溶液中能減少褐變指數和總細菌數，並保持總酚含量 (Xu *et al.*, 2019)。此外，溶菌酶、乳酸菌素與 EDTA 的組合可用於控制影響醃製肉品安全與腐敗的特定菌種，將抗菌劑融入在包裝材料中，可將其濃度集中於微生物活躍區域，可能提升效抑制敏感菌種 (Gill and Holley, 2000)。

III. LY 於食用包裝的應用

Yüceer and Caner (2020) 研究結果發現溶菌酶 - 幾丁質 (LY - C) 塗層具有提高蛋殼強度的效果，能延長保質期，但臭氧及超音波處理的雞蛋在儲存期間可維持較低的細菌數量，優於 LY - C 塗層。Kaewprachu *et al.* (2015) 研究在冷藏儲存期間 (4°C, 7 天)，比較豬絞肉用兒茶素 - LY 混合明膠複合膜 (catechin-lysozyme gelatin film, CLGF) 和商業薄膜 (聚氯乙烯, PVC) 包裹的品質，結果顯示商業薄膜之總菌數、酵母及黴菌等微生物的生長顯著高於 CLGF 包裝 ($P < 0.05$)；CLGF 包裝的 TBARS 略有增加，而商業薄膜的 TBARS 為顯著增加 ($P < 0.05$)，顯示食用薄膜以 LY 塗層處理具有延長豬絞肉保質期之潛力。

乳酸菌可以增加起司酸度，有助於風味提升，而 LY 潛在作用可能對參與起司熟成的乳酸菌造成影響。D'Incecco *et al.* (2016) 研究 Grana Padano cheeses (GPC) 中常檢出的菌種：*Lactobacillus helveticus*, *Lb. delbrueckii* 和 *Lb. rhamnosus*，及游離胺基酸在添加或不添加 LY 製作的起司之間的差異性，結果顯示游離胺基酸總含量在添加或不添加 LY 的 GPC 之間無顯著差異 ($P = 0.48$)，顯示蛋白水解以相同速率進行；幾丁聚醣 - 溶菌酶 (CL) 和幾丁聚醣 - 鏈黴菌素 (CN) 塗層對 Halloumi cheese 的感官性質均無不良影響，而在 3°C 貯存 35 天期間 2 種塗層對於 Halloumi cheese 浸泡在 10 和 15% 鹽水中之微生物數量沒有顯著差異，顯示 CL 和 CN 塗層在 10 和 15% 鹽水中對測試的微生物具有相似的抑制效果，建議鹽水溶液的鹽含量可以從 15% 降至 10% (Mehyar *et al.*, 2017)。

Boyacı *et al.* (2016) 研究，通過酸化來活化薄膜抗菌功效，結果顯示，當 pH 值降低到 5.5 以下時，LY 開始釋放，隨著 pH 值從 5.5 逐漸降低到 3.0，釋放的 LY 含量和釋放速率增加。Wei *et al.* (2017) 研究發現抗壞血酸 (ascorbic acid, AA) 的添加濃度小於 3.1 mg.cm⁻² 時，LY 釋放速率顯著降低 33.7% ($P < 0.05$)，並增加總釋放 LY 約 29.8 到 89.3% ($P < 0.05$)，且抗菌活性隨 AA 濃度的增加而增強。Güçbilmez *et al.* (2007) 在玉米醇溶蛋白薄膜中加入鷹嘴豆白蛋白萃取得物 (chickpea albumin extract, CPAE)，結果顯示改善部分純化的 LY 在玉米蛋白薄膜中的分佈，並減緩 LY 釋放速度 1.5 到 3.5 倍，主要取決於 CPAE 添加濃度。Fabra *et al.* (2013) 研究發現豌豆蛋白和

玉米澱粉膜中，添加 LY，在 10 與 25°C 環境下，均能擴散到食物模擬物表面（瓊脂），但最高的 LY 量仍然停留在食品模擬物的表面，LY 主要在食品表面發揮作用，是由於高分子量限制其在食品模型中的擴散。以上研究顯示 LY 在薄膜或塗層中的釋放受多種因素影響，包括薄膜材料的類型、CPAE 及 AA 等其他添加物協同作用、pH 及溫度等環境條件，了解這些因素如何影響 LY 釋放，有助於設計可控制釋放速率的抗菌膜。

傳統食品保存方法如冷藏、冷凍及化學防腐劑，但隱藏損傷食品品質及化學防腐劑對於健康影響等缺點，因此消費者傾向選擇天然的防腐劑 (Farshidi *et al.*, 2018)。近年有研究將天然的精油、有機酸及細菌素等結合至包裝材料中，然而精油與有機酸往往伴隨氣味添加 (Catarino *et al.*, 2017; Ehsani *et al.*, 2019; Venkatachalam and Lekjing, 2020)，可能影響食品風味。LPOS 與 LY 被公認為安全物質或安全添加劑，能夠提升可食用包裝抗菌性，然而其價格相較於其他食品防腐劑更高，限制在大規模中的應用。

其他酵素於可食用包裝之應用

蛋白質交聯是指在多肽鏈內部或蛋白質分子之間形成共價鍵，這個過程可以透過化學試劑或生物催化劑的作用下進行，多種轉移酶和氧化還原酶都能引發蛋白質交聯。其中，TG 在蛋白質交聯方面的應用已被廣泛研究和認可。此外，小漆酶 (small laccase, SLAC) 和山葵過氧化酶 (horseradish peroxidase, HRP) 等氧化還原酶也能促進蛋白質的共價交聯並改變其性質，酵素在改善和優化食用薄膜性能方面具有重要意義。在此整理其他數種酵素應用在可食用包裝的研究成果，以提供更全面的見解。

Yang and Zhao (2022) 研究指出在 H_2O_2 的存在下，HRP 可以氧化蛋白質中的酪胺酸殘基，促使蛋白質交聯，葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase) 可以催化 D- 葡萄糖的氧化，即 H_2O_2 和葡萄糖酸，HRP、葡萄糖氧化酶及 D- 葡萄糖組成的三元系統可能誘導蛋白質交聯，這種三元系統可通過一步法和兩步法進行交聯：(i) 一步法：HRP、葡萄糖氧化酶和 D- 葡萄糖同時加入蛋白質受質中，整個反應系統在一定時間內進行葡萄糖氧化和蛋白質交聯；(ii) 兩步法：葡萄糖氧化酶和 D- 葡萄糖同時加入蛋白質受質中進行葡萄糖氧化後，再將 HRP 加到反應系統中進行蛋白質交聯。整體而言，一步法比兩步法更有效地誘導蛋白質交聯，因 HRP 對形成 H_2O_2 的利用效率更高。

Zhou *et al.* (2020) 探討 SLAC 對乳清分離蛋白-果膠複合膜的影響，結果顯示，SLAC 的加入對膜的結晶度影響不大，不同濃度的 SLAC 對膜的顏色影響不顯著，然而，使用 4 U/100 mL 濃度的 SLAC，膜的透明度最好，使用 6 U/100 mL 濃度的 SLAC 具最佳的交聯效果，薄膜之含水量、水蒸氣穿透率及透氧性最低，顯示 SLAC 在 WPI-果膠複合膜具降低含水量和提高機械性能方面應用潛力。

Tarhan and Sen (2022) 比較熱變性與鹼酶 (alcalase enzyme) 對含有馬鬱蘭精油 (marjoram essential oil) 和百里香 (thyme) 萃取物的乳清和大豆蛋白食用包裝的影響，與熱變性薄膜相比，酵素水解處理後的薄膜顯得更薄、硬度較低及黏著性較高，這可能是酵素水解導致蛋白質分子重組和聚集減少，另鹼酶水解薄膜的水蒸氣滲透性低於熱變性薄膜，使其在塗層應用中具有更好的屏障性能，因此，在起司塗層應用結果顯示，鹼酶能提供更好的防潮保護，相較於熱變性能顯著減少起司硬度的增加。

結 論

可食用包裝廣泛應用在保鮮食品，其具備環境友善與功能性優勢，近年來逐漸受到重視，美國 Apeel Sciences 公司開發以植物源的可食性塗層，藉由防止水分流失和氧化延長酪梨、柑橘類等鮮果之保鮮期，並已進入美國 Costco 與 Kroger 等大型零售通路販售；美國 Mori 公司所研發之蠶絲蛋白塗層技術，則應用於生鮮肉品、魚類與蔬果，具有減緩水分散失與氧化作用；英國 Notpla 公司開發海藻為基質製作可食用薄膜，作為容器裝盛水並可直接食用。可食用包裝技術逐漸已進入市場商品化應用。包裝的基質常使用碳水化合物、脂質、蠟及蛋白質等生物聚合物，通過功能性成分的添加以提升食品包裝應用性能，酵素被廣泛使用作為提升食用薄膜性能的添加物之一，在前述研究成果中，展現出酵素在提升食品薄膜性能之潛力。TG、LPOS 及 LY 等酵素被公認為安全物質或安全添加劑，然而其在工業化應用仍受生產成本限制。為降低成本，已有研究利用低經濟副產物作為萃取來源，並符合永續理念；同時，透過物理或化學改質提升酵素功能效率，也是可行途徑。綜合而言，若能兼顧低成本開發與功能提升，將有助於酵素在可食用包裝上應用，滿足食品保存的需求與產業發展。

表 4. 溶菌酶於食用包裝之抗菌效果
Table 4. Antimicrobial effects of lysozyme on edible packages

Edible packages	Concentration of LY	Function	References
Zein film	1,400 -2,800 U/cm ²	The combinational incorporation of partially purified lysozyme with disodium EDTA·2H ₂ O or CPAE and disodium EDTA·2H ₂ O gave zein film effective on <i>Escherichia coli</i> and <i>Bacillus subtilis</i> .	Güçbilmez <i>et al.</i> , 2007
Isolate pea protein, starch based films	0, 50, 75 and 100 mg/g hydrocolloid	Pea protein and starch films containing LY exhibited against <i>Listeria monocytogenes</i> .	Fabra <i>et al.</i> , 2013
Gelatin film	100 g	Gelatin film containing LY - catechin applied to minced pork exhibited lower microbial growth compared to commercial film.	Kaewprachu <i>et al.</i> , 2015
Whey protein - oleic acid films	7.87 mg/g film solution	The smoked salmon slices coated by activated LY containing whey protein - oleic acid films showed significantly lower (almost 0.6 decimal) <i>Listeria innocua</i> counts than controls after 1 week at 4°C.	Boyacı <i>et al.</i> , 2016
Zein based films	16.5 mg/g film solution	AA effectively sustained the release of LY and antimicrobial activity increased with the increase of AA concentration.	Wei <i>et al.</i> , 2017
Chitosan coating	60% w/w film solution	Reduced psychrotrophs, anaerobes, lactic acid bacteria, and yeasts and molds by 1.8 - 2.2 log in 10 - 15% NaCl brined cheese.	Mehyar <i>et al.</i> , 2017
Chitosan coating	20% dry weight film solution	Enhanced the antibacterial characteristics of eggs while prolong the storage period at ambient temperature.	Yüceer and Caner, 2020

參考文獻

- Ahammed, S., F. Liu, J. Wu, M. N. Khin, W. H. Yokoyama, and F. Zhong. 2021. Effect of transglutaminase crosslinking on solubility property and mechanical strength of gelatin-zein composite films. *Food Hydrocolloids* 116: 106649.
- Ahmadi, Z., S. M. A. Razavi, and M. Varidi. 2017. Sequential ultrasound and transglutaminase treatments improve functional, rheological, and textural properties of whey protein concentrate. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 43: 207-215.
- Akin, M. S., B. Goncu, and M. B. Akin. 2019. Designing an industrial protocol to develop a new fat-reduced- ice cream formulation by replacing stabilizers with microbial transglutaminase enzyme. *Mljekarstvo* 69(3): 162-171. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2019.0302>.
- Amara, C. B., N. Eghbal, N. Oulahal, P. Degraeve, and A. Gharsallaoui. 2016. Properties of lysozyme/sodium alginate complexes for the development of antimicrobial films. *Food Res. Int.* 89: 272-280.
- Ando, H., M. Adachi, K. Umeda, A. Matsuura, M. Nonaka, R. Uchio, H. Tanaka, and M. Motoki. 1989. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric. and Biol. Chem.* 53(10): 2613-2617.
- Andrade, R. D., O. Skurtys, and F. A. Osorio. 2012. Atomizing spray systems for application of edible coatings. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 11(3): 323-337. 10.1111/j.1541-4337.2012.00186.x.
- Ardean, C., C. M. Davidescu, N. S. Nemeş, A. Negrea, M. Ciopec, N. Duteanu, P. Negrea, D. Duda-Seiman, and V. Musta. 2021. Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. *International journal of molecular sciences* 22(14): 7449.
- Basaga, H. and T. Dik. 1994. Effect of the lactoperoxidase system on the activity of starter cultures for yogurt production. *Milchwissenschaft* 49(3): 144-146.
- Beño, F., A. Velková, F. Hruška, and R. Ševčík. 2024. Use of Lactoperoxidase Inhibitory Effects to Extend the Shelf Life of Meat and Meat Products. *Microorganisms* 12(5), 1010. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12051010>.
- Boland, J. S., P. M. Davidson, B. Bruce, and J. Weiss. 2004. Cations Reduce Antimicrobial Efficacy of Lysozyme-Chelator Combinations. *Journal of Food Protection* 67(2): 285-294. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.2.285>.
- Boyacı, D., F. Korel, and A. Yemenicioğlu. 2016. Development of activate-at-home-type edible antimicrobial films: An example pH-triggering mechanism formed for smoked salmon slices using lysozyme in whey protein films. *Food Hydrocolloids* 60: 170-178.
- Catarino, M. D., J. M. Alves-Silva, R. P. Fernandes, M. J. Gonçalves, L. R. Salgueiro, M. F. Henriques, and S. M. Cardoso. 2017. Development and performance of whey protein active coatings with *Origanum virens* essential oils in the quality and shelf life improvement of processed meat products. *Food Control* 80: 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.054>.
- Cha, D. S., K. Cooksey, M. S. Chinna, and H. J. Park. 2003. Release of nisin from various heat-pressed and cast films. *LWT-Food Sci. Technol.* 36(2): 209-213.
- Cissé, M., D. Montet, M. S. Tapia, G. Loiseau, and M. N. Ducamp-Collin. 2012. Influence of temperature and relative humidity on the immobilized lactoperoxidase system in a functional chitosan film. *Food Hydrocolloids* 28(2): 361-366.
- Codex Alimentarius Commission (CAC). 2004. Report of the Twenty-Seventh Session. Codex Alimentarius Commission, Geneva, Switzerland.
- Cruz-Diaz, K., Á. Cobos, M. E. Fernández-Valle, O. Díaz, and M. I. Cambero. 2019. Characterization of edible films from whey proteins treated with heat, ultrasounds and/or transglutaminase. Application in cheese slices packaging. *Food Packaging and Shelf Life* 22: 100397.
- Datta, S., M. E. Janes, Q. G. Xue, J. Losso, and J. F. La Peyre. 2008. Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella anatum* on the surface of smoked salmon coated with calcium alginate coating containing oyster lysozyme and nisin. *J Food Sci.* 73(2): 67-71.
- de Wit, J. N. and A. C. M. van Hooydonk. 1996. Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Neth. Milk Dairy J.* 50: 227-244.
- Devi, L. S., A. K. Jaiswal, and S. Jaiswal. 2024. Lipid incorporated biopolymer based edible films and coatings in food packaging: A review. *Curr. Res. Food Sci.* 8: 100720.

- D'Incecco, P., M. Gatti, J. A. Hogenboom, B. Bottari, V. Rosi, E. Neviani, and L. Pellegrino. 2016. Lysozyme affects the microbial catabolism of free arginine in raw-milk hard cheeses. *Food Microbiol.* 57: 16-22.
- Ehsani, A., M. Hashemi, A. Afshari, M. Aminzare, M. Raehsi, and T. Zeinali. 2019. Effect of different types of active biodegradable films containing lactoperoxidase system or sage essential oil on the shelf life of fish burger during refrigerated storage. *LWT-Food Sci. Technol.* 117: 108633.
- Elliot, R. M., J. C. McLay, M. J. Kennedy, and R. S. Simmonds. 2004. Inhibition of foodborne bacteria by the lactoperoxidase system in a beef cube system. *International journal of food microbiology* 91(1): 73-81. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00366-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00366-0).
- Fabra, M. J., L. Sánchez-González, and A. Chiralt. 2013. Lysozyme release from isolate pea protein and starch based films and their antimicrobial properties. *LWT – Food Sci. Technol.* 55(1): 22-26.
- Farshidi, M., M. Yousefi, and A. Ehsani. 2018. The combined effects of lactoperoxidase system and whey protein coating on microbial, chemical, textural, and sensory quality of shrimp (*Penaeus merguensis*) during cold storage (4 ± 1 C). *Food Science & Nutrition* 6(6): 1378-1386.
- Fweja, L. W. T., M. J. Lewis, and A. S. Grandison. 2008. Challenge testing the lactoperoxidase system against a range of bacteria using different activation agents. *J. Dairy Sci.* 91(7): 2566-2574.
- Gill, A. O. and R. A. Holley. 2000. Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Research International*, 33(2), 83-90. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00152-0](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00152-0).
- Golmohamadi, A., M. J. Morra, I. Popova, and C. I. Nindo. 2016. Optimizing the use of *Sinapis alba* seed meal extracts as a source of thiocyanate (SCN⁻) for the lactoperoxidase system. *LWT-Food Science and Technology* 72: 416-422. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.007>.
- Güçbilmez, Ç. M., A. Yemenicioğlu, and A. Arslanoglu. 2007. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. *Food Res. Int.* 40(1): 80-91.
- Hashemi, M., M. Aminlari, M. Forouzan, E. Moghimi, M. Tavana, S. Shekarforoush, and M. Mohammadifar. 2018. Production and Application of Lysozyme-Gum Arabic Conjugate in Mayonnaise as a Natural Preservative and Emulsifier. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 68(1): 33-43. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0011>.
- IDF (1988). Code of practices for the preservation of raw milk by the lactoperoxidase system. *Bulletin of the International Dairy Federation* 234: 1-15.
- Jebalia, I., J. E. Maigret, A. L. Réguerre, B. Novales, S. Guessasma, D. Lourdin, G. Della Valle, and M. Kristiawan. 2019. Morphology and mechanical behaviour of pea-based starch-protein composites obtained by extrusion. *Carbohydrate Polymers* 223: 115086. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115086>.
- Jensen, A., L. T. Lim, S. Barbut, and M. Marcone. 2015. Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. *LWT-Food Sci. Technol.* 60(1): 162-170.
- Jiang, S., L. Zou, Y. Hou, F. Qian, Y. Tuo, X. Wu, X. Zhu, and G. Mu. 2020. The influence of the addition of transglutaminase at different phases on the film and film forming characteristics of whey protein concentrate-carboxymethyl chitosan composite films. *Food Packaging and Shelf Life* 25: 100546.
- Jiang, S., X. Zhang, Y. Ma, Y. Tuo, F. Qian, W. Fu, and G. Mu. 2016. Characterization of whey protein-carboxymethylated chitosan composite films with and without transglutaminase treatment. *Carbohydr. Polym.* 153: 153-159.
- Kaewprachu, P., K. Osako, S. Benjakul, and S. Rawdkuen. 2015. Quality attributes of minced pork wrapped with catechin-lysozyme incorporated gelatin film. *Food Packaging and Shelf Life* 3: 88-96.
- Kandemir, N., A. Yemenicioğlu, Ç. Mecitoglu, Z. S. Elmaci, A. Arslanoglu, Y. Göksungur, and T. Baysal. 2005. Production of antimicrobial films by incorporation of partially purified lysozyme into biodegradable films of crude exopolysaccharides obtained from *Aureobasidium pullulans* fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 43(4): 343-350.
- Kandemir, N., A. Yemenicioğlu, Ç. Mecitoglu, Z. S. Elmaci, A. Arslanoglu, Y. Göksungur, and T. Baysal. 2005. Production of antimicrobial films by incorporation of partially purified lysozyme into biodegradable films of crude exopolysaccharides obtained from *Aureobasidium pullulans* fermentation. *Food Technology and Biotechnology* 43(4): 343-350.
- Khandeparkar, A. S., R. Paul, A. Sridhar, V. V. Lakshmaiah, and P. Nagella. 2024. Eco-friendly innovations in food packaging: A sustainable revolution. *Sustainable Chem. Pharm.* 39: 101579.
- Kieliszek, M. and A. Misiewicz. 2014. Microbial transglutaminase and its application in the food industry: A review. *Folia*

