

利用納豆菌生產動物用發酵飼料

林銘傑、王正仁

E-mail: 9608168@mail.dyu.edu.tw

摘要

大豆粕富含蛋白質，是最有經濟效益的飼料原料，但因含抗營養成分而使其營養價值與使用受到限制。另外，歐盟等國家又陸續禁用飼料添加抗生素，使飼料業與飼養戶的經營受到衝擊。納豆菌能夠提升家畜的免疫力，有益生菌效果，且能分泌多種水解酵素，具有很強的發酵能力，是取代抗生素的最佳選擇，惟市售添加用的納豆菌產品價格昂貴，無法廣泛應用，因此若能以納豆菌發酵便宜的大豆粕，當可降解其中的抗營養因子，提升營養價值，並使其含高量的納豆菌孢子數而增加保健效果及降低飼養成本。本研究利用固態發酵方法配合納豆菌發酵大豆粕以生產動物用發酵飼料，可有效提高發酵飼料中所含的納豆菌孢子數。以接種量0.1%的市售納豆菌菌粉進行發酵接種，於發酵第24小時即可獲得109 CFU/g的孢子數。大豆粕的含水量愈高，納豆菌生長愈快，但氨氮產生愈早，且氨氮產量愈高；發酵溫度愈高，納豆菌生長遲滯期愈短，生長速率愈快，但孢子產率卻降低；進行翻堆或濕度控制，雖然可以改善發酵，幫助納豆菌生長，但會使孢子數量減少；有滅菌處理的大豆粕經發酵後雖然產生的氨氮較少，但孢子數也較少。添加麩皮於大豆粕，可以有效提高納豆菌生長及孢子數，但卻會提高氨氮的產生；而添加玉米粕，雖可提高最後產品的菌數，但對孢子生成則無明顯幫助。於室溫進行發酵時，當大豆粕的含水量為0.8時，只需24小時發酵時間，即可產出含 3×10^8 CFU/g的納豆菌孢子數及少量氨氮（0.05%）的發酵大豆粕；而以含水量0.6的條件發酵28小時，則可得 3×10^8 CFU/g的孢子數以及少量的氨氮（0.02%），即使發酵至32小時，孢子數也可達109 CFU/g，且只有少量氨氮（0.03%）產生。對一般農民及中小飼料業的經營，納豆菌發酵大豆粕的最佳操作條件是以不需滅菌處理之大豆粕為原料，添加之水量比例為0.6，接種菌為市售納豆菌孢子粉，接種量為0.1%，於37℃中進行發酵20小時，發酵成熟之大豆粕即能含有109 CFU/g的納豆菌孢子及少量的氨氮（0.06%）。

關鍵詞：固態發酵；大豆粕；納豆菌；孢子；氨氮；發酵飼料

目錄

1. 緒言.....	1	2. 文獻討論.....	2	2.1 動物飼料.....	2	2.2 大豆.....	2
2.3 大豆粕.....	3	2.3.1 大豆粕的製造過程.....	4	2.3.2 大豆粕於飼料中的應用.....	4	2.3.3 大豆粕中的抗營養因子.....	5
2.3.4 大豆粕的發酵.....	5	2.4 納豆菌.....	6	2.4.1 納豆菌與微生物間的關係.....	7	2.4.2 飼料中添加納豆菌的益處.....	8
2.4.3 納豆菌的介紹.....	8	2.4.4 納豆菌應具有的特性.....	9	2.4.5 納豆菌作用機制.....	10	2.4.6 納豆菌的保存.....	10
2.4.7 腸道菌相與動物間的關係.....	11	2.5 納豆菌於消化系統中的好處.....	11	3. 材料與方法.....	12	3.1 實驗材料.....	12
3.1.1 大豆粕.....	12	3.1.2 玉米粕、麩皮.....	12	3.1.3 納豆菌.....	12	3.2 儀器設備.....	12
3.2.1 儀器.....	13	3.2.2 器具與耗材.....	13	3.3 培養基.....	13	3.4 藥品.....	14
3.5 試藥配製.....	14	3.6 實驗方法.....	15	3.6.1 大豆粕發酵實驗.....	15	3.6.2 影響大豆粕發酵的變數.....	15
3.7 分析方法.....	16	3.7.1 納豆菌之總菌數分析方法.....	16	3.7.2 納豆菌之孢子數分析方法.....	17	3.7.3 氨態氮分析方法.....	17
4. 結果與討論.....	19	4.1 以搖瓶液態發酵進行大豆粕發酵之可行性試驗.....	19	4.2 納豆菌接種量對大豆粕發酵的影響.....	19	4.2.1 納豆菌接種量對氨氮產量的影響.....	20
4.2.2 納豆菌接種量對納豆菌產孢的影響.....	21	4.3 發酵溫度與含水量對大豆粕發酵的影響.....	22	4.3.1 在室溫發酵下含水量對大豆粕發酵的影響.....	22	4.3.1.1 對氨氮產量的影響.....	23
4.3.1.2 對納豆菌產孢的影響.....	23	4.3.2 在37℃發酵下含水量對大豆粕發酵的影響.....	24	4.3.2.1 對氨氮產量的影響.....	24	4.3.2.2 對納豆菌產孢的影響.....	25
4.3.3 在40℃發酵下含水量對氨氮產量的影響.....	25	4.3.3.1 對氨氮產量的影響.....	26	4.3.3.2 對納豆菌產孢的影響.....	26	4.3.4 在45℃發酵下含水量對