- Microbiol. 59(3): 241-250.
- Korhonen, H. 1980. A new method for preserving raw milk-The lactoperoxidase antibacterial system. *World Anim. Rev.* 35: 23-29.
- Kumar, V A., M. Hasan, S. Mangaraj, P. M, D. K. Verma, and P. P. Srivastav. 2022. Trends in edible packaging films and its prospective future in food: A review. *Appl. Food Res.* 2(1): 100118.
- Kussendrager, K. D. and A. C. M. Van Hooijdonk. 2000. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition* 84(S1): 19-25.
- Li, X., F. Li, X. Zhang, W. Tang, M. Huang, Q. Huang, and Z. Tu. 2024. Interaction mechanisms of edible film ingredients and their effects on food quality. *Curr. Res. Food Sci.* 8: 100696.
- Marquez, G. R., P. D. Pierro, L. Mariniello, M. Esposito, C. V. L. Giosafatto, and R. Porta. 2017. Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT-Food Sci. Technol.* 75: 124-130.
- Masamba, K., Y. Li, J. Hategekimana, J. Ma, and F. Zhong. 2016. Effect of drying temperature and pH alteration on mechanical and water barrier properties of transglutaminase cross-linked zein-oleic acid composite films. *LWT-Food Sci. Technol.* 65: 518-531.
- Mehyar, G. F., A. A. Al Nabulsi, M. Saleh, A. N. Olaimat, and R. A. Holley. 2017. Effects of chitosan coating containing lysozyme or natamycin on shelf-life, microbial quality, and sensory properties of Halloumi cheese brined in normal and reduced salt solutions. *J. Food Process. Preserv.* 42(1): 13324.
- Min, S., L. J. Harris, and J. M. Krochta. 2005. *Listeria monocytogenes* inhibition by whey protein films and coatings incorporating the lactoperoxidase system. *J. Food Sci.* 70(7): 317-324.
- Mirpoor, S. F., D. Zannini, G. Santagata, and C. V. L. Giosafatto. 2024. Cardoon seed oil cake proteins as substrate for microbial transglutaminase: Their application as matrix for bio-based packaging to extend the shelf-life of peanuts. *Food Hydrocolloids* 147: 109339.
- Mohamed, C., K. A. Clementine, M. Didier, L. Gérard, and D. C. M. Noëlle. 2013. Antimicrobial and physical properties of edible chitosan films enhanced by lactoperoxidase system. *Food Hydrocolloids* 30(2): 576-580.
- Naidu, A. S. 2000. Lactoperoxidase. In A. S. Naidu (Ed.), *Natural food antimicrobial systems* (pp. 103-132). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Ochoa-Yepes, O., L. D. Gioglio, S. Goyanes, A. Mauri, and L. Famá. 2019. Influence of process (extrusion/thermos-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. *Carbohydrate Polymers* 208: 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>.
- Padgett, T., I. Y. Han, and P. L. Dawson. 1998. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *Journal of food protection*, 61(10), 1330-1335. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.10.1330>.
- Phillips, G. O. and P. A. Williams. 2011. *Handbook of food proteins*. Woodhead Publishing Limited. USA.
- Ribeiro, I. S., G. M. Maciel, D. G. Bortolini, I. d. A. A. Fernandes, W. V. Maroldi, A. C. Pedro, F. T. V. Rubio, and C. W. I. Haminiuk. 2024. Sustainable innovations in edible films and coatings: An overview. *Trends Food Sci. Technol.* 143: 104272.
- Romeih, E. and G. Walker. 2017. Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. *Trends in Food Sci. Technol.* 62: 133-140.
- Rostami, H., S. Abbaszadeh, and S. Shokri. 2017. Combined effects of lactoperoxidase system-whey protein coating and modified atmosphere packaging on the microbiological, chemical, and sensory attributes of Pike-Perch fillets. *J. Food Sci. Technol.* 54(10): 3243-3250.
- Seifu, E., E. M. Buys, and E. F. Donkin. 2004. Quality aspects of Gouda cheese made from goat milk preserved by the lactoperoxidase system. *International Dairy Journal* 14(7): 581-589.
- Seifu, E., E. M. Buys, and E. F. Donkin. 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 16(4): 137-154.
- Seiwert, K., D. P. Kamdem, D. S. Kocabas, and Z. Ustunol. 2021. Development and characterization of whey protein isolate and xylan composite films with and without enzymatic crosslinking. *Food Hydrocolloids* 120: 106847.
- Shokri, S. and A. Ehsani. 2017. Efficacy of whey protein coating incorporated with lactoperoxidase and α -tocopherol in shelf life extension of Pike-Perch fillets during refrigeration. *LWT-Food Sci. Technol.* 85: 225-231.

- Shokri, S., A. Ehsani, and M. S. Jasour. 2014. Efficacy of lactoperoxidase system-whey protein coating on shelf-life extension of rainbow trout fillets during cold storage (4°C). *Food and Bioprocess Technol.* 8(1): 54-62.
- Skurtys, O., C. Acevedo, F. Pedreschi, J. Enrione, F. Osorio, and J. M. Aguilera. 2010. Food hydrocolloid edible films and coatings. *Food Hydrocolloids*: 41-80.
- Suhag, R., N. Kumar, A. T. Petkoska, and A. Upadhyay. 2020. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. *Food Res. Int.* 136: 109582.
- Tarhan, O. and R. Sen. 2022. Heat-denatured and alcalase-hydrolyzed protein films/coatings containing marjoram essential oil and thyme extract. *Food Biosci.* 45: 101466.
- Valdés, A., M. Ramos, A. Beltrán, A. Jiménez, and M. C. Garrigós. 2017. State of the art of antimicrobial edible coatings for food packaging applications. *Coatings* 7(4): 56. <https://doi.org/10.3390/coatings7040056>.
- Velazquez-Dominguez, A., M. Hiolle, M. Abdallah, G. Delaplace, and P. P. S. Peixoto. 2023. Transglutaminase cross-linking on dairy proteins: functionalities, patents, and commercial uses. *Int. Dairy J.* 143: 105688.
- Venkatachalam, K. and S. Lekjing. 2020. A chitosan-based edible film with clove essential oil and nisin for improving the quality and shelf life of pork patties in cold storage. *RSC advances* 10(30): 17777-17786. <https://doi.org/10.1039/d0ra02986f>.
- Wang, Y. and Y. L. Xiong. 2021. Physicochemical and microstructural characterization of whey protein films formed with oxidized ferulic/tannic acids. *Foods* 10(7): 1599. <https://doi.org/10.3390/foods10071599>.
- Wei, D., W. Huo, G. Li, Q. Xie, and Y. Jiang. 2017. The combined effects of lysozyme and ascorbic acid on microstructure and properties of zein-based films. *Chin. J. Chem. Eng.* 26(3): 648-656.
- Wittaya, T. 2012. Protein-based edible films: Characteristics and improvement of properties. In *Structure and function of food engineering*. Intech. DOI: 10.5772/48167.
- Wu, T., Q. Jiang, D. Wu, Y. Hu, S. Chen, T. Ding, X. Ye, D. Liu, and J. Chen. 2019. What is new in lysozyme research and its application in food industry? A review. *Food Chemistry* 274: 698-709.
- Xu, F., S. Liu, Y. Liu, Q. Xu, and S. Wang. 2019. The combined effect of ultraviolet-C irradiation and lysozyme coatings treatment on control of brown heart in Huangguan pears. *Scientia Horticulturae* 256: 108634.
- Yang, Y. F. and X. H. Zhao. 2022. Structure and property changes of whey protein isolate in response to the chemical modification mediated by horseradish peroxidase, glucose oxidase, and D-glucose. *Food Chemistry* 373: 131328.
- Yao, X., T. Du, J. Guo, W. Lv, B. Adhikari, and J. Xu. 2022. Extraction and characterization of lysozyme from salted duck egg white. *Foods*, 11(22), 3567. <https://doi.org/10.3390/foods11223567>.
- Yousefi, M., A. Nematollahi, M. Shadnoush, A. M. Mortazavian, and N. Khorshidian. 2022. Antimicrobial activity of films and coatings containing lactoperoxidase system: A review. *Front. Nutr.* 9: 828065.
- Yousefi, M., M. Farshidi, and A. Ehsani. 2018. Effects of lactoperoxidase system-alginate coating on chemical, microbial, and sensory properties of chicken breast fillets during cold storage. *J. Food Saf.* 38(3): 12449.
- Yüceer, M. and C. Caner. 2020. The effects of ozone, ultrasound and coating with shellac and lysozyme-chitosan on fresh egg during storage at ambient temperature. Part II: microbial quality, eggshell breaking strength and FT-NIR spectral analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.* 55(4): 1629-1636.
- Zall, R. R., J. H. Chen, and D. J. Dzurec. 1983. Effect of thiocyanate-lactoperoxidase-hydrogen peroxide system and farm heat treatment on the manufacturing of cottage cheese and cheddar cheese. *Milchwissenschaft* 38(4): 203-206.
- Zhang, M., P. Wang, M. Zou, R. Yang, M. Tian, and Z. Gu. 2019. Microbial transglutaminase-modified protein network and its importance in enhancing the quality of high-fiber tofu with okara. *Food Chem.* 289: 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.038>.
- Zhang, W., S. Hedayati, M. Tarahi, A. C. Karaca, M. Hadidi, E. Assadpour, and S. M. Jafari. 2023. Advances in transglutaminase cross-linked protein-based food packaging films: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 253: 127399.
- Zhou, Y., X. Zhu, C. Zhang, W. S. Chai, K. W. Chew, A. Du, and P. L. Show. 2020. Characterization of whey protein isolate and pectin composite film catalyzed by small laccase from *Streptomyces coelicolor*. *Environ. Technol. Innovation* 19: 100999.
- Ziarno, M. and D. Zaręba. 2020. The effect of the addition of microbial transglutaminase before the fermentation process on the quality characteristics of three types of yogurt. *Food Sci. Biotechnol.* 29(1): 109-119. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00640-6>.

Review of enzymatic treatment on the properties of edible packaging materials and the impact on food preservation ⁽¹⁾

Chi-Huai Huang ⁽²⁾ Ruei-Han Yeh ⁽²⁾ Ling-Tsai Wu ⁽²⁾⁽³⁾ and Ching-Yun Kuo ⁽³⁾

Received: Nov. 20, 2024; Accepted: Oct. 13, 2025

Abstract

The use of petroleum-based polymer materials in traditional packaging poses significant environmental pollution concerns. As a result, the food packaging industry is faced with the challenge in developing materials that are both environmentally friendly and economically viable. Biodegradability and renewable properties of alternatives packaging materials are becoming increasingly important. The paper reviews the application of enzymes in edible packaging, including transglutaminase (TG), the lactoperoxidase system (LPOS), and lysozyme (LY), which could improve the packaging performance. TG catalyzes protein cross-linking, enhancing the mechanical properties of protein films and improving water vapor permeability. Both LPOS and LY are natural antimicrobial agents that exhibit strong antimicrobial properties in edible packaging, in order to extend the shelf life of food. Furthermore, the combination of TG and high-intensity ultrasound pretreatment can significantly enhance the impact on film performance. The paper also analyzes the synergistic effects or influence of other additives, such as ascorbic acid (AA), chickpea albumin extract (CPAE), and α -tocopherol, on food packaging. In summary, this review highlights recent research on the application of enzymes in food packaging, providing insights to the potential of enzymes in edible packaging and extension of shelf life, and offering valuable references for future studies.

Key words: Edible Films, Coatings, Enzymes.

(1) Contribution No. 2843 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Products Processing Division, MOA-TLRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: wlt@mail.tlri.gov.tw.

以乳脂肪酸組成作為泌乳牛飼糧營養監控之探討⁽¹⁾

王思涵⁽²⁾⁽⁴⁾ 李佳馨⁽²⁾ 廖曉涵⁽²⁾ 張俊達⁽³⁾ 蕭振文⁽²⁾

收件日期：114 年 7 月 23 日；接受日期：114 年 10 月 13 日

摘 要

本研究旨在探討乳脂肪率、乳真蛋白質率及三類型乳脂肪酸組成（新合成型、混合型與預製型）與乳牛飼糧營養成分間之關聯性，進一步評估乳脂肪酸組成作為泌乳牛飼糧營養監控指標之可行性。試驗挑選桃園地區三戶參與乳牛群性能改良計畫之乳牛場（A、B 及 C 場），每月收集一次資料，連續追蹤一年。結果顯示，A、B、C 三場之總乳脂肪率分別為 4.23、3.89 與 3.82%，其中 A 場顯著高於 B 與 C 場 ($P < 0.05$)，而 B 與 C 場之間無顯著差異。另外，三場總乳真蛋白質率分別為 3.24、3.22 與 3.06%，C 場顯著低於 A 與 B 場 ($P < 0.05$)。在乳脂肪酸組成方面，B 場總乳中新合成型脂肪酸 (de novo FA) 占乳脂肪比例最高 (25.73%)，顯著高於 A 場 (23.38%) 與 C 場 (23.54%) ($P < 0.05$)；混合型脂肪酸 (mixed FA) 占比亦以 B 場 (34.29%) 最高，顯著高於 C 場 (29.85%) ($P < 0.05$)；而預製型脂肪酸 (preformed FA) 占比則以 C 場 (42.02%) 最高，顯著高於 A 場 (38.36%) 與 B 場 (34.67%) ($P < 0.05$)。整體而言，乳脂肪率、乳真蛋白質率與預製型脂肪酸含量在總乳樣與個別乳樣中均呈現一致顯著差異性，惟新合成型與混合型脂肪酸因個體間變異（標準差）大，導致個別乳樣之顯著性排序略有不同，然整體趨勢一致，顯示無論使用總乳或個別牛乳樣本皆具營養監控之參考價值。綜觀完全混合飼糧分析結果，總乳與個別乳樣之乳脂肪率與乳真蛋白質率，與飼糧中粗蛋白質、粗脂肪及非纖維性碳水化合物 (non-fiber carbohydrates, NFC) 含量呈正相關。惟在數據使用判讀上須注意牛群結構如泌乳天數與胎次等因素對乳成分表現造成之影響需一併考量。另一方面，當飼糧中非纖維性碳水化合物含量高時，可能抑制纖維消化，降低乙酸生成，進而造成乳中新合成型脂肪酸比例下降。相對地，當飼糧中物理有效中纖維含量較高時，則新合成型脂肪酸占乳脂肪比例會顯著提高 ($P < 0.05$)，有助於提升乳脂肪含量。本研究結果顯示，乳脂肪酸組成具有作為泌乳牛飼糧營養監控指標之應用潛力。建議未來可進行長期追蹤，以觀察不同季節或日糧調整前後乳脂肪酸組成之變化趨勢，進一步釐清其與飼糧營養結構之關聯性。透過系統化的乳脂肪酸監測，有助於飼糧精準調整與乳牛健康管理，提升現場之飼養管理效率。

關鍵詞：泌乳牛、乳脂肪酸、飼糧、營養監控。

緒 言

乳成分會直接影響生乳的收購價格，目前國際上皆採用以乳成分如乳脂肪、乳蛋白質或固形物含量作為決定價格之定價制度 (component pricing system) (Bailey *et al.*, 2005)。國內目前使用之定價制度，以乳脂肪率與無脂固形物率為主。其中，乳脂肪占牛乳三酸甘油酯 (triglyceride, TG) 比例高達 95 – 98%，其分子結構由一分子甘油與三個脂肪酸 (fatty acids, FA) 組成 (Pegolo *et al.*, 2016)。因此，深入了解影響乳脂肪酸組成之因素，對於乳品品質評估與乳牛營養管理具有重要意義。根據 Barbano (2017) 之研究，將牛乳脂肪酸依據其合成來源分為三類包括，新合成型脂肪酸 (de novo FA)、混合型脂肪酸 (mixed FA) 與預製型脂肪酸 (preformed FA)。新合成型脂肪酸主要為酪酸 (C4:0) 至肉豆酸 (C14:0) 之短鏈與中鏈脂肪酸，部分棕櫚酸 (C16:0) 亦屬此類。此類脂肪酸主要由乳腺細胞利用乙酸 (acetate) 與丁酸 (butyrate) 進行脂肪酸合成 (Woolpert *et al.*, 2017)。混合型脂肪酸包括來自乳腺合成與血液循環中吸收的脂肪酸，尤其是棕櫚酸 (C16:0) 具有雙重來源 (Ungerfeld *et al.*, 2019)。預製型脂肪酸為碳鏈長度 C18 以上之長鏈脂肪酸，來源包括飼糧中脂肪或體脂肪分解後釋出的脂肪酸，經由血液進入乳腺細胞並參與乳脂肪合成 (Palmquist *et al.*, 1993)。隨著傅立葉轉換中紅外線光譜儀 (mid-Fourier transform infrared, mid-FTIR) 技術之進展，現

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2844 號。
(2) 農業部畜產試驗所北區分所。
(3) 農業部畜產試驗所畜產經營組。
(4) 通訊作者，E-mail: shwang@mail.tlri.gov.tw。

已能迅速分析牛乳之脂肪酸組成。研究顯示，乳脂肪酸組成與乳脂肪率與乳蛋白質率具高度相關性 (Barbano *et al.*, 2014)，因此可作為乳品品質指標及營養管理調控之依據。乳脂肪酸組成受到乳牛群飼養管理與營養策略顯著影響。Woolpert *et al.* (2016, 2017) 指出，乳牛場總乳中乳脂肪率與新合成型脂肪酸含量較高之牧場，其牛群飼養密度較低且每日飼餵完全混合飼糧次數大於兩次，利於乳牛群採食與反芻行為進而增加乳脂肪酸合成。飼糧中含高量之多元不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 與非纖維性碳水化合物 (non-fiber carbohydrates, NFC) (Harvatine and Bauman, 2011)、物理有效中洗纖維 (physically effective neutral detergent fiber, peNDF) 含量偏低 (Woolpert *et al.*, 2016) 或額外補充脂肪來源 (Harvatine *et al.*, 2009) 等皆會對於乳脂肪酸組成造成影響，尤其是可能會抑制新合成型脂肪酸之生合成，進而降低乳脂肪率且改變脂肪酸組成 (Stoffel *et al.*, 2015)。牛乳脂肪酸組成受到合成來源、飼糧組成及飼養管理條件所影響。藉由 mid-FTIR 技術對乳脂肪酸組成進行定期且快速監測，不僅可作為乳品質管控之工具，亦有助於營養與飼養策略之優化，進而提升乳品價值與乳牛健康表現。本調查旨在探討乳脂肪率、乳真蛋白質率及三類型乳脂肪酸組成與乳牛飼糧組成之相關性，進一步探討乳脂肪酸組成作為泌乳牛飼糧營養監控之可能性。

材料與方法

I. 試驗設計與樣品收集

挑選桃園地區有參與乳牛群性能改良計畫 (dairy herd improvement, DHI) 計畫三個乳牛場 (A, B 及 C 場) 且芻料來源以乾草為主，A 場飼糧配方以泌乳量 28 kg；B 場以泌乳量 30 kg；C 場以泌乳量 32 kg 作為計算基礎。每月進行一次 DHI 資料收集且連續一年。三個乳牛場之個別牛乳樣品，統一由輔導員每月進行收集；總乳樣品統一於每月固定一日清晨擠乳前作業，每家乳牛場進行兩重複總乳樣品收集。完全混合飼糧 (total mixed ration, TMR) 於總乳採集當日飼糧配製完成剛進行餵飼時進行採樣，飼糧組成與營養成分估計值詳如表 1，且試驗期間各場飼糧配方組成一致。乾物質採食量使用以紀錄 TMR 餵飼總量扣除收集之剩料重量進行估算。每家乳牛場約採樣 2 – 3 kg TMR (濕重)，且至少需包含至少 10 個採樣點。

II. 乳成分分析

- (i) 生乳成分分析儀器：乳脂肪率及乳真蛋白質率使用 MilkoScan™ FT⁺ 及 Fossomatic™ FC (Foss Electric, Hillerød, Denmark) 進行分析，並安裝 Fatty Acid Origin 脂肪酸分析模組進行新合成型、混合型及預製型乳脂肪酸分析 (Schwarz *et al.*, 2018; Schwarz, 2018)。
- (ii) Fatty Acid Origin 乳脂肪酸分析模組原廠定義：新合成型脂肪酸涵蓋範圍為酪酸 (C4:0)、己酸 (C6:0)、辛酸 (C8:0)、癸酸 (C10:0)、月桂酸 (C12:0)、肉豆酸 (C14:0) 及肉豆蔻酸 (C14:1)；混合型脂肪酸涵蓋範圍為棕櫚酸 (C16:0) 及棕櫚烯酸 (C16:1)；預製型脂肪酸涵蓋範圍為十五脂酸 (C15:0)、十七脂酸 (C17:0)、硬脂酸 (C18:0)、油酸 (C18:1)、亞麻油酸 (C18:2)、次亞麻油酸 (C18:3)、花生酸 (C20:0)、二十碳二烯酸 (C20:2)、山萘酸 (C22:0) 及木蠟酸 (C24:0)。
- (iii) Fatty Acid Origin 脂肪酸分析模組單位：乳脂肪酸可使用不同單位表示，以牛乳為基礎：g specific Fatty Acids/100 g Milk 或以總脂肪為基礎：g specific Fatty Acids/100 g Total Fatty Acids。而此脂肪酸模組使用之單位以牛乳為基礎，是因為其無法將脂肪與剩餘的牛乳完全分離。而氣相層析法分析乳脂肪酸前，需要所有的脂肪萃取並轉化成脂肪酸甲酯 (fatty acid methyl ester) (ISO 15885 | IDF 184:2002)。脂肪酸分析模組單位換算公式如下：

$$\text{g de novo Fatty Acid/100 g Total Fatty Acids} = (\text{g de novo Fatty Acid/100 g Milk}) / \text{total Fat\%} \times 0.95$$

III. 有效中洗纖維 (peNDF) 分析

- (i) 取出 500 g 剛採集之 TMR 樣品後，使用美國賓州州立大學研發出的芻料和 TMR 顆粒分離篩 (forage and TMR particle size separator) (Heinrichs and Kononoff, 2002)。
- (ii) 先將賓州篩順序排列正確，依序為底盤 (無孔) 放在最底部、然後是下層篩 (4 mm)、中層篩 (8 mm)、最後為上層篩 (19 mm)。將 TMR 樣品輕放入上層篩，並以手輕輕撥開樣本使其均勻分散在篩上。
- (iii) 以 1.1 的頻率 (即每 60 秒篩 66 下) 手篩賓州篩，每邊篩 5 下。手臂篩動幅度約 17 公分。賓州篩轉 1/4 圈，然後繼續篩。重複步驟 4 與步驟 5，共計轉兩圈 (篩 8 次)，共計篩 40 下。
- (iv) 以電子天平秤重並記錄每一層樣本重量 (g)，計算樣本總重。
- (v) 利用公式計算 peNDF，使用 4 mm 篩子計算 peNDF，將前三個篩子加在一起，然後乘以 TMR 的 NDF 含量 (Mertens, 1999; Kmicikewycz *et al.*, 2015)。公式說明如下：

$$\text{peNDF (\%)} = (\% \geq 19 \text{ mm} + \%8 \text{ mm} + \%4 \text{ mm}) \times \text{NDF (\%DM)} / 100$$

表 1. 三個乳牛場泌乳牛群試驗期間之飼糧組成與營養成分估計值

Table 1. The dietary composition and estimated nutrient values for milking cows at the three selected dairy farms during the experiment

Farm A	
Major ingredient	concentrate ¹ , oat hay, alfalfa, pangola hay
Chemical component	
Crude protein (%) ²	16.40
Ether extract (%)	4.02
Neutral detergent fiber (%)	29.80
Dry matter intake (kg/day)	21.71
Farm B	
Major ingredient	concentrate, oat hay, alfalfa
Chemical component	
Crude protein (%)	16.20
Ether extract (%)	2.86
Neutral detergent fiber (%)	33.55
Dry matter intake (kg/day)	21.99
Farm C	
Major ingredient	concentrate, oat hay, alfalfa, pangola hay
Chemical component	
Crude protein (%)	15.30
Ether extract (%)	3.71
Neutral detergent fiber (%)	37.56
Dry matter intake	22.16

¹ Concentrate: commercial milking cow concentrate and soybean hull.

² Percentage of dry matter.

IV. 飼料一般成分分析

- (i) 水分分析：秤量並紀錄烘乾不鏽鋼盤重，隨之自每家乳牛場約採樣 2 – 3 kg TMR (濕重) 中秤取 2 kg TMR 樣品後並紀錄含 TMR 後之總重。將準備好之 TMR 樣品放置於 65°C 烘箱內 48 小時。48 小時後，取出放涼後秤取風乾重並記錄。即可計算出 TMR 之粗水分含量。
- (ii) 粗蛋白質、粗脂肪、中洗纖維、酸洗纖維及粗灰分分析：將乾燥後之 TMR 樣品進行磨粉，並標示清楚採樣月份及乳牛場代號後，寄送至畜產試驗所飼料化驗中心進行分析 (AOAC, 2012)。
- (iii) 非纖維性碳水化合物 (NFC) 計算公式：100 – 粗蛋白質 % – 粗脂肪 % – 中洗纖維 % – 灰分 %。

V. 統計分析

本試驗所收集資料使用統計分析軟體 (SAS, 2002) 中 ANOVA 程序進行變方分析，再以 Tukey 事後檢定進行多重比較，以 $P < 0.05$ 表示具有顯著差異。

結 果

I. 乳牛場試驗期間泌乳牛群結構

三個乳牛場於試驗資料收集期間泌乳牛群之平均泌乳天數及胎次如表 2 所示。A、B 及 C 場泌乳牛群平均泌乳天數依序為 255 天 ± 146 天 (標準偏差)、183 ± 126 天及 192 ± 134 天；最高泌乳天數依序為 732、595 及 878 天。而 A、B 及 C 場泌乳牛群平均胎次依序為 2.26 ± 1.25 胎、2.19 ± 1.1 胎及 2.02 ± 1.13 胎；牛群最大胎次

依序為第 8、第 5 及第 6 胎次。A 場相較於其他乳牛場，其整體泌乳牛群泌乳天數及平均胎次皆較高。

表 2. 乳牛場泌乳牛群之平均泌乳天數及胎次統計

Table 2. The description of the average days in milk and lactation numbers of lactating cows on dairy farms

Item	A (n = 1,434)	B (n = 910)	C (n = 2,574)
Average days in milk	255 ± 146 ¹	183 ± 126	192 ± 134
Maximum days in milk	732	595	878
Average lactation numbers	2.26 ± 1.25	2.19 ± 1.10	2.02 ± 1.13
Maximum lactation numbers	8	5	6

¹ Standard deviation, SD.

II. 乳牛場試驗期間 TMR 一般成分分析

北部地區三個乳牛場之 TMR 一般成分分析結果如表 3 所示，三個乳牛場 TMR 之乾物質採食量無顯著差異。A、B 及 C 場之 TMR 粗蛋白質含量依序為 15.68、15.61 及 13.98%，C 場 TMR 粗蛋白質含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 與 B 場 TMR 粗蛋白質含量無顯著差異。A、B 及 C 場 TMR 粗脂肪含量依序為 4.38、2.91 及 3.96%，B 場 TMR 粗脂肪含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 與 C 場之 TMR 粗脂肪含量無顯著差異。A、B 及 C 場 TMR 酸洗纖維含量依序為 15.69、16.96 及 23.31%，C 場 TMR 酸洗纖維含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 與 B 場 TMR 酸洗纖維含量無顯著差異。A、B 及 C 場 TMR 中洗纖維含量依序為 27.77、33.03 及 37.51%，C 場 TMR 中洗纖維含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 場 TMR 中洗纖維含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)。A、B 及 C 場 TMR 非纖維性碳水化合物含量依序為 44.56、40.22 及 37.31%，A 場 TMR 非纖維性碳水化合物含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 C 場 TMR 非纖維性碳水化合物含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)。此一般成分分析結果以 TMR 樣品為主，並未計算個別乳牛場每日額外補充精料或芻料營養組成，B 場會於每日兩次推料過程中補充少量精料，而 C 場則於每日兩次 TMR 餵飼前補充每頭約 2 kg 且粗蛋白質為 4.6%(乾基)小麥乾草於高產泌乳牛群，A 場 TMR 相較於其他乳牛場而言，屬於高脂與高澱粉配方，總能量較其他乳牛場高。

表 3. 乳牛場泌乳牛群之飼糧營養成分分析值

Table 3. The dietary chemical composition of the diets of dairy farms

Item	A (n = 12)	B (n = 12)	C (n = 12)	P-value
DM, %	53.79 ± 3.54	54.25 ± 1.77	54.81 ± 1.73	0.63
CP, % of DM	15.68 ± 1.39 ^a	15.61 ± 1.68 ^a	13.98 ± 1.04 ^b	< 0.05
Ether extract, % of DM	4.38 ± 0.66 ^a	2.91 ± 0.57 ^b	3.96 ± 0.75 ^a	< 0.05
ADF, % of DM	15.69 ± 1.55 ^b	16.96 ± 1.86 ^b	23.31 ± 2.03 ^a	< 0.05
NDF, % of DM	27.77 ± 2.63 ^c	33.03 ± 2.31 ^b	37.51 ± 3.02 ^a	< 0.05
Ash, % of DM	7.61 ± 0.61 ^a	8.24 ± 0.75 ^a	7.24 ± 0.35 ^b	< 0.05
NFC ¹ , % of DM	44.56 ± 2.24 ^a	40.22 ± 3.37 ^b	37.31 ± 1.94 ^c	< 0.05

^{a, b, c} Means within a row with different superscripts differ.

¹ Non-fiber carbohydrates, $NFC = 100 - (\%NDF + \%CP + \%Fat + \%Ash)$.

III. 乳牛場試驗期間 TMR 芻料和顆粒料分離結果

北部地區三個乳牛場之 TMR 利用賓州四段篩進行芻料和顆粒料分離結果如表 4 所示，A、B 及 C 場 TMR 有效中洗纖維含量依序為 21.22、23.38 及 18.91%，C 場 TMR 有效中洗纖維含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 B 場 TMR 有效中洗纖維含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)。

IV. 乳牛場總乳日平均產乳量及乳成分分析結果

乳牛場之總乳成分分析結果如表 5 所示，A、B 及 C 場總乳脂肪率依序為 4.23、3.89 及 3.82%，A 場總乳脂肪率顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 B 與 C 場總乳脂肪率間無顯著差異。A、B 及 C 場總乳真蛋白質率依序為 3.24、3.22 及 3.06%，C 場總乳真蛋白質率顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 與 B 場總乳真蛋白質率間無顯

著差異。A、B 及 C 場總乳新合成型脂肪酸占總脂肪含量依序為 23.38、25.73 及 23.54%，B 場總乳新合成型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)。而 A 及 C 場總乳新合成型脂肪酸占總脂肪含量間無顯著差異。A、B 及 C 場總乳混合型脂肪酸占總脂肪含量依序為 32.88、34.29 及 29.85%，B 場總乳混合型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於 C 場 ($P < 0.05$)，但與 A 場之數值無顯著差異。A、B 及 C 場總乳預製型脂肪酸占總脂肪含量依序為 38.36、34.67 及 42.02%，C 場總乳預製型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於 A 及 B 場 ($P < 0.05$)，B 場總乳預製型脂肪酸占總脂肪含量則顯著最低 ($P < 0.05$)。

表 4. 乳牛場之 TMR 使用賓州四段篩之顆粒分佈及有效中洗纖維計算值

Table 4. The particle distribution and physically effective neutral detergent fiber calculation values for TMR on dairy farms using a Penn State Particle Separator

Item	A (n = 12)	B (n = 12)	C (n = 12)	P-value
peNDF ¹ , % as fed	21.22 ± 1.30 ^b	23.38 ± 1.49 ^a	18.91 ± 0.80 ^c	< 0.05
19-mm sieve, % as fed	23.54 ± 4.88 ^b	42.33 ± 9.64 ^a	24.67 ± 5.66 ^b	< 0.05
8-mm sieve, % as fed	24.94 ± 4.11 ^a	17.93 ± 5.16 ^b	17.39 ± 2.18 ^b	< 0.05
4-mm sieve, % as fed	20.24 ± 1.86 ^a	15.44 ± 3.10 ^b	19.17 ± 1.53 ^a	< 0.05
Pan ² , % as fed	31.28 ± 4.21 ^b	24.30 ± 4.81 ^c	38.77 ± 2.58 ^a	< 0.05

^{a, b, c} Means within a row with different superscripts differ.

¹ peNDF = physically effective NDF.

² Bottom Pan (< 4 mm).

表 5. 乳牛場之總乳平均脂肪率、真蛋白質率及三類乳脂肪酸含量

Table 5. Average fat, true protein percentage, and three types of milk fatty acids content of bulk tank milk in dairy farms during the experimental period

Item	A (n = 12)	B (n = 12)	C (n = 12)	P-value
Fat, %	4.23 ± 0.15 ^a	3.89 ± 0.16 ^b	3.82 ± 0.90 ^b	< 0.05
True protein, %	3.24 ± 0.07 ^a	3.22 ± 0.13 ^a	3.06 ± 0.76 ^b	< 0.05
Fatty acids (g/100 g of FA)				
De novo FA ¹	23.38 ± 1.30 ^b	25.73 ± 1.46 ^a	23.54 ± 1.74 ^b	< 0.05
Mixed FA ²	32.88 ± 1.16 ^a	34.29 ± 1.41 ^a	29.85 ± 1.30 ^b	< 0.05
Preformed FA ³	38.36 ± 2.34 ^b	34.67 ± 2.89 ^c	42.02 ± 2.83 ^a	< 0.05

^{a, b, c} Means within a row with different superscripts differ.

¹ C4 : 0, C6 : 0, C8 : 0, C10 : 0, C12 : 0, C14 : 0 and C14 : 1.

² C16 and C16 : 1.

³ C15 : 0, C17 : 0, C18 : 0, C18 : 1, C18 : 2, C18 : 3, C20 : 0, C20 : 2, C22 : 0 and C24 : 0.

V. 乳牛場個別牛乳樣日平均產乳量及乳成分分析結果

北部地區三個乳牛場之個別牛乳樣成分分析結果如表 6 所示，A、B 及 C 場個別牛日平均產乳量依序為 24.77、27.52 及 28.21 kg/d，C 場日平均產乳量顯著高於 A ($P < 0.05$)，但與 B 場間無顯著差異。A、B 及 C 場個別牛乳脂肪率平均依序為 4.56、4.06 及 3.99%，A 場脂肪率顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 B 與 C 場之數值間無顯著差異。A、B 及 C 場個別牛乳真蛋白質率依序為 3.33、3.29 及 3.21%，C 場真蛋白質率顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)，而 A 與 B 場真蛋白質率間無顯著差異。A、B 及 C 場個別牛乳新合成型脂肪酸占總脂肪含量平均依序為 23.00、26.01 及 23.69%，B 場新合成型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於其他兩場 ($P < 0.05$)；C 場個別牛乳新合成型脂肪酸占總脂肪含量顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)。A、B 及 C 場個別牛乳混合型脂肪酸占總脂肪含量平均依序為 32.82、34.87 及 30.25%，B 場個別牛乳樣混合型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於 A 及 C 場 ($P < 0.05$)；C 場之數值顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)。A、B 及 C 場個別牛乳預製型脂肪酸占總脂肪含量平均依序為 37.90、34.26 及 41.88%，C 場個別牛乳預製型脂肪酸占總脂肪含量顯著高於 A 及 B 場 ($P < 0.05$)；B 場之數值顯著低於其他兩場 ($P < 0.05$)。

表 6. 乳牛場之個別牛乳平均脂肪率、真蛋白質率及三類乳脂肪酸含量

Table 6. Average fat, true protein percentage, and three types of milk fatty acids content of individual cow's milk in dairy farms during the experimental period

Item	A (n = 1,434)	B (n = 910)	C (n = 2,574)	P-value
Milk yield, kg/d	24.77 ± 8.55 ^b	27.52 ± 7.60 ^a	28.21 ± 8.35 ^a	< 0.05
Fat, %	4.56 ± 0.84 ^a	4.06 ± 0.78 ^b	3.99 ± 0.78 ^b	< 0.05
True protein, %	3.33 ± 0.45 ^a	3.29 ± 0.41 ^a	3.21 ± 0.45 ^b	< 0.05
Fatty acids (g/100 g of FA)				
De novo FA ¹	23.00 ± 2.58 ^c	26.01 ± 3.07 ^a	23.69 ± 3.55 ^b	< 0.05
Mixed FA ²	32.82 ± 2.39 ^b	34.87 ± 3.13 ^a	30.25 ± 2.76 ^c	< 0.05
Preformed FA ³	37.90 ± 4.61 ^b	34.26 ± 5.84 ^c	41.88 ± 5.36 ^a	< 0.05

^{a, b, c} Means within a row with different superscripts differ.

¹ C4 : 0, C6 : 0, C8 : 0, C10 : 0, C12 : 0, C14 : 0 and C14 : 1.

² C16 and C16 : 1.

³ C15 : 0, C17 : 0, C18 : 0, C18 : 1, C18 : 2, C18 : 3, C20 : 0, C20 : 2, C22 : 0 and C24 : 0.

討 論

總乳部分，A 場乳脂肪率最高 (4.23%)，與其飼糧中含較高之 NFC (44.56%) 與粗脂肪 (4.38%) 有關，提供乳牛高能量供應有助於乳脂肪之合成 (Allen, 1997)。同時，A 場泌乳牛群之泌乳天數及平均胎次皆較其他兩場高，泌乳末期產乳量會隨之下降且乳脂肪率會上升也是造成 A 場乳脂肪率最高的可能原因 (Stanton *et al.*, 1992)。另外，B 與 C 場之乳脂肪率較 A 場低 (3.89 與 3.82%)，除了與泌乳牛群產乳量及泌乳天數有關，也可能因其飼糧中能量密度較低所致。其中 C 場飼糧中之 NFC 為 37.31%，有效中纖維含量為 18.91%，但產乳量是三個乳牛場中最高，凸顯了乳脂肪率較低的現象。C 場之高產泌乳牛群約占泌乳牛群之 20% (產乳量高於 35 kg)，考量營養需求每日額外補充 4 kg 小麥乾草。以表 3 數據再加上 4 kg 小麥乾草作為計算基礎，C 場之高產泌乳牛群每頭每日實際乾物質採食量為 25.76 kg (4 kg × 90% DM)，營養攝取量粗蛋白質約 14.14% (4 kg × 90% × 4.6%)、粗脂肪約 3.98% (4 kg × 90% × 0.5%) 及 NDF 約 38.78% (4 kg × 90% × 35.2%)，C 場補充小麥乾草有助於提高粗蛋白質、粗脂肪與纖維攝取量，然而 NDF 含量達 38.78%，高於 NRC (2001) 建議之 NDF 含量 (25 – 33%)，小麥乾草雖可提供纖維有助於瘤胃環境，但可能使得能量濃度降低，同時粗蛋白質含量對高產泌乳牛而言仍不足。依據表 1，三個乳牛場飼糧之乾物質採食量相似，推測因採食量差異造成個別營養成分攝取之影響並不大。然考量營養分之實際供應量會因每頭牛每日實際攝取之乾物質採食量而有差異，將表 1 之數值轉換為三個乳牛場每日粗脂肪之實際攝取量，A、B 及 C 場牛群每日粗脂肪實際攝取量分別為 0.87、0.63 及 0.82 kg/d。A 場每日粗脂肪攝取量為 0.87 kg/d，顯著高於 B 與 C 場，其乳脂肪率亦為三場中最高 (4.23%) (表 5)。但其乳脂肪中以預製型脂肪酸的占比較高 (38.36%)，可能與選用之脂肪來源影響有關。A 與 B 場總乳之真蛋白質率間並無顯著差異 (3.24 與 3.22%)，可能與兩個乳牛場之 TMR 粗蛋白質含量相近有關 (15.68 及 15.61%)，同時根據 Clark *et al.* (1992)，乳真蛋白質率與瘤胃微生物蛋白產生及胺基酸可用性密切相關，推測兩場配方中瘤胃可降解蛋白質 (rumen degradable protein, RDP) 與瘤胃不可降解蛋白質 (rumen undegradable protein, RUP) 供應比例相似，有助於穩定乳蛋白合成效率，進而使乳中真蛋白表現無顯著差異。C 場 TMR 粗蛋白質含量僅 13.98%，其總乳之真蛋白質率亦為三個乳牛場最低 (3.06%)，除了可能與飼糧中蛋白質供應量及種類有關 (Santos *et al.*, 1998)，飼糧中適當之 peNDF 含量 20 – 23% (Mertens, 2002) 可有效提升瘤胃 pH 值 (Allen, 1997)，增加乳中脂肪及蛋白質量 (Caccamo *et al.*, 2014)。

新合成型脂肪酸主要來源為乳腺細胞利用乙酸與丁酸合成之脂肪酸，主要受到瘤胃發酵與 pH 值穩定性之影響。根據表 5 結果指出，B 場總乳之新合成型脂肪酸占乳脂肪之比例 (25.73%) 為三個乳牛場中最高，且 B 場 TMR 之 NDF 及 peNDF 顯著高於 A 及 C 場 (P < 0.05)，表 4 顯示其飼糧中長纖維較多，可能會造成牛群挑食，但 B 場每日餵飼頻率與推料較頻繁，有助於降低牛群挑食行為，因此有助於維持瘤胃健康與反芻行為，進而促進新合成型脂肪酸合成 (Allen, 1997)。然而，C 場 TMR 之 NDF 與 ADF 含量雖高，但 peNDF 較低 (18.91%)，說明可能與飼糧混切過細導致乾草比例雖高但物理有效性不足有關，導致瘤胃環境不穩定，使得新合成型脂肪酸比例較低 (23.54%)。

(Beauchemin and Rode, 1997)。換句話說，C 場飼糧纖維 NDF 高但利用率低，peNDF 低導致纖維快速通過瘤胃，降低 NDF 發酵率與乙酸產生量，進而影響乳脂肪率及乳脂肪酸組成。A 場之數值屬中間值 (23.38%)，其 TMR 組成高 NFC 與高脂肪含量，能快速提供能量，但可能引起瘤胃酸度下降，抑制新合成型脂肪酸合成。Fukumori *et al.* (2021) 指出，瘤胃 pH 值與乳中新合成型脂肪酸 (g /100 g FA) 呈現負相關。另外，三個乳牛場 TMR 之 peNDF 含量間具有顯著差異，且其芻料組成並不相同。B 場禾本科牧草只有燕麥草 (oat hay)，其水溶性碳水化合物含量可能與 A 及 C 場禾本科使用燕麥草與盤固草 (pangola hay) 不同。因此，結合芻料來源與不同牧草水溶性碳水等特性，並長期追蹤乳脂肪酸變化較能進行可靠的判斷。

預製型脂肪酸主要來源為飼糧中的長鏈脂肪酸或體脂肪動員。C 場總乳中 preformed 脂肪酸占乳脂肪之比例為三個乳牛場最高 (42.02%)，且其平均產乳量顯著高於其他兩個乳牛場，然而其 TMR 中粗蛋白質與 NFC 含量卻較低 (13.98 及 37.31%)，無法滿足牛群之營養需求，其中高產泌乳牛受到的影響可能較大，導致體脂肪動員所致 (Drackley, 1999; Drackley *et al.*, 2001)。C 場雖於每日兩次 TMR 餵飼前補充每頭約 2 kg 小麥乾草於高產泌乳牛群，雖可改善瘤胃環境但並非理想補充選項。A 場總乳中預製型脂肪酸占乳脂肪之比例最低 (38.36%)，其飼糧脂肪含量最高 (4.38%)，代表乳牛脂肪攝取來自飼糧而非體脂肪動員 (Grummer, 1991)，加上飼糧之 NFC 含量高 (44.56%)，提供足夠能量可避免體脂肪過度動員。B 場之數值屬中間值 (34.67%)，但其飼糧中粗脂肪含量最低 (2.91%)，可能與 B 場額外於 TMR 補充精料，提高能量濃度有關。於飼糧中提高粗脂肪含量能增加乳中預製型脂肪酸濃度 (Gallardo and Teixeira, 2023)。混合型脂肪酸的變動性同時受到日糧能量供應 (特別是脂肪來源) 與瘤胃發酵情況影響，相較於新合成型或預製型脂肪酸而言較為複雜。泌乳階段、胎次、乾物質採食量、脂肪來源與瘤胃發酵穩定性都會顯著改變混合型脂肪酸的比例 (Van Dang *et al.*, 2020)。本試驗中，總乳與個別乳中混合型脂肪酸趨勢之差異，可能因混合型脂肪酸一部分來自於乳腺細胞合成，另一部分則直接來自飼糧或血液長鏈脂肪酸吸收，而個別乳的數值保留了個體的變異性，使得三個乳牛場間出現顯著差異。

依據三個乳牛場於試驗期間總乳與個別牛乳之乳成分結果顯示 (表 5 與表 6)，總乳或個別牛乳成分在乳脂肪率、乳真蛋白質率、預製型脂肪酸之顯著差異具有一致性，惟新合成型脂肪酸與混合型脂肪酸含量受標準偏差的影響而導致顯著性排序不同，但整體趨勢是相同的，與 Woolpert *et al.* (2016) 指出總乳或是個別牛乳成分可用來作為乳牛場營養監控是一致的。總而言之，A 場 TMR 之粗蛋白質、粗脂肪及 NFC 含量，或總乳與個別牛乳樣中乳脂肪率及乳真蛋白質率，皆顯著高於其他乳牛場 ($P < 0.05$)。推測可能原因包括 TMR 屬高能量及高澱粉、RDP/RUP 組成平衡、脂肪來源較易吸收，以及牛群平均泌乳階段等生理與飼糧因素交互作用有關。其中，泌乳牛群於分娩後約第 8 個月進入泌乳末期，由於產乳量需求下降，乳脂肪率及乳蛋白質率會隨之升高 (Stanton *et al.*, 1992)。牛群於泌乳前 10 週其總乳中預製型脂肪酸含量皆高於新合成型及混合型脂肪酸，隨著泌乳期的增加總乳中預製型脂肪酸含量也隨之下降介於 1.30 – 1.50 (g/100 g milk)，而新合成型及混合型脂肪酸隨之上升，分別為介於 0.90 – 0.91 (g/100 g milk) 及 1.48 – 1.60 (g/100 g milk) (Barbano *et al.*, 2017)。飼糧配方與營養組成對於乳脂肪率的影響大於對乳蛋白質率，飼糧營養組成異動可能改變乳脂肪率約 0.1 – 1%，但僅改變乳蛋白質率約 0.1 – 0.4% (Park and Kim, 2014)。飼糧中 NFC 屬於容易被消化的部分，因此對於乳脂肪率及乳蛋白質率的影響頗重要。過量的 NFC 含量會降低纖維的消化率，降低乙酸鹽類的產生進而降低乳脂肪率，而同時增加乳蛋白質率約 0.2 – 0.3%，一般建議飼糧乾物質中 NFC 含量約占 32 – 38%，可最佳化乳中脂肪率及蛋白質率含量。A 場 TMR 中 NFC 含量為 44.56% (乾物質)，其新合成型脂肪酸占總脂肪含量顯著低於其他乳牛場 ($P < 0.05$)，此結果可能與飼糧中 NFC 含量影響纖維消化率，降低乙酸鹽類的產生有關。B 場 TMR 之有效中洗纖維含量 (23.38%)，或總乳與個別牛乳樣新合成型脂肪酸占總脂肪含量，皆顯著高於其他乳牛場 ($P < 0.05$)。此結果與 Woolpert *et al.* (2017) 結論一致，高新合成型脂肪酸乳牛場 (HDN)，其新合成型脂肪酸含量為 26.18 ± 0.94 g/100 g of FA；低新合成型脂肪酸 (LDN)，其新合成型脂肪酸含量為 24.19 ± 1.22 g/100 g of FA，試驗結果指出 HDN 場其飼糧中 peNDF 占乾物質含量顯著高於 LDN 場 (26.8% vs. 21.4%) ($P < 0.01$)。C 場針對高產乳牛於 TMR 餵飼前補充 2 kg 小麥乾草，雖其蛋白質含量低 (4.6%)，但可作為纖維來源對提升整體採食 peNDF 有所助益。表 4 顯示，C 場 TMR 之 peNDF 略低 (18.91%)，補充長纖維有助維持瘤胃 pH、促進反芻與乙酸生成。同時，表 5 數據也顯示乳脂肪率與新合成型脂肪酸表現雖略低但未異常下降，推測 C 場此舉有助於瘤胃穩定且避免乳脂肪下降。牛群飼糧中 peNDF 含量，對乳真蛋白質有顯著的影響。適當的飼糧 peNDF 含量或芻料和顆粒料分布，除可最佳化產乳量及乳成分組成，也可作為區域性或季節性芻料品質之依據 (Caccamo *et al.*, 2014)。

結 論

乳牛場泌乳牛群 TMR 之粗蛋白質、粗脂肪及 NFC 含量較高，則其總乳與個別牛乳樣中乳脂肪率及乳真蛋白質率會相對較高，但牛群結構如泌乳天數及胎次等因素仍需一併考量。飼糧中 NFC 含量高，會影響纖維消化率，降低乙酸鹽類的產生，進而使乳中新合成型脂肪酸占總脂肪含量下降。泌乳牛群飼糧中含有較高的 peNDF，其總乳與個別牛乳樣新合成型脂肪酸占總脂肪含量會顯著較高。乳脂肪酸組成具有作為泌乳牛飼糧營養監控指標之應用潛力，建議未來可進行長期追蹤，以觀察不同季節或日糧調整前後乳脂肪酸組成之變化趨勢，進一步釐清其與飼糧營養結構之關聯性。

誌 謝

試驗期間感謝配合乳牛場及中華民國乳業協會乳品檢驗室同仁，協助試驗樣品收集及分析。

參考文獻

- Allen, M. S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* 80: 1447-1462.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2012. *Official Methods of Analysis*. 19th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.
- Bailey, K. W., C. M. Jones, and A. J. Heinrichs. 2005. Economic returns to Holstein and Jersey farms under multiple component pricing. *J. Dairy Sci.* 88: 2269-2280.
- Barbano, D. M., C. Melilli, and T. R. Overton. 2014. Advanced use of FTIR spectra of milk for feeding and health management. Pages 105-113 in *Proc. Cornell Nutrition Conf.*, Syracuse, NY. Cornell University, Ithaca, NY.
- Barbano. 2017. Management practices, physically effective fiber, and ether extract are related to bulk tank milk de novo fatty acid concentration on Holstein dairy farms. *J. Dairy Sci.* 100: 5097-5106.
- Barbano, D. M., C. Melilli, H. Dann, and R. J. Grant. 2017. Infrared milk fatty acid analysis: Experience in the field for farm management. Pages 159-174 in *2017 Proc. Proceeding of the Cornell Nutrition Conference for feed manufacturers*. October 17 to 19, 2017. Syracuse, NY. Cornell.
- Beauchemin, K. A. and L. M. Rode. 1997. Minimum versus optimum concentrations of fiber: Effects on chewing activity, ruminal acidosis, and milk production. *J. Dairy Sci.* 80: 1463-1482.
- Caccamo, M., J. D. Ferguson, R. F. Veerkamp, I. Schadt, P. Petriglieri, G. Azzaro, A. Pozzebon, and G. Licitra. 2014. Association of total mixed ration particle fractions retained on the Penn State Particle Separator with milk, fat, and protein yield lactation curves at the cow level. *J. Dairy Sci.* 97: 2502-2511.
- Clark, J. H., T. H. Klusmeyer, and M. R. Cameron. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75: 2304-2323.
- Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci.* 82: 2259-2273.
- Drackley, J. K., A. D. Beaulieu, and J. P. Elliott. 2001. Responses of milk fat composition to dietary fat or nonstructural carbohydrates in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 84: 1231-1237.
- Fukumori, R., W. Shi, S. Oikawa, M. Oba. 2021. Evaluation of relationship between ruminal pH and the proportion of de novo fatty acids in milk. *JDS Commun.* 2: 123-126.
- Gallardo, W. B. and I. A. M. A. Teixeira. 2023. Associations between dietary fatty acid profile and milk fat production and composition in dairy cows: A meta-analysis. *Animals.* 132: 2063.
- Grummer, R. R. 1991. Impact of dietary fat supplementation on milk fat composition and de novo fatty acid synthesis. *J. Dairy Sci.* 74: 2545-2555.
- Harvatine, K. J., Y. R. Boisclair, and D. E. Bauman. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal* 3: 40-54.
- Harvatine, K. J. and D. E. Bauman. 2011. Update on mechanisms of diet-induced milk fat depression and potential

- applications. Cornell Nutrition Conf. Cornell University, Ithaca, NY.
- Heinrichs, A. J. and P. J. Kononoff. 2002. Evaluating particle size of forages and TMRs using the new Penn State Forage Particle Separator. Technical Bulletin, College of Agriculture Science, Cooperative Extension.
- ISO 15885 | IDF 184: 2002: Milkfat – Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography.
- Kmicikewycz, A. D., K. J. Harvatine, and A. J. Heinrichs. 2015. Effects of corn silage particle size, supplemental hay, and forage-toconcentrate ration on rumen pH, feed preference, and milk fat profile of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98: 4850-4868.
- Mertens, D. R. 1999. Measuring the Effectiveness of NDF and its Applications in Dairy Rations. USDA-ARS US Dairy Forage Research Center, Madison, WI. Proceeding of SW Nutrition Conf., Feb. 25-26, 1999. p. 91-111.
- Mertens, D. R. 2002. Determination of Starch in Large Particles. Ro-Tap Shaker Method. U.S. Dairy Forage Research Center, Madison, WI. (Rev. April 2002).
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Edition. National Academy Press, Washington DC.
- Palmquist, D. L., A. D. Beaulieu, and D. M. Barbano. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76: 1753-1771.
- Park, K. K. and C. H. Kim. 2014. Meta-analysis of factors affecting milk component yields in dairy cattle. *J. Ani. Sci. and Technol.* 56: 5.
- Pegolo, S., A. Cecchinato, J. Casellas, G. Conte, M. Mele, S. Schiavon, and G. Bittante. 2016. Genetic and environmental relationships of detailed milk fatty acids profile determined by gas chromatography in Brown Swiss cows. *J. Dairy Sci.* 99: 1315-1330.
- SAS. SAS User's guide: Basics, 2002 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- Stanton, T.L., L. R. Jones, R. W. Everett, and S. D. Kachman. 1992. Estimating milk, fat, and protein lactation curves with a test day model. *J. Dairy Sci.* 75: 1691-1700.
- Santos, F. A. P., E. E. Connor, R. L. Baldwin, and R. A. Erdman. 1998. Performance of dairy cows fed varying protein concentrations and forms. *J. Dairy Sci.* 81: 2526-2539.
- Schwarz, D., M. R. Bak, and P. W. Hansen. 2018. The new FOSS fatty acid origin package-Basics behind the prediction models. FOSS White Paper.
- Schwarz D. 2018. Fatty acid profiling according to origin for optimizing feeding and management of dairy cows – a new approach. FOSS White Paper. 9-10.
- Stoffel, C. M., P. M. Crump, and L. E. Armentano. 2015. Effect of dietary FA supplements, varying in FA composition, on milk fat secretion in dairy cattle fed diets supplemented to less than 3% total FA. *J. Dairy Sci.* 98: 431-442.
- Ungerfeld, E. M., N. L. Urrutia, C. Vásconez-Montúfar, and R. Morales. 2019. Factors associated with the content of mammary-synthesized fatty acids in milk fat: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 102: 4105-4117.
- Van Dang Q. C., K. Emilie, H. Jean-Luc, and I. Dufresne. 2020. Influence of days in milk and parity on milk and blood fatty acid concentrations, blood metabolites and hormones in early lactation Holstein cows. *Animals.* 10: 2081.
- Woolpert, M. E., H. M. Dann, K. W. Cotanch, C. Melilli, L. E. Chase, R. J. Grant, and D. M. Barbano. 2016. Management, nutrition, and lactation performance are related to bulk tank milk de novo fatty acid concentration on north-eastern US dairy farms. *J. Dairy Sci.* 99: 8486-8497.
- Woolpert, M. E., H. M. Dann, K. W. Cotanch, C. Melilli, L. E. Chase, R. J. Grant, and D. M. Barbano. 2017. Management practices, physically effective fiber, and ether extract are related to bulk tank milk de novo fatty acid concentration on Holstein dairy farms. *J. Dairy Sci.* 100: 5097-5106.

Study on the nutritional monitoring of lactating cow ration based on milk fatty acid composition ⁽¹⁾

Szu-Han Wang ⁽²⁾⁽⁴⁾ Chia-Xin Lee ⁽²⁾ Hsiao-Han Liao ⁽²⁾
Chun-Ta Chang ⁽³⁾ and Jen-Wen Shiau ⁽²⁾

Received: Jul. 23, 2025; Accepted: Oct. 13, 2025

Abstract

This study aimed to investigate the association among milk fat percentage, whey protein percentage, and the composition of three types of milk fatty acids (de novo, mixed, and preformed) with the nutritional composition of dairy cow rations. In addition, the study evaluated the feasibility of using milk fatty acid composition as indicators for nutritional monitoring in lactating dairy cows. Three dairy farms (Farms A, B, and C) located in Taoyuan and participating in the Dairy Herd Improvement (DHI) program were selected for this study. Data were collected once a month over a continuous 12-month period. The results showed that the total milk fat percentages for Farms A, B, and C were 4.23%, 3.89%, and 3.82%, respectively. In particular, Farm A showed a significantly higher milk fat percentage than Farms B and C ($P < 0.05$), while no significant difference was shown between Farms B and C. The whey protein percentages of three farms were 3.24%, 3.22%, and 3.06%, respectively, with Farm C being significantly lower than the others ($P < 0.05$). Regarding milk fatty acid composition, the proportion of de novo fatty acids (de novo FA) was highest in Farm B (25.73%), which was significantly higher than those of Farms A (23.38%) and C (23.54%) ($P < 0.05$). The proportion of mixed fatty acids (mixed FA) was also highest in Farm B (34.29%), and significantly higher than that of Farm C (29.85%) ($P < 0.05$). In contrast, the proportion of preformed fatty acids (performed FA) was highest in Farm C (42.02%), and significantly higher than those of Farms A (38.36%) and B (34.67%) ($P < 0.05$). Overall, the total milk samples and individual samples of milk fat percentage, whey protein percentage, and preformed fatty acid content were consistent in terms of significant difference. Nonetheless, the greater variance (standard deviation, SD) between de novo and mixed fatty acids in individual samples led to slightly different significance order of individual milk samples. These findings suggested that both total milk and individual milk samples were feasible for use in nutritional monitoring of dairy herds. Analysis of the total mixed ration (TMR) composition revealed a positive association between the levels of crude protein, crude fat, and non-fiber carbohydrates (NFC) in the diet, milk fat and whey protein percentages in total milk and individual milk samples. However, it is notwithstanding to take consideration of herd structure factors such as the impact of days in milk and parity may on milk composition and performance, when interpreting such data. Additionally, high dietary NFC content could inhibit fiber digestibility, reduce acetate production, and result in a lower proportion of de novo fatty acids in milk. In contrast, rations with higher levels of physically effective neutral detergent fiber (peNDF) were associated with a significantly higher proportion of de novo fatty acids in milk fat ($P < 0.05$), which may help enhance overall milk fat content. The results of this study suggest that the fatty acid composition of milk holds the potential as a nutritional monitoring indicator for lactating dairy cows. It is recommended to conduct long-term monitoring to evaluate changes in fatty acid profiles across different seasons or before and after the dietary adjustments, in order to clarify their relationship with feed nutritional composition further. A systematic approach to monitoring milk fatty acids can support precise ration formulation and herd health management, thereby enhancing feeding efficiency in dairy farm operations.

Key words: Lactating cow, Milk fatty acid, Ration, Nutritional monitoring.

(1) Contribution No. 2844 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Northern Region Branch, MOA-LRI, Miaoli 36843, Taiwan, R. O. C.

(3) Livestock Management Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: shwang@mail.tlri.gov.tw.

日糧中補充益生菌對泌乳羊於臺灣熱季乾物質採食量、泌乳量及乳成分之影響⁽¹⁾

鄭閔謙⁽²⁾ 王紓愍⁽²⁾ 潘昭治⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：113 年 12 月 18 日；接受日期：114 年 11 月 4 日

摘 要

氣候變遷會影響畜牧業永續發展，因為高溫會導致羊隻發生熱緊迫，進而降低乳羊生產效率，嚴重損害農民經濟收入。本研究目的旨在探討飼糧補充植物乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*) 與乾酪乳桿菌 (*Lactobacillus casei*) 對泌乳羊於臺灣熱季乾物質採食量、泌乳量及乳成分之影響。試驗為拉丁方格設計，將 9 頭努比亞山羊隨機分 3 個處理組，分別為盤固乾草組 (PGH)、盤固草添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 組 (PKT) 及百慕達乾草組 (BMH)。試驗週期為 21 天，包含 7 天試驗期，試驗重複 3 個週期。乳羊每日早晚餵飼與擠乳。試驗結果顯示，PKT 組之乾物質採食量顯著高於其他各組，然乳產量、乳成分 (乳脂肪、乳蛋白質、乳糖、無脂固形物、體細胞數、總固體及乳中尿素氮) 及血液成分於各組間並無顯著差異。雖然羊乳體細胞數於統計上並無顯著影響，但從數據發現，其可能有降低羊乳體細胞數之潛力。綜上所述，飼糧中添加益生菌可提高乳羊在夏季時之乾物質採食量，改善乳羊於夏季因熱緊迫造成乾物質採食量不足問題。

關鍵詞：乳羊、植物乳桿菌、乾酪乳桿菌。

緒 言

氣候變遷是影響畜牧永續發展主要威脅之一，特別在熱帶和亞熱帶國家 (Das *et al.*, 2016)。山羊不需額外增加代謝熱能產生之熱中性區 (thermoneutral zone) 約為 12 – 24°C。當環境溫度過高時，羊隻為維持體內熱平衡而啟動調節生理代謝機制，進入熱緊迫狀態 (Marai and Habeeb, 2010)。熱緊迫會影響山羊血液學、生理學和生化參數 (Ocak *et al.*, 2010; Phulia *et al.*, 2010; Alam *et al.*, 2011; Gupta and Monda, 2021)。同時也會對採食、生長、生產、繁殖產生負面影響，進而降低免疫力，使羊隻更容易生病，甚至死亡 (Rashamol *et al.*, 2018)。

臺灣地處亞熱帶與熱帶區域，近年熱季高溫屢創新高，山羊於夏季時常面臨熱緊迫風險。因此，除改善羊舍通風與增加降溫設備外，許多研究也指出可透過飼料添加物提高羊隻免疫與抗氧化能力來預防熱緊迫 (Xue *et al.*, 2022; Qiu *et al.*, 2023)。乳酸菌為革蘭氏陽性菌，通常被認為是益生菌代表菌種之一 (Fijan, 2014)，已被廣泛應用於單胃與反芻動物之飼料添加物 (Maragkoudakis *et al.*, 2010)。乳酸菌可改善胃腸環境，提高飼糧採食量與消化效率，且可在瘤胃中產生有機酸及抗菌肽進行抗菌作用 (Kim *et al.*, 2020)。另一方面，有許多研究指出乳酸菌細胞外分泌物具強烈抗氧化活性，可清除自由基，有抗發炎與抗氧化壓力能力 (Wu *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2020)。*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 除具上述乳酸菌功效之外，亦可在廣泛環境溫度與 pH 值範圍內生存，常被作為益生菌使用於飼料添加物。

盤固草為國內調製乾草用的主要牧草品種 (李等, 1999 年)，依據 112 年農業年報數據顯示，全國盤固草種植面積達 2,667 公頃，產量達 200,166 公噸 (農業年報, 2024 年)。百慕達草則為國內近年進口量最大的禾本科牧草 (Wang *et al.*, 2024)。盤固草與百慕達草為國內羊場重要之芻料來源，但兩者每公斤價差可高達 1 倍之多。如能藉由添加益生菌提高盤固草利用價值，將能替羊農節省大量飼養成本。因此本試驗目的為於熱季時在以盤固草為主之泌

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2845 號。

(2) 農業部畜產試驗所南區分所。

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

乳羊飼糧中添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*，探討對其採食量與泌乳性能之影響。

材料與方法

I. 乳酸菌來源與餵飼濃度

使用農業部畜產試驗所南區分所研發菌種，該菌種已技術移轉予生合生物科技股份有限公司所生產之商品 芯發旺®。該商品內容為 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*，配製後飼料之菌數為 1×10^8 CFU/g。每頭羊每天餵飼 0.8 公斤飼料。益生菌餵飼濃度參考前人研究設計，為每頭羊每天攝食約 8×10^{10} CFU (Stella *et al.*, 2007; Salvedia *et al.*, 2015)。

II. 動物及飼養

本試驗執行時間為 2017 年 8 至 11 月。地點位於農業部畜產試驗所南區分所恆春場區試驗羊舍，該處位於臺灣南部，屬於熱帶型氣候區域 (北緯：21°，東經：120°)。試驗期間最高溫平均為 33.8°C，累積降水量為 1132.0 mm (氣象局，2025)，其特徵為高溫與高濕。試驗計畫經農業部畜產試驗所南區分所實驗動物小組審查通過 (LRI IACUC：106001)。

試驗泌乳羊為 9 頭已分娩 2 至 3 胎之努比亞山羊，平均分娩後 60 ± 10 天，日泌乳量平均為 1.5 ± 0.2 kg，平均體重為 55 ± 5.0 kg。本試驗為拉丁方格輪替設計，將動物分成 3 個處理組，每個處理組 3 頭羊，試驗週期 21 天，包含 7 天試驗期，試驗重複 3 個週期。羊隻日糧給予乾草及精料分飼，處理組分別為盤固乾草日糧組 (PGH)、盤固乾草日糧添加益生菌組 (PKT)、百慕達乾草日糧組 (BMH)。山羊於每日上午 8:00 及下午 4:00 進行餵飼，飼料以限飼方式餵飼。確保飼料與益生菌會被完全採食。牧草則給予比每日採食量高約 10% 之餵飼量。早上餵飼前，先將前日剩餘草料清除，並秤重記錄，再餵飼經秤重記錄的乾草和飼料。草料與飼料依據 AOAC (2005) 方法測定水分含量，據以分析乾物質採食量。乳羊營養需求依據 NRC (2007) 標準，試驗配方如表 1 所示。試驗羊隻每日於早上與下午分別擠乳一次。

表 1. 試驗泌乳羊之日糧組成

Table 1. Composition of diets for dairy goats

Ingredients (of DM basis %)	Treatments		
	PGH	PKT	BMH
Composition			
Forage ¹			
Pangola hay	50	50	—
Bermuda hay	—	—	50
Concentrate			
Probiotics ³ (CFU/g)	—	10^8	—
Corn	36.6	36.6	36.6
Soybean meal	10.25	10.25	10.25
Calcium carbonate	0.95	0.95	0.95
Soybean oil	1.5	1.5	1.5
Salt	0.25	0.25	0.25
Vitamin premix ⁴	0.25	0.25	0.25
Mineral premix ⁵	0.20	0.20	0.20

PGH: pangola hay; PKT: pangola hay + probiotic; BMH: Bermuda hay.

¹ The forage is provided for *ad libitum*.

² Concentrates are offered on a restricted basis. Each goat is fed 0.8 kg of feed daily.

³ Probiotic: *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus casei*.

⁴ Vitamin premix contained per kg: 7,000,000 IU vitamin A, 200,000 vitamin D, 55,000 vitamin E.

⁵ Mineral premix contained per kg: 12.0 g Cu, 5 g Mn, 0.12 g Co, 16 g Zn, 1,200 mg I, 300 mg Se.

III. 羊乳產量與成分分析

試驗期第 14 天與第 21 天收集並記錄每頭試驗羊隻之羊乳。再取其中 50 mL 樣品，儲存 4°C 寄送至社團法人中華民國乳業協會檢驗組檢測。分析項目為乳脂率、蛋白質率、乳糖率、無脂固形物、總固形物、體細胞數、尿素氮。

IV. 血液生化分析

羊隻血液樣品在試驗期第 21 天時以頸靜脈採血方式收集至不含抗凝血劑之離心管中，在 2,500 × g 離心 20 分鐘收集血清，將其儲存於 -20°C 進行後續分析。血清中葡萄糖 (glucose)、尿素氮 (urea nitrogen, BUN)、尿酸 (uric acid, UA)、天門冬胺酸胺基轉移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 及丙胺酸轉胺酶 (alanine aminotransferase, ALT)、總蛋白 (total protein)、白蛋白 (albumin)、球蛋白 (globulin)、膽固醇 (cholesterol)、三酸甘油酯 (triglyceride) 由雲林健康醫事檢驗所使用 Hitachi 7150 血液分析儀測量 (Hitachi, Tokyo, Japan)。

V. 統計分析

試驗所得數據利用 SAS 套裝軟體進行統計分析 (SAS, 2018)，使用一般線性模式程序 (General linear model procedure, GLM) 進行變方分析，再以最小平方平均值法 (Least square means, LSMEANS) 計算並比較其差異顯著性。

結果與討論

飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 可顯著增加泌乳羊之乾物質採食量 (圖 1)。Paengkoum and Yong (2009) 在泰國研究指出，飼糧添加乳酸菌餵飼本地山羊與努比亞雜交山羊經 8 週後，可顯著提高其每日乾物質採食量。Khattab *et al.* (2020) 研究證明在埃及將母羊 (Barki sheep) 於分娩前 1 個月至分娩後 3 個月仔羊離乳前之期間給予益生菌補充，可顯著提高其乾物質採食量。乾物質攝取量取決於飼糧適口性、消化率與在胃腸道通過速率 (passage rate) (Melakua *et al.*, 2005)。乳酸菌可能是透過增加瘤胃發酵功能與纖維消化率而導致更高飼糧乾物質採食量 (Direkvandi *et al.*, 2021; Nasr and Abd-Alhalim, 2024)。

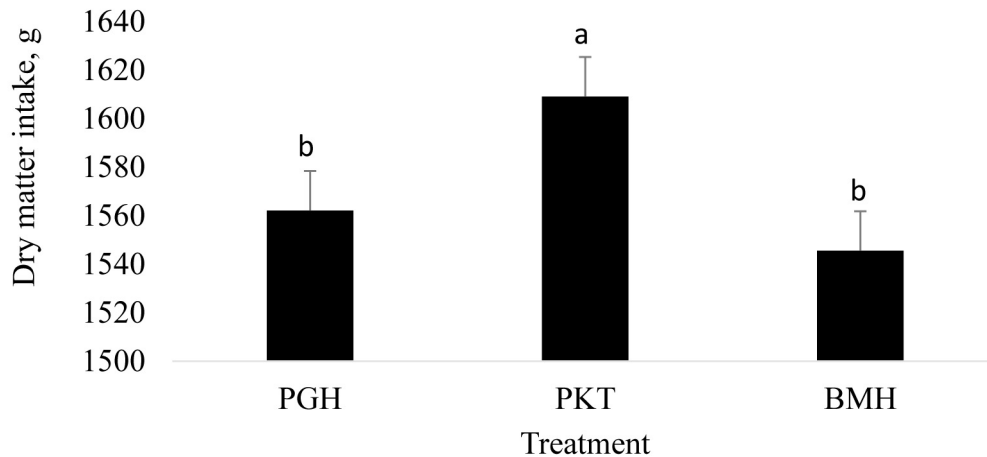


圖 1. 飼糧添加益生菌 (*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*) 對泌乳羊乾物質採食量之影響。

Fig. 1. Effect of dietary supplementation with probiotics (*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*) on dry matter intake in lactating goat.

PGH: pangola hay; PKT: pangola hay + probiotic; BMH: Bermuda hay.

餵飼不同飼糧對泌乳羊隻乳產量與乳成分之影響如表 2 所示。飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 對試驗羊隻之泌乳量無顯著影響。此結果與許多前人研究一致 (Griger-reverdin *et al.*, 1996; Salvedia *et al.*, 2017; Khattab *et al.*, 2020)。然而也有許多前人研究於飼糧中添加益生菌可提升乳羊之泌乳量 (Stella *et al.*, 2007; Salvedia *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019)。益生菌影響乳羊泌乳量可能取決於多種因素，例如動物本身狀況 (遺傳、身體狀況和年齡)、環境 (溫度、濕度或病原體)、日糧種類 (纖維、糖和蛋白質)、餵飼時間及動物對益生菌之反應 (Salvedia *et al.*, 2015)。目前益生菌影響乳羊泌乳量之詳細機制尚不清楚 (Kritis *et al.*, 2006)。上述研究顯示益生菌對泌乳山羊之

乳產量有顯著提升，其所添加菌種皆為酵母菌，本次研究所使用之乳酸菌屬可能對乳山羊之乳產量較無顯著影響。

飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 對試驗羊隻之乳脂肪、乳蛋白質、乳糖、無脂固形物、總固體及乳中尿素氮並無顯著影響。此結果與前人報告相同 (Fayaz *et al.*, 2019; Khattab *et al.*, 2020)，然而也有許多研究發現於乳羊日糧添加益生菌可改變其乳成分 (Maragkoudakis *et al.*, 2010; Salvedia *et al.*, 2015; Kholif *et al.*, 2017)。Salvedia *et al.* (2015) 指出日糧補充益生菌可提高乳脂肪、無脂固形物、乳糖生產量。Ma *et al.* (2019) 研究顯示增加瘤胃纖維消化率會導致瘤胃乙酸含量上升，進而提高乳汁脂肪比率。瘤胃中營養消化率增加同樣能增進乳汁之乳糖比率。Stella *et al.* (2007) 指出品種與飼糧配方對乳成分影響可能大過於益生菌添加。

表 2. 飼糧添加益生菌 (*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*) 對泌乳羊乳產量與乳成分之影響

Table 2. Effect of dietary supplementation with probiotics (*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*) on milk yield and composition in lactating goat

	PGH	PKT	BMH	SEM
Milk yield, kg	1.095	1.0775	1.16	0.182
Fat, %	5.86	5.46	4.98	0.62
Protein, %	4.08	4.32	4.19	0.24
Lactose, %	4.20	3.97	4.02	0.20
Solids not fat, %	8.99	8.99	8.90	0.21
Total solids, %	14.85	14.77	14.23	0.75
SCC, 1×10^4 /mL	227	138	272	97
MUN, mg/dL	23.68	24.02	24.92	1.49

PGH: pangola hay; PKT: pangola hay + probiotic; BMH: Bermuda hay.

SCC: Somatic cell count; MUN: milk urea N.

雖然統計上飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 於泌乳山羊乳汁體細胞數無顯著差異，但從試驗數據發現可能有降低乳汁體細胞數之潛力。Salvedia and Supangco (2017) 餵飼罹患臨床性乳房炎努比亞與撒能雜交乳山羊連續 8 週之乳酸菌，試驗結果發現可顯著降低羊乳體細胞數。Jarczak *et al.* (2014) 在波蘭研究指出，乳羊從懷孕前 1 週至泌乳期第 240 天期間餵飼益生菌，可顯著降低乳汁體細胞數。益生菌可能對動物抑菌影響有幾種機制，病原菌需透過其表面菌毛附著在腸壁上才能發揮有害作用，菌毛為凝集素蛋白質組成，用以識別並選擇性地與腸壁上特定寡糖受體位點結合。日糧中添加益生菌，可增加生物體內非致病細菌數量增加，益生菌可以產生「細菌素」來中和致病菌釋放的毒素及產生乳酸、過氧化氫等物質，以抑制病原性細菌生長 (Ryan *et al.*, 1999; Vandana *et al.*, 2013)。

飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 對試驗羊隻血液之葡萄糖、總蛋白質、尿素氮、天冬氨酸氨基轉移酶、丙氨酸轉氨酶及三酸甘油酯並無顯著影響 (表 3)，與前人研究結果一致，皆在乳羊血液正常範圍值內 (Stella *et al.*, 2007)。此說明飼糧添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 並不會影響天冬氨酸氨基轉移酶與丙氨酸轉氨酶等肝臟功能指標。Paengkoum and Yong (2009) 每天餵飼安格魯努比亞山羊 (Anglo Nubian) 相當於 5×10^{11} 至 2×10^{12} 之 *S. cerevisiae* 與 *Lactobacillus acidophilus* 混合會顯著增加血液尿素氮含量，Stella *et al.* (2007) 指出品種與飼糧配方對乳成分影響可能大過於益生菌添加，可能對血液影響效果雷同。

結 論

溫室效應導致氣候變遷，環境溫度異常升高似乎已是未來常見情況。飼糧中添加 *Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei* 可顯著提高泌乳羊於熱季時之乾物質採食量與降低乳汁體細胞數之潛力，對改善夏季熱緊迫有正面效果。

表 3. 飼糧添加益生菌 (*Lactobacillus plantarum* 與 *Lactobacillus casei*) 對泌乳羊血清成分之影響Table 3. Effect of dietary supplementation with probiotics (*Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*) on serum parameters in lactating goat

	PGH	PKT	BMH	SEM
GLU, mg/dl	48.2	47.2	45.3	4.70
BUN, mg/dl	13.2	13.2	14.4	1.86
UA, mg/dl	0.09	0.08	0.08	0.03
AST, U/L	73.4	74.9	82.7	9.35
ALT, U/L	16.1	14.6	17.1	1.98
TP, g/dl	6.26	6.08	5.86	0.55
ALB, g/dl	3.01	2.94	2.97	0.29
GLO, g/dl	3.24	3.13	2.89	0.30
CHOL, mg/dl	73.6	78.4	72.9	9.09
TG, mg/dl	13.8	12.0	11.3	2.32

GLU: glucose. BUN: urea nitrogen. UA: uric acid. AST: aspartate aminotransferase. ALT: alanine aminotransferase. TP: total protein. ALB: albumin. GLO: globulin. CHOL: cholesterol. TG: triacylglycerol.

參考文獻

- 中央氣象局。2025。墾丁氣象站。https://www.cwa.gov.tw。
- 農業部。2024。農業統計年報 (112 年)。https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx。
- 李春芳、陳吉斌、蕭宗法。1999。盤固草與百慕達草對荷蘭種泌乳牛飼養價值比較。畜產研究 31：353-364。
- Alam, M. M., M. A. Hashem, M. M. Rahman, M. M. Hossain, M. R. Haque, Z. Sobhan, and M. S. Islam. 2011. Effect of heat stress on behavior, physiological and blood parameters of goat. *Progress. Agric.* 22: 37-45.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18th edn. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Chen, K., Y. Liu, Y. Cheng, Q. Yan, C. Zhou, Z. He, J. Zeng, J. He, and Z. Tan. 2020. Supplementation of *Lactobacillus plantarum* or *Macleaya cordata* extract alleviates oxidative damage induced by weaning in the lower gut of young goats. *Animals*. 10: 548.
- Das, R., L. Sailo, N. Verma, P. Bharti, J. Saikia, and K. R. Imtiwati. 2016. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: a review. *Vet. World*. 9: 260-268.
- Direkvandi, E., T. Mohammadabadi, M. Dashtizadeh, O. Alqaisi, and A. Z. M. Salem. 2021. *Lactobacillus plantarum* as feed additive to improvement *in vitro* ruminal biofermentation and digestibility of some tropical tree leaves. *J. Appl. Microbiol.* 131: 2739-2747.
- Fayaz, A., R. A. Patoo, M. T. Banday, S. Rasool, and S. Adil. 2019. Effect of extra-concentrate and probiotics supplementation in periparturient goat on its milk composition and somatic cell count. *Indian J. Anim. Prod. Mgmt.* 35: 19-22.
- Fijan, S. 2014. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int. J. Env. Res. Pub. He.* 11: 4745-4767.
- Griger-reverdin, S., N. Bazault, D. Sauviant, and G. Bertin. 1996. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. *Anim. Feed Sci. Tech.* 63: 149-162.
- Gupta, M. and T. Monda. 2021. Heat stress and thermoregulatory responses of goats: a review. *Biol. Rhythm Res.* 52: 407-433.
- Jarczak, J., E. Kościuczuk, M. Ostrowska, P. Lisowski, N. Strzałkowska, A. Józwick, J. Krzyżewski, L. Zwierzchowski, D. Słoniewska, and E. Bagnicka. 2014. The effects of diet supplementation with yeast on the expression of selected immune system genes in the milk somatic cells of dairy goats. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 32: 41-53.

- Khatab, I. M., A. M. Abdel-Wahed, A. S. Khatab, U. Y. Anele, A. El-Keredy, and M. Zaher. 2020. Effect of dietary probiotics supplementation on intake and production performance of ewes fed atriplex hay-based diet. *Livest. Sci.* 237: 104065.
- Kholif, A. E., M. M. Abdo, U. Y. Anele, M. M. El-Sayed, and T. A. Morsy. 2017. *Saccharomyces cerevisiae* does not work synergistically with exogenous enzymes to enhance feed utilization, ruminal fermentation. *Livest. Sci.* 206: 17-23.
- Kim, H., J. S. Kim, Y. G. Kim, Y. Jeong, J. E. Kim, N.-S Paek, and C. H. Kang. 2020. Antioxidant and probiotic properties of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* of human origins. *Biotechnol. Bioproc. E.* 25: 421-430.
- Kritas, S. K., A. Govaris, G. Christodoulopoulos, and A. R. Burriel. 2006. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *J. Vet. Med. Ser.* 53: 170-173.
- Ma, D., Y. Zhao, S. Yu, H. Zhang, M. Cheng, H. Cao, Q. Li, and L. Min. 2019. CircRNA as CeRNA mediated by microRNA may be involved in goat lactation. *Small Rumin. Res.* 171: 63-72.
- Maragkoudakis, P. A., K. C. Mountzouris, C. Rosu, G. Zoumpopoulou, K. Papadimitriou, E. Dalaka, A. Hadjipetrou, G. Theofanous, G. P. Strozzi, and N. Carlini. 2010. Feed supplementation of *Lactobacillus plantarum* PCA 236 modulates gut microbiota and milk fatty acid composition in dairy goats-a preliminary study. *Int. J. Food Microbiol.* 141: 109-116.
- Marai, I. F. M. and A. A. M. Habeeb. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress-A review. *Livest. Sci.* 127: 89-109.
- Melakua, S., K. J. Petersb, A. Tegegnc. 2005. Intake, digestibility and passage rate in Menz sheep fed tef (*Eragrostis tef*) straw supplemented with dried leaves of selected multipurpose trees, their mixtures or wheat bran. *Small Ruminant Res.* 56: 139-149.
- Nasr, N. M and L. R. Abd-Alhalim. 2024. Characterization and identification of *Lactobacillus rhamnosus* and *Enterococcus durans* as probiotic potential isolated from selected dairy products in Egypt. *J. Umm Al-Qura Univ. Appl. Sci.* 10: 168-177.
- National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Research Council, National Academy of Science, Washington, DC.
- Ocak, S., M. K. Davran, and O. Güney. 2010. Small ruminant production in turkey: highlighting in goat production. *Trop. Anim. Health Pro.* 42: 155-159.
- Paengkoum, P. and H. Yong. 2009. Supplementation of probiotics on feed intake, digestibility and conjugated linoleic acid contents in plasma and meat of growing goats. *Agric. J.* 4: 231-241.
- Phulia, S. K., R. C. Upadhyay, S. K. Jindal, and R. P. Misra. 2010. Alteration in surface body temperature and physiological responses in Sirohi goats during day time in summer season. *Indian J. Anim. Sci.* 80: 340.
- Qiu, Y., H. Zhao, X. He, F. Zhu, F. Zhang, B. Liu, and Q. Liu. 2023. Effects of fermented feed of *pennisetum giganteum* on growth performance, oxidative stress, immunity and gastrointestinal microflora of Boer goats under thermal stress. *Front. Microbiol.* 13: 1030262.
- Rashamol, V. P., V. Sejian, M. Bagath, G. Krishnan, and R. Bhatta. 2018. Physiological adaptability of livestock to heat stress: an updated review. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 6: 62-71.
- Ryan, M. P., R. W. Jack, M. Josten, H. G. Sahl, G. Jung, R. P. Ross, and C. Hill. 1999. Extensive post-translational modification, including serine top-alanine conversion in the two-component antibiotic lactacin 3147. *J. Biol. Chem.* 274: 37544-37550.
- Salvedia, C. B., E. P. Supangco, R. S. A. Vega, F. B. Elegado, and A. A. Rayos. 2015. Effect of probiotic feeding on milk yield and components of crossbred dairy goats. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.* 41: 21-30.
- Salvedia, C. B. and E. P. Supangco. 2017. Influence of orally fed probiotics on the performance of crossbred lactating dairy goats. *Am. J. Agric. Sci.* 4: 69-73.
- SAS. 2018. SAS/ STAT® Version 9.2th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Stella, A.V., R. Paratte, L. Valnegri, G. Cigalino, G. Soncini, E. Chevaux, V. Dellorto, and G. Savoini. 2007. Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and fecal flora in early lactating dairy goats. *Small Rum. Res.* 67: 7-13.
- Vandana, R., Y. Brijesh, and G. P. Lakhani. 2013. Application of probiotic and prebiotic in animals production: a review. *Environ. Ecol.* 31: 873-876.

- Wang, S. H. H. H. Liao, C. X. Lee, H. M. Chen, L. Y. Chen, S. T. Chuang, J. T. Hsu. 2024. The effect of different forages on rumen microbiota and milk production performance in Holstein dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 69: 356-366.
- Wu, D., M. Z. Sun, C. Zhang, and Y. Xin. 2014. Antioxidant properties of *Lactobacillus* and its protecting effects to oxidative stress caco-2 cells. *J. Anim. Plant Sci.* 24: 1766-1771.
- Xue, L. G., D. Wang, F. Y. Zhang, and L. Y. Cai. 2022. Prophylactic feeding of *Clostridium butyricum* and *Saccharomyces cerevisiae* were advantageous in resisting the adverse effects of heat stress on rumen fermentation and growth performance of goats. *Animals.* 12: 2455.

Effect of dietary supplementation with probiotics on dry matter intake, milk yield and composition of dairy goats under the hot season in Taiwan ⁽¹⁾

Min-Chein Cheng ⁽²⁾ Su-Min Wang ⁽²⁾ and Chao-Chih Pan ^{(2) (3)}

Received: Dec. 18, 2024; Accepted: Nov. 4, 2025

Abstract

Climate change has significant impacts on the sustainable development of animal husbandry. Elevated temperatures can induce heat stress in goats, thereby reducing the production efficiency of dairy goats and adversely affecting farmers' economic income. The objective of this project was to investigate the effects of dietary supplementation with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* on dry matter intake, milk yield, and composition in dairy goats during the hot season in Taiwan. The experiment was designed as a Latin square and involved nine Nubian dairy goats that were randomly assigned to three treatment groups, namely hay (PGH), hay supplemented with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* (PKT), and Bermuda grass (BMH). The trial lasted for 21 days, including a 7-day testing period, and was repeated three times. The dairy goats were fed and milked twice daily. The results indicated that the dry matter intake of the PKT treatment group was significantly higher than that of the other groups. However, no significant effects were observed on milk yield, milk components (milk fat, milk protein, lactose, non-fat solids, total solids, and urea nitrogen in milk), and blood components. The somatic cell count of goat milk did not show significant effect statistically. However, the data suggested that probiotics may have the potential to reduce the somatic cell count. In summary, incorporating probiotics into the feed can enhance the dry matter intake of dairy goats during the summer, which effectively improves the inadequacy of dry matter intake for dairy goats due to heat stress.

Key words: Dairy goat, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*.

(1) Contribution No. 2845 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: ppncc@mail.tlri.gov.tw.

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).

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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

- 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）。
- 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。
- 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。
- 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）。
- 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 10^7 CFU/g feed，而 Y10 可達 10^8 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.

苜蓿與燕麥混植生產技術探討⁽¹⁾

陳嘉昇⁽²⁾⁽³⁾ 劉信宏⁽²⁾ 游翠凰⁽²⁾ 王紓愨⁽²⁾

收件日期：114 年 10 月 13 日；接受日期：114 年 12 月 10 日

摘 要

本研究旨在透過四個試驗，建立國內環境下燕麥與苜蓿的生產技術與栽培模式。試驗 1 評估改良密植播種機，並比較三種栽培模式：純植燕麥、苜蓿燕麥混植模式 AO-d (苜蓿撒播、燕麥條播)、苜蓿燕麥混植模式 AO-b (苜蓿撒播、燕麥撒播)。結果顯示，AO-d (燕麥條播) 因機械條播使植株分佈均勻度及穩定性較佳，進而使總產量更高，整體產量表現高於 AO-b (燕麥撒播)，而 AO-b 則因種間與種內競爭更劇烈，導致燕麥產量與純植差距較大，然其苜蓿比例較高，可達 40%。試驗 2 調查連續刈割下的產量與雜草變化，並增加純植苜蓿作對照。混植雖降低初期苜蓿產量，但透過燕麥補償使總產量提升，並加強了雜草抑制效果，其中 AO-d 的表現最穩定。試驗 3 進行純植燕麥、純植苜蓿及苜蓿燕麥混植的地方試作。純植燕麥首次收穫量較高，但後期再生產量下降且雜草比例升高；純植苜蓿對雜草的抑制更弱。相對之下，混植模式首期以燕麥為主，後期可再收穫 2 – 3 次苜蓿，全年產量較高且雜草控制效果佳。試驗 4 探討圓盤型與耙型割草機刈割純植燕麥及苜蓿燕麥混植對田間萎凋速率的影響。結果顯示，耙型割草機收穫之混植草乾燥速度最快，但四種處理在田間萎凋 72 小時後皆未達安全含水率，顯示在臺灣氣候下，田間萎凋速度緩慢，即使是最佳處理，萎凋 72 小時後仍未能達到安全含水率，故必須導入人工乾燥設備。綜合而言，燕麥 – 苜蓿單年混植模式可在有限土地上進行全年生產規劃，並提供高品質溫帶乾草，同時兼顧保育耕作、土地效益與經濟收益。

關鍵詞：苜蓿、燕麥、混植栽培、人工乾燥。

緒 言

燕麥、苜蓿及百慕達草並列為臺灣的三大進口乾草草種，其中，國產盤固草在乾草調製技術升級後，可以取代同為熱帶禾本科的百慕達草，而燕麥、苜蓿則尚有栽培及利基性等多項問題待克服。苜蓿為溫帶多年生豆科牧草，號稱牧草之后，唯在臺灣夏季高溫多濕環境下，主根系易因浸水而腐爛，經過夏季後嚴重缺株致雜草入侵，難以多年生牧草視之，需要經常性重新播種，而播種後初期生長速度慢，易致雜草入侵，尤其有機栽培更難控制，除試驗栽培及少量寵物草外，尚乏作為經濟動物芻料生產之紀錄 (陳等，2011；陳等，2025)。

燕麥在臺灣早期已有栽培經驗，1979 年臺灣大學由引進小穀類作物種原中選獲適合本土栽植的燕麥品系，登記為「台大選一號燕麥」(曾，1984；劉及曾，1984)，後因農地政策及進口乾草量增之故，2000 年後僅剩零星栽培 (黃及陳，2020)，國內歷來均做為青飼利用，並無乾草商品。近年進口乾草價格高漲且供貨不穩定，本土芻料的發展出現新契機，燕麥適於臺灣各地冬、春作栽培，融入不同地區耕作制度，配合調製技術的改善後，以燕麥乾草或半乾青貯取代進口乾草更值得期待，畜試所並已投入芻料燕麥新品種選育，加入國產芻料生產行列 (陳，2025)。

由於苜蓿初期生長速度慢，溫帶地區新植苜蓿時，為免於發生土壤侵蝕及抑制雜草，經常與伴隨作物一起播種，燕麥是最常與苜蓿一起播種的覆蓋作物，主要作為「護理作物」來幫助苜蓿的生長 (Undersander, 2007; Amal *et al.*, 2023; Wanal *et al.*, 2024)。苜蓿在國內雖難以成為多年生作物，而燕麥亦有季節侷限性，但若兩者能相輔相成，成為提升全年土地利用與收益的生產模式，將對國內芻料發展帶來新契機。苜蓿是國內無可替代的進口高價豆科乾草，而燕麥是進口價格最高的禾本科乾草，此外，苜蓿與燕麥等的混植尚具有減少化學氮素投入、主作物與雜草消長的生態意義 (Sleugh, *et al.*, 2000; Tilman, *et al.*, 2001; Tracy and Sanderson, 2004; Undersander, 2007; Amal *et al.*, 2023; Wanal *et al.*, 2024)。若能克服生產技術瓶頸應能提供充分誘因發展國內產業。

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2847 號。
(2) 農業部畜產試驗所南區分所。
(3) 通訊作者，E-mail: chencsg@mail.tlri.gov.tw。

配合國內氣候條件，理想的苜蓿與燕麥混植生產時序如下：11 – 12 月間燕麥與苜蓿同時播種，2 – 3 月先收穫一次燕麥，由於苜蓿根系已發展完成，後續生長勢強，可再連續收穫 2 – 3 次的苜蓿，至 7 月進入土地休閒或輪作。然這樣的生產模式包含混植方法、雜草控制、乾草調製等技術在國內尚未完備。本文由四個獨立試驗構成，一為改良密植播種機的測試，並探討混植方法對前期生產與競爭的影響；二為純植、混植模式連續刈割之芻料生產量與雜草消長；第三個部分之地方試作，以實際寵物草生產基地進行純植與混植模式生產之比較，尤著重於無化學藥劑及人工投入下之雜草控制；第四個部分探討刈割後的田間萎凋速度，做為產業應用或後續研發之參考。

材料與方法

I. 試驗 1：密植條播機應用測試

為發展小穀類芻料的栽培，南區分所設計訂製密植播種機一款，本密植條播機附掛於曳引機後端，寬 236 cm，可調整播種組間距，最密行距 15 cm，可同時播種 16 行（圖 1A）。本試驗以純植及二種混植模式測試密植條播機之應用，並進行不同模式下之生長性狀調查。

本試驗於 2017 年於畜產試驗所南區分所恆春場區（以下簡稱恆春場區）進行，播種日期 11 月 26 日。參試燕麥為黑燕麥 (*Avena strigosa*, Schber) 品系 Saia（以下試驗均同）。栽培處理計三種，分別為：純植燕麥 Oat、苜蓿燕麥混植模式 AO-d（苜蓿撒播、燕麥條播）、苜蓿燕麥混植模式 AO-b（苜蓿撒播、燕麥撒播）。每處理 3 重覆，小區面積 2.5 m × 20 m。模式 Oat 及 AO-d 之燕麥採條播方式種植，行距 15 公分，16 行區；模式 AO-b 之燕麥以背負式動力施肥機撒播，播種量 20 kg/ha；苜蓿於燕麥條播或撒播之後以背負式動力施肥機撒播，再以曳引機附掛滾筒鎮壓，播種量 10 kg/ha。播種前施予台肥 1 號複合肥料 200 kg/ha (N : P₂O₅ : K₂O = 20 : 5 : 10) 作為基肥，不施用追肥。於播種後 70、80、90 天調查鮮草產量、乾草產量及草種比例。調查方式：每小區內以 1 m² 樣框逢機取樣 2 次，分別稱燕麥及苜蓿之鮮、乾重，並估算公頃產量、總乾物量及苜蓿比例。乾重為 80°C 烘乾 48 h 之重量。

II. 試驗 2：純植與混植模式比較試驗

本試驗 2018 年於恆春場區進行，播種日期 11 月 2 日。試驗分兩區塊進行，一為化肥區，另一為有機肥區，兩區內之田間設計相同，兩區之間不進行比較。各區內之栽培模式計四種，分別為純植燕麥 Oat、混植模式 AO-d（苜蓿撒播、燕麥條播）、混植模式 AO-b（苜蓿撒播、燕麥撒播）及純植苜蓿 Alfa，每處理三重覆，小區面積 5 m × 20 m。各模式種植方式同試驗一，純植苜蓿亦以撒播種植，播種量 10 kg/ha，不進行人工除草。化肥區於播種前施予台肥 1 號 200 kg/ha 作為基肥，不施用追肥。有機肥區於播種前施予發酵後羊糞堆肥 4,000 kg/ha 作為基肥，不施用追肥。每兩周調查株高、雜草株數及覆蓋比例，12/13 及 1/23 進行收穫，調查鮮草產量、乾草產量及草種比例，刈割兩次後繼續雜草調查至 4/11 止。每小區內以 1 m² 樣框逢機取樣 2 次，估算產量與小區草種與比例。

III. 試驗 3：地方試作

本試作於 2018 年 11 月於恆春鎮進行（該場域為實際寵物草生產基地）。栽培模式分別為純植燕麥 Oat、混植模式 AO-d（苜蓿撒播、燕麥條播）、及純植苜蓿 Alfa，每處理 2 個田區，田區長介於 100 – 130 m，寬介於 10 – 30 m，種植方式同試驗二，苜蓿播種量 15 kg/ha，不進行人工除草。播種前施予台肥 1 號 200 kg/ha 做為基肥，收穫後施追肥乙次，肥料量減半。每兩周調查雜草株數及覆蓋比例；並於 1/23、3/1、4/25 進行三次收穫期調查，調查鮮草產量、乾草產量及草種比例。取樣方式為每田區內以 1 m² 取樣框逢機取樣 5 次以估算全區產量與比例等。

IV. 試驗 4：田間萎凋速率調查

本試驗於 2019 年 2 月於恆春場區進行，處理為二種種植模式（燕麥純植及燕麥 / 苜蓿混植），及二種刈割機械（圓盤型割草機及耙式調製型割草機），合計四種處理。燕麥純植及燕麥 / 苜蓿混植生產區各約 3,000 m²，於播種 97 天後之上午 8 時分別以圓盤型割草機（Disc mower, Lely classic-165，美國）與耙式調製型割草機（Flail type mower conditioner, Galfrè SPP-FR/D245，義大利）附掛於 Same Explorer 3 100 曳引機進行刈割，刈割後於田間萎凋，於第 2 天及第 4 天以相同之翻草機（Vicon haybob 300，挪威）各翻草一次。前 3 日於 9 時、13 時、17 時各取樣一次，第 4 天 9 時取樣後適逢下雨，於 13 時取樣一次後間隔 24 小時取樣一次，取樣調查至第 7 天為止。取樣方法為各區分別取樣 3 處，每處取 500 公克鮮草，經 80°C 烘乾 48 小時後測量乾重以計算乾物率。

V. 統計分析：

- (i) 試驗 1、3：調查資料以 SAS 軟體 (SAS, 2002) 進行處理之 GLM 單因子鄧肯氏測驗 (Duncan's test)。
- (ii) 試驗 2：化肥區與有機肥區調查資料各別以 SAS 軟體進行處理之平均值鄧肯氏測驗。
- (iii) 試驗 4：含水率數據以 SAS 軟體之 GLM Procedure 進行兩因子變方分析，主效應為栽培模式 (燕麥純植及混植) 及割草機機型 (圓盤型及耙式調製型)，各主效應均為固定型，以鄧肯氏測驗比較處理間的差異顯著性。

結果與討論

I. 試驗 1：密植條播機應用測試

試驗 1 目的為測試自行改良之密植條播機，及初步探討撒播、條播之混植播種操作與田間表現。本試區土質為偏鹼性砂質壤土，前作為多年未翻犁之多年生牧草，以迴轉犁整地後仍夾雜少量珊瑚礁碎屑，田區亦不如一般農作區平整，但除極小部分因覆土不良影響發芽外，密植條播發芽整齊度良好。混植模式中，條播燕麥組 (AO-d) 之燕麥密度與生長勢較為整齊，撒播燕麥組 (AO-b) 之燕麥則疏密較不一致 (圖 1C、D)。本機械表現符合預期，可供後續調整及應用參考。

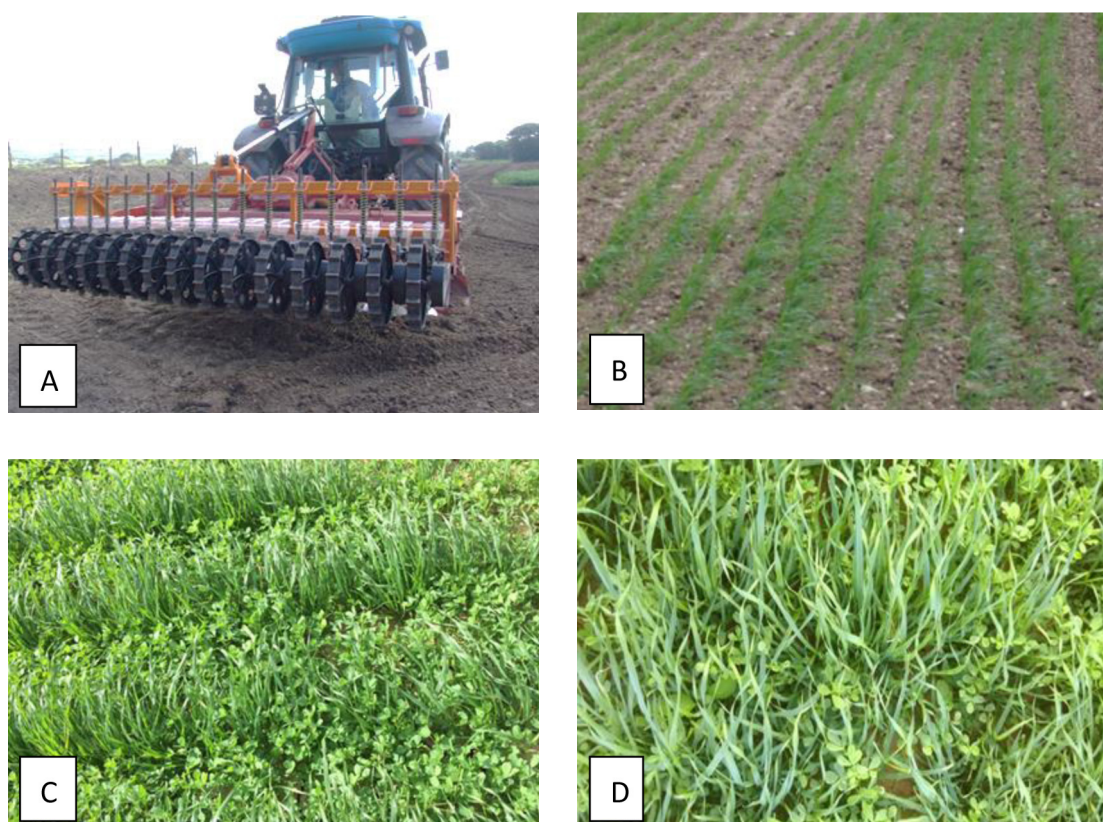


圖 1. 密植條播機及及各栽培模式之幼苗生長期狀況。A：密植條播機。B：燕麥條播 (模式 Oat)。C：苜蓿撒播、燕麥條播 (模式 AO-d)。D：苜蓿撒播、燕麥撒播 (模式 AO-b)。

Fig. 1. Dense seeding drill and seedling growth under different cultivation modes. Panels A–D show: (A) dense seeding drill; (B) oat row seeding (mode Oat); (C) mixed cropping, broadcast sowing alfalfa- drill sowing oat (mode AO-d); and (D) mixed cropping, broadcast sowing alfalfa- broadcast sowing oat (mode AO-b).

三種模式於 70、80、90 天之鮮草產量、乾草產量及豆科比例如表 1。70、80、及 90 天時，燕麥純植 (Oat) 之乾物重分別為 5.6、8.2、9.1 mt/ha；混植模式 AO-d 的總乾物重分別為 6.6、8.1、7.0 mt/ha；AO-b 的總乾物重分別為 5.0、4.7、5.6 mt/ha。燕麥初期生長勢快，純植燕麥至 90 天刈割時產量較高；苜蓿因初期生長較慢且產量較低，故以本試驗之單期收穫產量而言，70 及 80 天 Oat 及 AO-d 之總乾物產量沒有顯著差異，均大於 AO-b。90 天 Oat 顯著大於 AO-d 及 AO-b，而 AO-d 及 AO-b 沒有顯著差異。因 AO-d 中燕麥的產量較高之故，苜蓿產量則相反，AO-b 模式的豆科比例可達 4 成。

表 1. 試驗 1 之三種模式於 70、80、90 天之鮮、乾重產量及豆科比例

Table 1. Fresh and dry matter yields and legume proportion of three cultivation modes at 70, 80, and 90 days after sowing in Experiment 1

Days	Mode*	Fresh yield		Dry yield			Legume ratio
		Oat	Alfalfa	Oat	Alfalfa	Total	
		----- mt/ha -----					%
70	Oat	47.6 ^a	—	5.6 ^a	—	5.6 ^{ab}	—
	AO-d	42.9 ^a	7.6 ^b	5.6 ^a	1.0 ^b	6.6 ^a	15.2
	AO-b	22.2 ^b	12.1 ^a	2.9 ^b	2.1 ^a	5.0 ^b	42.0
80	Oat	42.7 ^a	—	8.2 ^a	—	8.2 ^a	—
	AO-d	35.3 ^b	3.2 ^b	7.3 ^a	0.8 ^b	8.1 ^a	9.9
	AO-b	13.6 ^c	6.2 ^a	2.8 ^b	1.9 ^a	4.7 ^b	40.4
90	Oat	45.4 ^a	—	9.1 ^a	—	9.1 ^a	—
	AO-d	24.4 ^b	2.7 ^b	6.2 ^b	0.8 ^b	7.0 ^b	11.4
	AO-b	11.0 ^c	5.7 ^a	3.3 ^c	2.3 ^a	5.6 ^b	41.1

* Oat, oat-monoculture; AO-d, mixed cropping, broadcast sowing alfalfa- drill sowing oat; AO-b, mixed cropping, broadcast sowing alfalfa- broadcast sowing oat.

^{a, b, c} Means in the same column within the same section with different superscripts are significantly different at 5%.

混植總產量與各別產量表現取決於成分作物間的競爭 (Springer *et al.* 2001; Aponte *et al.*, 2019; Jiao *et al.*, 2024; Zhu *et al.*, 2024)，穀粒用燕麥及芻料用燕麥在與苜蓿混植的競爭與角色有差異，穀粒用燕麥經常因競爭導致子實變小、產量降低 (Undersander, 2007)，芻料燕麥則無此狀況，芻料燕麥本身做為優良的牧草作物，做為苜蓿的陪伴或混植角色優於穀粒用燕麥 (Amal *et al.*, 2023)。在本試驗的兩種混植模式中，AO-d 中的燕麥較 AO-b 中的燕麥相較對苜蓿更具競爭優勢，與同為條播之純植燕麥產量並無太大差距，AO-b 可能兩者同為撒播，無空間區隔，而種子間距不一，甚至重疊，種間與種內的競爭更為劇烈，故燕麥產量與純植差距較大。與撒播苜蓿同時條播或撒播燕麥是可行的方式，前者燕麥產量較高，田間表現較穩定而後者之豆科比例較高、牧草品質較佳，但物種間競爭明顯且受操作影響，表現較不穩定。牧草收穫期因期望之產量、品質及品種而異，種植密度可依需要調整 (Haby *et al.*, 1999; Chocarro and Lloveras, 2014; Wanal *et al.*, 2024; Zhu, *et al.*, 2024)，本試驗之條播行距為 15 公分，未來可進一步依不同株型、生物量及期望收穫期等進行行距調整的探討。

II. 試驗 2：栽培模式之產量與雜草覆蓋率比較

本試驗除試驗 1 的三種模式外，另加入苜蓿純植 (Alfa) 模式，以比較混植與純植苜蓿之效益。試驗分化肥區與有機肥區進行，均未進行雜草防除，區內試驗設計相同，兩大區塊間僅肥料來源不同，未進行化肥區與有機肥區之比較。

四種模式經兩次刈割的總乾物產量方面，化肥區以 AO-d 最高，與 Oat 之差異不顯著，其次為 AO-b，最低為 Alfa 模式，分別為 8.4、7.4、6.7 及 3.7 mt/ha；有機肥區亦以 AO-d 最高，其次為 Oat 與 AO-b，最低為 Alfa 模式，分別為 9.2、7.9、6.0 及 3.9 mt/ha。苜蓿因初期生長較慢致產量較低，故兩次刈割總產量顯著低於純植燕麥與混植模式 (表 2)。

各別產量方面：燕麥，第一次刈割時化肥與有機肥區 Oat 與 AO-d 模式之燕麥產量接近，高於與 AO-b；第二次刈割有機肥區之表現趨勢亦同，化肥區則以 Oat 模式高於另二者；苜蓿產量方面，兩次的刈割均以純植模式 Alfa 高於混植。

四個模式雜草覆蓋率調查結果如表 3。在無雜草防除狀況之下，無論化肥區或有機肥區，苜蓿或燕麥純植試區內初期的雜草比例均高於混植區，顯見純植對雜草控制能力均低於混植模式，純植模式中，初期苜蓿之雜草比例高於燕麥純植，表示苜蓿的雜草控制力低於燕麥，然燕麥宿根之後雜草覆蓋比例大幅上升。苜蓿於初期因生長勢較慢，對雜草的控制力低，但連續刈割後雜草比例明顯降低。在不同的研究區域與間植模式下均顯示相似的研究結果 (Krstic *et al.*, 2018; Enesi *et al.*, 2025)。

表 2. 試驗 2 四種栽培模式的乾物產量

Table 2. Dry matter yield of four cultivation modes in Experiment 2

Fertilizer	Mode*	1 st harvest (12/13)		2 nd harvest (1/23)		Total
		Oat	Alfalfa	Oat	Alfalfa	
----- mt/ha -----						
Chemical	Alfa		1.2 ^a		2.5 ^a	3.7 ^c
	Oat	4.4 ^a		3.0 ^a		7.4 ^{ab}
	AO-d	4.3 ^a	0.4 ^b	2.0 ^b	1.7 ^b	8.4 ^a
	AO-b	3.1 ^b	0.2 ^b	2.2 ^b	1.2 ^b	6.7 ^b
Organic	Alfa		1.7 ^a		2.2 ^a	3.9 ^c
	Oat	4.7 ^a		3.2 ^a		7.9 ^{ab}
	AO-d	4.7 ^a	0.3 ^b	3.5 ^a	0.8 ^b	9.2 ^a
	AO-b	3.3 ^b	0.1 ^b	2.0 ^b	0.6 ^b	6.0 ^b

* Alfa, alfalfa-monoculture; Oat, oat-monoculture; AO-d, mixed cropping, broadcast sowing alfalfa - drill sowing oat; AO-b, mixed cropping, broadcast sowing alfalfa - broadcast sowing oat.

^{a, b, c} Means in the same column within the same section with different superscripts are significantly different at 5%.

表 3. 試驗 2 四種栽培模式的雜草覆蓋比例

Table 3. Weed coverage percentage of four cultivation modes in Experiment 2

Fertilizer	Mode*	Date					
		12/27	1/10	1/23	2/22	3/8	4/11
----- % -----							
Chemical	Alfa	24.3 ^a	38.7 ^a	22.1 ^a	30.8 ^a	13.5 ^b	14.4 ^b
	Oat	27.1 ^a	20.1 ^b	7.2 ^b	20.5 ^{ab}	42.6 ^a	45.7 ^a
	AO-d	18.2 ^{ab}	18.3 ^b	9.4 ^b	12.9 ^b	5.2 ^b	3.9 ^b
	AO-b	10.6 ^b	8.5 ^c	5.8 ^b	10.3 ^b	6.2 ^b	6.8 ^b
Organic	Alfa	39.9 ^a	25.0 ^a	17.8 ^a	23.7 ^a	2.7	6.1 ^b
	Oat	21.2 ^b	7.1 ^b	17.5 ^a	8.2 ^b	4.6	34.3 ^a
	AO-d	12.5 ^c	6.3 ^b	4.5 ^b	4.1 ^b	2.7	0.0 ^b
	AO-b	8.0 ^c	3.7 ^b	1.3 ^b	1.2 ^b	0.4	0.4 ^b

* the same as table 2.

^{a, b, c} Means in the same column within the same section with different superscripts are significantly different at 5%.

混植栽培的雜草控制能力較佳，而二混植模式間亦有差異。化肥區 AO-b 在 1/10 之雜草覆蓋率平均值顯著高於 AO-d (表 3)，其餘雖無顯著差異，但 AO-b 之標準偏差大都明顯高於 AO-d (圖 2)，如 AO-d 於 12/27、1/10 的標準偏差分別為 25.4、22.4%，數倍於 AO-d 的 6.2、4.3%。AO-b 模式取樣框之間雜草覆蓋率變異較大的原因，推測因撒播處理之均勻度與穩定性較差之故；而條播燕麥之雜草覆蓋比例雖與撒播者接近但取樣框之間機差小，推測以機械條播者因播種深度、密度與發芽均較一致，故結果較穩定。

由本結果可知苜蓿與燕麥與混植會降低前二期的苜蓿產量，但多獲得燕麥之產量，其中密植條播模式之總產量高於撒播；混植有助於雜草控制，而以密植條播之控制效果較穩定，雖各試驗小區之環境變異大，但初期雜草覆蓋若能控制在較低比率以下，刈割後雜草之控制狀況良好。

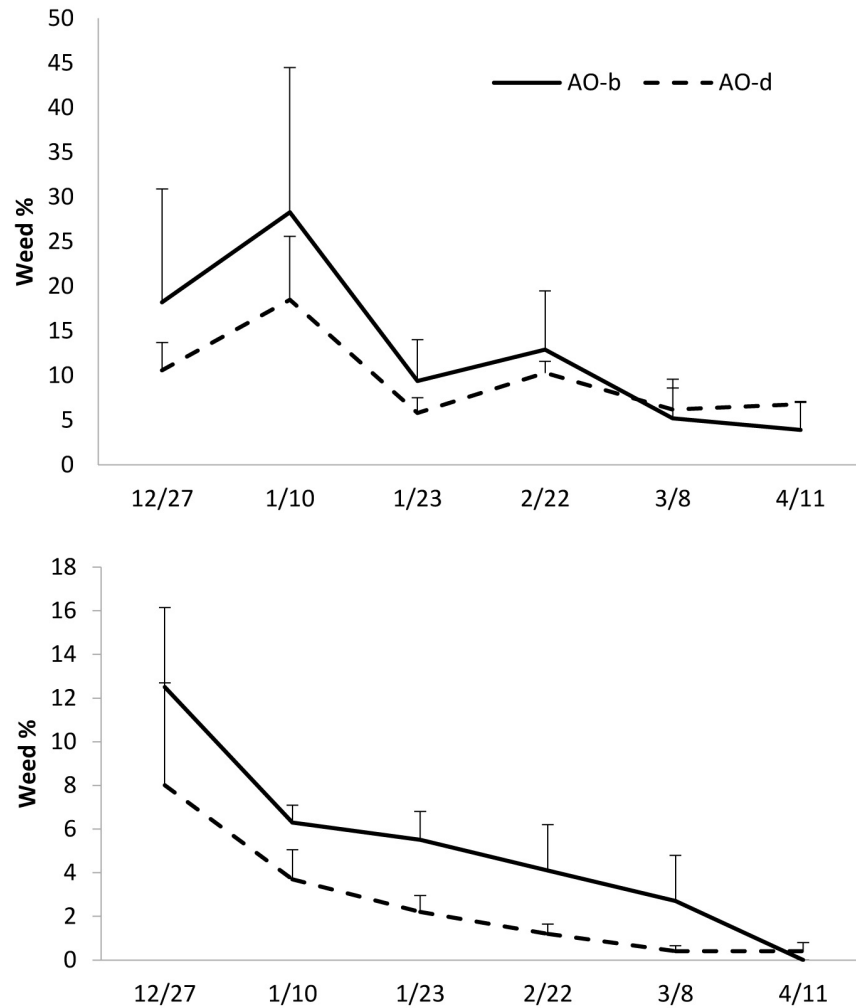


圖 2. 試驗 2 兩種混植栽培模式隨時間之雜草覆蓋比例。模式代號同表 2。上圖為化學肥料區，下圖為有機肥區。
Fig. 2. Temporal changes in weed coverage under two mixed cropping modes in Experiment 2. Mode codes are the same as in Table 2. Upper panel: chemical fertilizer treatment; lower panel: organic fertilizer treatment.

III. 試驗 3：地方試作

為驗證純植與混植之試驗結果，本研究續於恆春鎮牧草生產田區進行大面積試作。栽培模式分別為純植燕麥 Oat、混植模式 AO-d、及純植苜蓿 Alfa，每小區面積介於 2,000 – 3,000 m²，均不進行人工除草。

雜草覆蓋比例調查自 12/27 至 3/21 每 2 星期調查一次。苜蓿純植區第一次調查之雜草覆蓋比例 26.2%，之後降至 13.5%，第三次調查起均維持於 40% 以上，本模式在無人工除草之下經兩次刈割仍無法減少雜草比例，三次刈割 (4/25) 後即中止苜蓿生產 (圖 3)；燕麥純植區在第一次刈割之前有明顯抑制雜草數及面積之效果，由 12/27 之 12.9% 降至 1/23 的 6.5%，但由於宿根後再生力減弱，3/1 雜草覆蓋面積提高至 33.6%，因燕麥僅能宿根生產一次，之後不再進行雜草調查。混植模式 AO-d 由第一次調查起即有效抑制雜草之數量及面積，經兩次刈割後仍將雜草覆蓋控制於 10% 以下，且小區間標準偏差小於其他二者 (圖 3)。

產量方面，由 11 月中旬播種至 4/25 為止，三個模式的總乾物產量以 AO-d 之 14.45 mt/ha 最高，顯著高於 Oat 的 8.76 mt/ha 與 Alfa 的 6.45 mt/ha，其中 Oat 模式僅能宿根一次，所以僅記錄兩次的刈割產量。燕麥產量方面，混植區兩次的燕麥產量總和為 8.24 mt/ha，純植區為 8.76 mt/ha，兩者差異不顯著。苜蓿產量方面，混植區三次的苜蓿產量總和為 6.22 mt/ha，純植區為 6.45 mt/ha，差異亦不顯著，其中混植區第一次的苜蓿產量僅 0.06 mt/ha，然在第二割期時顯著提升至 3.40 mt/ha，顯著高於純植區的 2.52 mt/ha，第三割次則兩者接近 (表 4)。

由本調查結果，無化學藥劑與人工除草下，混植模式 AO-d 較具有可操作性。AO-d 模式第一次刈割時因苜蓿植株矮、生物量低，收穫幾乎全為燕麥；第二次收穫時燕麥產量大為降低，苜蓿比例遠高於燕麥；第三次收穫之後則全為苜蓿，在雨季影響苜蓿再生之前可再有兩次的收穫。對土地的全年利用而言，AO-d 為較具生產力且有利雜草控制的模式。純植燕麥模式的第一次燕麥收穫產量優於混植，但宿根後產量降低且雜草比例升高，

需再耕犁輪作其它春季作物。

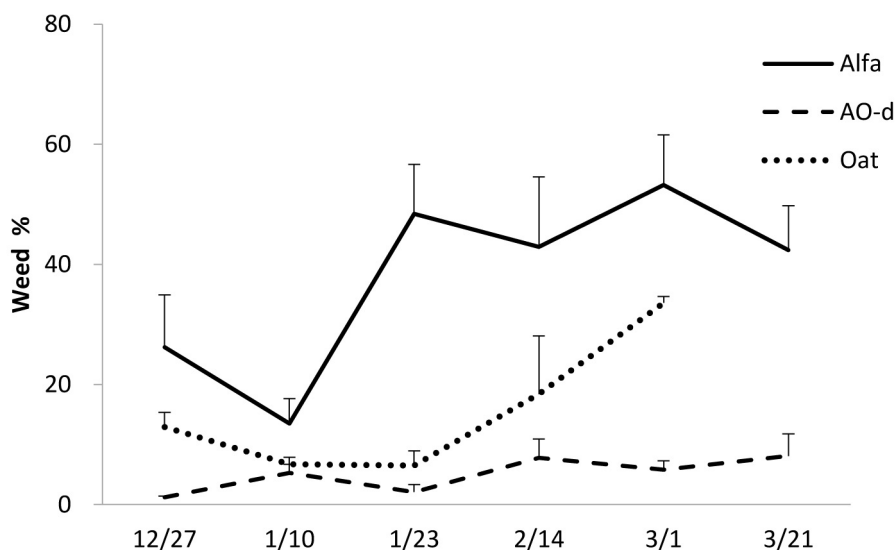


圖 3. 地方試作三種栽培模式之雜草覆蓋率調查。

Fig. 3. Weed coverage survey under three cultivation modes in local trials.

表 4. 地方試作三種栽培模式之乾物產量

Table 4. Dry matter yield of three cultivation modes in local trials

	Cut 1 (1/23)		Cut 2 (3/1)		Cut 3 (4/25)		Sum of three cuts		
	Alfalfa	Oat	Alfalfa	Oat	Alfalfa	Oat	Alfalfa	Oat	Total
----- mt/ha -----									
Alfa	1.07 ^a	—	2.52 ^b	—	2.86	—	6.45	—	6.45 ^b
AO-d	0.06 ^b	6.72	3.40 ^a	1.52	2.76	—	6.22	8.24	14.45 ^a
Oat	—	7.08	—	1.68	—	—	—	8.76	8.76 ^b

^{a, b} Means in the same column with different superscripts are significantly different at 5%.

IV. 試驗 4：田間萎凋速率調查

田間萎凋試驗分燕麥－圓盤型 (O-Disc)、燕麥－調製型 (O-Flail)、混植－圓盤型 (AO-Disc) 混植－調製型 (AO-Flail) 四種處理。田間萎凋期間之日均溫 20.0 – 24.6°C，最高溫 22.2 – 29.6°C，日均相對溼度 65 – 82%，日照時數 4.7 – 10.0 小時，刈割後的第 4 天 9 時降雨 22 mm。

各處理於田間萎凋之含水率變化如圖 4。刈割後第二天下午 (32 小時)，O-Disc、O-Flail、AO-Disc、AO-Flail 的含水率分別降至 44.0、40.0、34.1、27.8%，刈割後第三天下午 (56 小時) 分別降至 36.1、35.0、29.0、21.3%，AO-Flail 雖降低速度最快但仍尚未達可進行打包之安全含水率。刈割後第四天 9 時取樣後適逢下雨，15 時含水率分別升至 60.0、58.5、55.0、54.0%，至第七天才分別降至 35.5、25.0、20.0、18.9%，萎凋速率均低於盤固草 (朱等, 2017)。以耙型割草機刈割燕麥混植草之處理組田間乾燥速率最高，而以圓盤型刈割燕麥之處理組田間乾燥速率最低。

分計草種及割草機之效應，草種間之差異較大，機械間的差異較小，混植 (AO) 的含水率降低速度高於燕麥純植 (Oat)，差距約 10 – 15%，耙式調製型割草機 (Flail) 的含水率降低速度約高於圓盤型割草機 (Disc) 1 – 5% (表 5)。由結果知，燕麥純植或燕麥 / 苜蓿混植之田間乾燥速度慢，達到安全含水率較盤固草往後延遲，耙式調製型割草機雖可破壞角質層即折斷莖葉 (Charmley *et al.* 1999; Greenlees *et al.* 2000; Castagnara *et al.* 2012)，但加速蒸散效果仍有限，因此在本地環境下生產燕麥純植或燕麥 / 苜蓿混植乾草遇降雨之風險較盤固草為高，為順利調製乾草應需要後端人工乾燥的配合，在田間萎凋 1 – 2 天、含水率至 30% 以下之後輔以人工乾燥，盡可能節約能源成本下達安全含水率 (陳等, 2024; Rotz and Muck, 1994)，維持乾草品質。因燕麥及混植草莖葉較盤

固草粗，同乾燥機型及相同初始含水率下其乾燥成本略高於盤固草（未發表資料）。

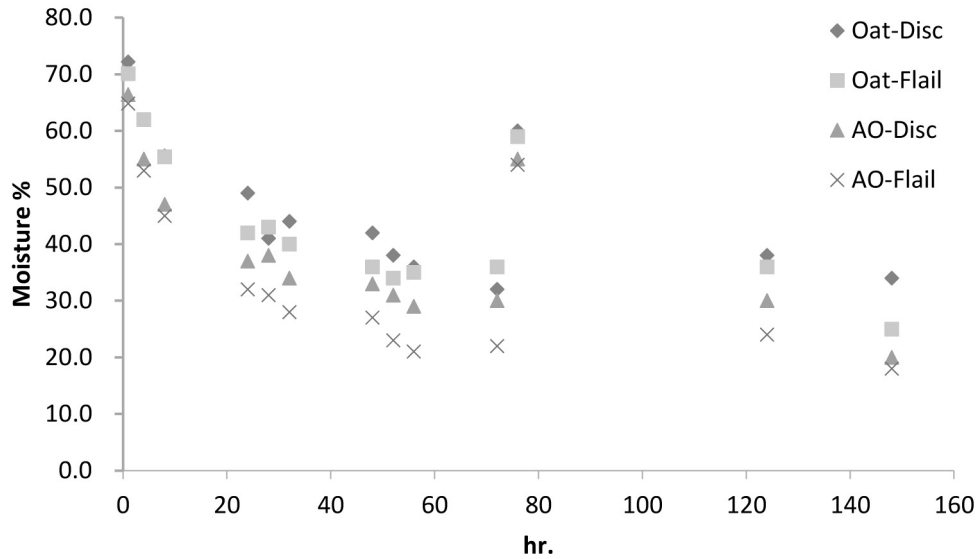


圖 4. 純植燕麥 (Oat) 及燕麥與苜蓿混植 (AO) 經圓盤型 (Disc) 及耙式調製型割草機 (Flail) 刈割後含水率之變動。

Fig. 4. Changes in moisture content of pure oat (Oat) and oat-alfalfa mixture (AO) after harvesting with disc and flail mower-conditioners.

表 5. 純植燕麥、燕麥苜蓿混植經圓盤型、耙式調製型割草機刈割後不同萎凋時數含水率差異之比較

Table 5. Comparison of moisture content differences among pure oat and oat-alfalfa mixture under different wilting durations after harvesting with disc and flail mower-conditioners

	8 h	32 h	56 h	72 h	76 h	124 h	148 h
----- % -----							
Mode							
Oat	55.3 ^a	42.0 ^a	35.5 ^a	34.0 ^a	29.5 ^b	37.4 ^a	30.2 ^a
AO	46.2 ^b	31.0 ^b	26.2 ^b	26.1 ^b	54.5 ^a	27.0 ^b	19.5 ^b
Mower							
Disc	51.2 ^a	39.0 ^a	32.5 ^a	30.9 ^a	57.5 ^a	34.3 ^a	27.7 ^a
Flail	50.4 ^a	33.9 ^b	28.2 ^b	29.1 ^b	56.5 ^a	30.1 ^b	22.0 ^b

^{a, b} Means in the same column within the same section with different superscripts are significantly different at 5%.

除極少量寵物用草外，國內目前仍缺乏燕麥乾草、苜蓿乾草及其混植乾草之生產，而兩者皆為國內草食動物業者之大宗需求。臺灣地處亞熱帶，生產上述溫帶牧草雖無環境優勢，但若能克服相關技術障礙，生產非完全不可及。本研究針對播種、雜草控制與乾草調製等環節進行探討，期望建立符合國內環境下燕麥與苜蓿生產模式。

芻料燕麥的收穫適期較寬，其差異主要體現在產量與品質表現上。臺灣各地冬季均可栽培燕麥，並可依不同氣候與期作長短，透過品種早熟性或調整收穫期來因應（朱等，2018；陳等，2021）。然而，乾草調製困難是國內缺乏燕麥乾草商品的主要原因，若以膠膜捆包方式進行半乾青貯，可降低天氣干擾（游等，2012；王及陳，2024），調製乾草則需要人工乾燥的輔助以穩定品質。

苜蓿在國內因夏季缺株問題，難以多年生牧草視之（陳等，2011；陳等，2025），而其前期生長速度慢又面臨雜草的競爭，故苜蓿在國內的生產障礙高於燕麥。本研究結果顯示，苜蓿與燕麥混植是國內具潛力的生產模式：密植條播機械有助於燕麥之密度與穩定性；而燕麥協助初期的雜草抑制，苜蓿協助田區的固氮，減少氮肥施用（王及陳，2013；Homas, 1995; Dhakal, *et al.*, 2020）。其收穫利用可規劃為：第一次收穫以燕麥為主，第二次為混合芻料，之後 2 - 3 次則以苜蓿生產為主，燕麥提供初期的禾本科粗纖維和能量；而後續的苜蓿收穫則

提供豆科的高品質高蛋白。這種分期收穫的規劃不僅提升了總產量，也提供了不同營養特性的產品，滿足多樣化的芻料需求。在有限面積下兼顧燕麥與苜蓿的生產，提升單一田區的芻料產出，是既能兼顧保育型耕作也能充分發揮土地效能、提升收益的生產模式。國內已開始應用牧草乾燥機械(陳等, 2024)，本栽培模式若配合人工乾燥調製，可生產國內草食動物需求的高品質溫帶乾草。

參考文獻

- 王紓愍、陳嘉昇。2013。豆科芻料的供氮能力研究 II：豆科植體的土中分解研究。畜產研究 46：1-10。
- 王紓愍、陳嘉昇。2024。以人工戳孔模擬破損探討半乾青貯膠膜包的保存問題。畜產研究 57：107-113。
- 朱明宏、張敏郎、劉信宏、游翠鳳、陳嘉昇。2017。耙式調製型割草機利用於盤固乾草生產之評估。畜產研究 50：78-85。
- 朱明宏、王紓愍、游翠鳳、陳嘉昇。2018。黑燕麥在不同收穫期之芻料產量、品質及青貯調製研究。畜產研究 51：16-23。
- 黃永芬、陳嘉昇。2020。燕麥。新編台灣雜糧作物。台灣雜糧發展基金會。pp. 106-139。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠鳳、劉信宏。2011。低投入的有機芻料生產研究—指草屬 (*Digitaria*) 與苜蓿 (*Medicago sativa*) 混植。畜產研究 44：37-49。
- 陳嘉昇、黃永芬、游翠鳳、王紓愍。2021。芻料燕麥營養成分變動之探討。畜產研究 54：116-125。
- 陳嘉昇、劉信宏、游翠鳳、王紓愍、謝禮丞。2024。圓包牧草乾燥機效能評估及與含水率、重量關係之探討。畜產研究 57：233-243。
- 陳嘉昇、王紓愍、游翠鳳、劉信宏。2025。盤固草地以不耕犁方式間植苜蓿之技術探討。畜產研究 58：135-144。
- 陳穎慧。2025。燕麥新品系 QION_15-43 命名審查資料。畜產試驗所南區分所。
- 游翠鳳、王紓愍、劉信宏、陳嘉昇。2012。青貯菌劑的篩選及對苜蓿半乾青貯品質的影響。畜產研究 45：209-216。
- 曾美倉。1984。燕麥。雜糧作物各論 I. 禾穀類，蔡文福。財團法人臺灣區雜糧發展基金會，臺北市，第 131-168 頁。
- 劉明宗、曾美倉。1984。燕麥臺大選一號週年栽培試驗。畜產研究 17：11-23。
- Amal, G., M. Wiem, M. Alessio, and B. Mounawer. 2023. Alfalfa (*Medicago sativa* L.)/ crops intercropping provides a feasible way to improve productivity under environmental constraints. JOASD 112023: 38.
- Aponte, A., D. Samarappuli, and M. T. Berti, 2019. Alfalfa-grass mixtures in comparison to grass and alfalfa monocultures. Agron. J. 111: 628-638.
- Castagnara, D. D., M. A Neres, P. S. R. D. Oliveira, C. C. Jobim, T. T. Três, E. E. Mesquita, and M. A. Zambom. 2012. Use of a conditioning unit at the haymaking of Tifton 85 overseeded with *Avena sativa* or *Lolium multiflorum*. R. Bras. Zootec. 41: 1353-1359.
- Charmley, E., P. Savoie, K. B. McRae, and X. Lu. 1999. Effect of maceration at mowing on silage conservation, voluntary intake, digestibility and growth rate of steers fed precision-chopped or round bale silages. Canadian J. Anim. Sci. 79: 195-202.
- Chocarro, C. and J. Lloveras. 2014. The effect of row spacing on alfalfa seed and forage production under irrigated Mediterranean agricultural conditions. Grass Forage Sci. 70: 651-660.
- Dhakal, M., C. P. West, C. Villalobos, P. Brown, and P. E. Green. 2020. Interseeding alfalfa into native grassland for enhanced yield and water use efficiency. Agron. J. 23: 1931-1942.
- Enesi, R. O., V. Mbanyele, L. Shaw, C. Holzappel, B. Nybo, L. Y. Gorim. 2025. Pea-oats intercropping: Agronomy and the benefits of including oats as a companion crop. Field Crops Research 326: 109863.
- Greenlees W. J., H. M. Hanna, K. J. Shinnars, S. J. Marley, and T. B. Bailey. 2000. A comparison of four mower conditioners on drying rate and leaf loss in alfalfa and grass. Appl. Eng. Ag. 16: 15-21.
- Haby V. A., J. V. Davis, and A. T. Leonard. 1999. Response of overseeded alfalfa and bermudagrass to alfalfa row spacing and nitrogen rat. Agron. J. 91: 902-910.
- Homas, R. J. 1995. Role of legumes in providing N for sustainable tropical pasture systems. Plant Soil. 174: 103-118.
- Jiao, Y., Q. Zhang, and F. Miao. 2024. Forage yield, competition, and economic indices of oat and common vetch intercrops

- in a semiarid region. *Front. Sustain. Food Syst.* 8: 1385296.
- Krstic, Dj., S. Vujic, A. Firanj, M. Danicic, and S. Orlandini. 2018. The establishment of alfalfa with field pea-oat mixture as a cover crop. *Proceedings of the second world alfalfa congress*. Pp. 199.
- Rotz, C. A. and R. E. Muck. 1994. Changes in forage quality during harvest and storage. In: *Forage quality, evaluation, and utilization*, Eds. G. C. Fahey, Jr. *et al.* Am. Soc. Agron., Madison, WI. pp. 828-868.
- SAS. 2002. SAS ver. 9.0. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary. N.C. USA.
- Sleugh, B., K. J. Moore, J. R. George, and E. C. Brummer. 2000. Binary legume – grass mixtures improve forage yield, quality, and seasonal distribution. *Agron. J.* 92: 24-29.
- Springer, T. L., G. E. Aiken, and R. W. McNew. 2001. Combining ability of binary mixtures of native, warm-season grasses and legumes. *Crop Sci.* 41: 818-823.
- Tilman, D., P. B. Reich, J. Knops, D. Wedin, T. Mielke, and C. Lehman. 2001. Diversity and productivity in long-term grassland experiment. *Sci.* 26: 843-845.
- Tracy, B. F. and M. A. Sanderson. 2004. Productivity and stability relationships in mowed pasture communities of varying species composition. *Crop Sci.* 44: 2180-2186.
- Undersander, D. 2007. Oats as a cover crop for alfalfa. *Forage Focus – DAIRY* <http://www.midwestforage.org/pdf/182.pdf>. pdf.
- Wana, D., M. Tamiru, and J. Wamatu. 2024. Effect of intercropping oats (*Avena sativa* L.) with alfalfa (*Medicago sativa*) on dry matter yield and nutritive value. *Austin J Plant Bio.* 10: 1053.
- Zhu, G., J. Liu, H. Wu, Y. Zhu, N. E. A. Nimir, and G. Zhou. 2024. The optimum mixed cropping ratio of oat and alfalfa enhanced plant growth, forage yield, and forage quality in saline soil. *Plants* 13: 3103.

Evaluation of production techniques for alfalfa–oat mixed cropping ⁽¹⁾

Chia-Sheng Chen ⁽²⁾⁽³⁾ Hsin-Hung Liu ⁽²⁾ Tsui-Huang Yu ⁽²⁾ and Shu-Min Wang ⁽²⁾

Received: Oct. 13, 2025; Accepted: Dec. 10, 2025

Abstract

This study aimed to develop production techniques and cultivation modes for oats and alfalfa under domestic conditions via four experiments. In Experiment 1, an improved dense-seeding drill was evaluated and three cultivation modes compared, namely sole oat (O), oat–alfalfa mixed sowing with drill seeding of oats and broadcast seeding of alfalfa (AO-d), and oat–alfalfa mixed sowing with both species broadcast (AO-b). Results showed that AO-d (oat drill seeding) had better plant distribution uniformity and stability due to mechanical row sowing, resulting in higher total yield and overall yield performance than AO-b (oat broadcast). However, due to more intense interspecific and intraspecific competition, AO-b had a larger difference in oat yield when compared to monoculture. Nonetheless, its alfalfa content was higher and reached to 40%. In Experiment 2, yields and weed dynamics across successive harvests were investigated, with sole alfalfa added as a control. The mixed modes initially reduced early alfalfa yield but the presence of oats compensated for this loss and enhanced weed suppression. In particular, AO-d exhibited the most stable performance. In Experiment 3, sole oats, sole alfalfa, and alfalfa–oat cultivation were conducted locally. Sole oats achieved higher yield at the first harvest but showed poor regrowth and increased weed proportion in subsequent cuts. Sole alfalfa exhibited even weaker weed suppression. In comparison, mixed systems produced an oat-dominated first harvest followed by two to three harvests of alfalfa, achieving higher annual yield and better weed control. In Experiment 4, the effects of disc-type and flail-type mowers for sole oats and alfalfa–oat mixed system on field wilting rates was analyzed. The results showed that the flail-type mower-conditioner and mixed cropping (AO) significantly accelerated the drying rate. However, the four treatments did not reach the safe moisture content in 72 hours after field wilting. This suggested that the wilting speed in the field was slow under the climate of Taiwan and even the optimal treatment could not reach the safe moisture content in 72 hours after wilting. This result indicated that supplemental artificial drying was mandatory. In summary, the oat–alfalfa annual mixed-cropping system enables year-round production planning on limited land, providing high-quality temperate hay while maintaining a balance among conservation farming, land-use efficiency, and economic returns.

Key words: Alfalfa, Oat, Mixed cropping, Artificial drying.

(1) Contribution No. 2847 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Southern Region Branch, MOA-TLRI, Pingtung 94644, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: chencsg@mail.tlri.gov.tw.

農業部畜產試驗所「畜產研究」稿約

(民國 94 年 3 月修訂)

(民國 108 年 12 月修訂)

(民國 111 年 11 月修訂)

(民國 112 年 8 月修訂)

- I. 本刊為學術性刊物，刊載有關畜產科學原創性研究報告及學術性專題論著。
- II. 本刊為季刊，每年 3 月、6 月、9 月及 12 月底出版。
- III. 文稿之排列順序為標題、摘要、緒言、材料與方法(學術性專題論著可略)、結果、討論(結果與討論可合為一節)、結論(可略)、誌謝(可略)及參考文獻。以中文撰寫者，須附英文摘要(Abtract)，以英文撰寫者，則附中文摘要。中英文摘要以不超過五百字為原則，須列中英文相對應之 3 至 6 個關鍵詞。
- IV. 文稿書寫格式，主要參考 Journal of Animal Science：
 - (i) 文稿請用 Word 檔 A4 紙張格式，內文以 12 號字型繕打，中文採新細明體，英文採 Times New Roman，圖表置於內文之後。行距採用行距 1.5，版面設定中等邊界(上下 2.54cm，左右 1.91cm)，並編碼連續行號。
 - (ii) 文字敘述之編號依序為 I、(i)、1、(1)、A、(a)。圖表以圖 1、表 1 等順序表示。中文稿件之圖表標題及圖說請中英並列，圖表內文字請以英文呈現。文字敘述用英文者，圖表中之文字僅用英文。
 - (iii) 本刊以黑白印刷為原則，圖表務求印刷後可清楚分辨標示，並請以電腦繪製，以利排版。
 - (iv) 單位及縮寫：
 1. 單位使用公制，習見之符號及縮寫不必另附中文。專門名詞無適當譯名者可從原文。
 2. 以下常用之縮寫可直接撰寫於本刊稿件不須另作定義：
 - (1) 長度：km、m、cm、mm、 μm 。
 - (2) 重量：kg、g、mg、 μg 。
 - (3) 體積：L、mL、 μL 。
 - (4) 時間：wk、d、h、min、s。
 - (5) 其他： $^{\circ}\text{C}$ 、pH、cal、rpm。
 - (v) 統計分析達顯著差異性請以 *、^a、^b、^c 等上標標示，並於表下方說明。
 - (vi) 參考文獻：
 1. 正文中須書出參考文獻之作者姓氏與年份：
 - (1) 西文文獻之作者僅一人者，書一人之姓如 (Johnson, 1991)；作者為二人者，書二人之姓如 (Johnson and Hobbs, 1991)；作者為三人或以上者，用第一人之姓後再書 *et al.* 如 (Johnson *et al.*, 1991)。
 - (2) 中文文獻之作者僅一人者，書一人之姓氏如 (趙, 1990)；作者為二人者，書二人之姓氏如 (趙及錢, 1990)；作者為三人或以上時，則於第一人姓氏後再加一等字如 (趙等, 1990)。
 2. 參考文獻列示以確經引用者為限，排列次序為作者、年份、題目、發表刊物名稱、卷數、頁數等依次書寫，例如：
 - (1) 期刊類
 - 王政騰、朱慶誠。1991。土番鴨繫留、電昏、放血、燙毛等屠宰條件之探討。畜產研究 24：133-140。
 - 胡怡浩、姜延年、陳銘正、潘金水。1991。北京鴨雜交品系與商業品系肉鴨之生長及屠體性能之比較。畜產研究 24：141-148。
 - Ayub, M. and M. Shoaib. 2009. Studies on fodder yield and quality of sorghum alone and in mixture with guara under different planting techniques. Pak. J. Agri. Sci. 46: 25-29.
 - Hsu, F. H., C. J. Nelson, and A. G. Matches. 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-

season forage grasses. *Crop Sci.* 25: 215-220.

(2) 書本類

朱純燕。2001。水禽類小病毒蛋白基因之分子選殖及抗原性分析。國立中山大學生物科學系，博士論文，高雄市。

李登元。1979。乳牛學。臺灣商務印書館，臺北市，第 300 - 322 頁。

American Oil Chemists Society (AOCS). 1980. Official and Tentative Methods of the American Oil chemists Society. 3rd ed. Am. Oil Chem. Soc., Champaign, IL, USA.

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.

Tai C. 1985. Duck breeding and artificial insemination in Taiwan. *Duck Production Science and World Practice*, pp. 193-203. University of New England, Armidale, Australia.

Wang, Y. C. 1985. Regrowth ability of Napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) in the dry, cold season in Taiwan. *Proceedings of the XV International Grassland Congress*, pp. 1239-1241. Kyoto, Japan.

(3) 其他類

農業部。2023。農業統計年報。 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。

農業部。2023。農業部農業資料統計查詢。 <http://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/maintenance/Announce.aspx>。

SAS. 2015. SAS/STAT® 14.1. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.

SPSS. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. SPSS Inc., Chicago, IL. USA.

3. 中日文獻以第一作者姓氏筆劃多少為序，西文以第一作者姓氏之拼音先後排列，並按中文、日文、西文之次序排列。
 4. 西文期刊名稱請用縮寫，縮寫請參照美國國家醫學圖書館線上資料庫 (NLM Catalog) 之 IOS (Information and documentation) 縮寫。
 5. 參考文獻皆不編號。
- V. 本刊編輯委員會保有修改與退稿之權利。稿件經本刊接受後，作者進行出刊校稿時，不得擅自更改內容及數據。
 - VI. 稿件經本刊委員會轉請專家審查，編輯委員會根據專家審查意見通知投稿人，是否接受刊載，或須修改後始可刊載。本刊無提供稿費。
 - VII. 稿件經本刊接受後，該稿件之全部或部份，不得投稿其他刊物，以不同語文投稿其他刊物亦所不許。本刊具專屬版權，刊登權屬發行單位畜產試驗所所有，非經本所書面同意，不得轉載或轉移他處發表。如有上述情事，相關法律責任由作者自負，本刊有拒絕接受其投稿之權利。
 - VIII. 自民國 93 年開始實施之計畫，其論文如涉及使用脊椎動物進行科學應用計畫者，請撰稿者檢附該計畫經所屬機構動物實驗管理小組審議認可之文件。

JOURNAL OF TAIWAN LIVESTOCK RESEARCH

Vol. 59 No. 2

June 2026

CONTENTS

	Page
1. Study on forage quality and ensiling treatments of oat at different maturity stages <i>Chien-Fu Liu, Shu-Min Wang, and Ming-Hung Chu</i>	107
2. The association analyses between hatchability of fertilized eggs and candidate genes in red-feather country chicken <i>Chia-Te Chu, Yung-Yu Lai, Hsueh-Chi Teng, Tsung-Lin Liu, Ming-Che Wu, Hsiu-Luan Chang, Jenn-Rong Yang, and Der-Yuh Lin</i>	120
3. Effects of different preservatives and storage conditions on the stability of individual colony counts tested by automatic bacteria analyzer in raw milk samples <i>Yueh-Tung Chen, Ming-Kuew Yang, Yi-Hsin Yeh, Yi-Hsuan Chen, and Po-An Tu</i>	131
4. A Study on the effects and application potential of pangolagrass biochar addition on the silage quality of forage oats <i>Shu-Min Wang, Jian-Fu Liu, and Chia-Sheng Chen</i>	143
5. Innovation of a diet for Lanyu Pigs at reproductive stage <i>Yi-Long Chen, Sheng-Yang Wu, Shun-Yao Yang, Shih-Hsin Lee, and Chia-Chieh Chang</i>	154
6. Evaluation of low crude protein diets on the growth performance and greenhouse gas emissions of crossbred native chickens during the late rearing period <i>Yen-Ling Lee, Ching-Chi Hung, Pei-Jun Huang, Liang-Yuan Wei, and Chin-Wei Chang</i>	166
7. Evaluating the Economic Impact of Automated and Traditional Diesel TMR Feeding Systems on Dairy Farm Operations <i>Yi-Hsuan Chen, Yih-Min Shy, Yueh-Tung Chen, Ming-Kuew Yang, Jen-Wen Shiau, Ming-Ya Huang, and Po-An Tu</i>	174
8. Study of induced pluripotent stem cell lines from muscovy ducks for applications in waterfowl parvovirus vaccine production <i>Jenn-Fa Liou, Yu-Hsin Chen, Chao-Hung Chiang, and Fung-Hsiang Chu</i>	187
9. The effect of different crude protein levels in feed on greenhouse gas emissions in Holstein Lactating Cows <i>Geng-Jen Fan, Chun-Ta Chang, Jing-You Lai, Jia-Rong Lee, Hu-Wen Hung, Yi-Hui Hsieh, Jih-Tay Hsu, and Mei-Ping Cheng</i>	197
10. Establishment of a mixed intercropping system of sunn hemp and pangolagrass <i>Li-Chung Tsai, Shyh-Rong Chang, Tzu-Rung Li, and Jeng-Bin Lin</i>	209
11. Review of enzymatic treatment on the properties of edible packaging materials and the impact on food preservation <i>Chi-Huai Huang, Ruei-Han Yeh, Ling-Tsai Wu, and Ching-Yun Kuo</i>	220
12. Study on the nutritional monitoring of lactating cow ration based on milk fatty acid composition <i>Szu-Han Wang, Chia-Xin Lee, Hsiao-Han Liao, Chun-Ta Chang, and Jen-Wen Shiau</i>	235
13. Effect of dietary supplementation with probiotics on dry matter intake, milk yield and composition of dairy goats under the hot season in Taiwan <i>Min-Chein Cheng, Su-Min Wang, and Chao-Chih Pan</i>	245
14. Effects of two-stage feather meal-soybean meal fermented product on the carcass traits and fatty acid composition of finishing pigs <i>Hsien-Juang Huang, Cheng-Yung Lin, Chin-Bin Hsu, and Kuo-Lung Chen</i>	253
15. Evaluation of production techniques for alfalfa-oat mixed cropping <i>Chia-Sheng Chen, Hsin-Hung Liu, Tsui-Huang Yu, and Shu-Min Wang</i>	266

行政院新聞局出版事業登記證
局版台省誌字第六七七號
執登記為雜誌交寄

ISSN 0253-9209
DOI: 10.6991/JTLR



9 770253 920004

GPN: 2005200015
定價：新臺幣二〇〇元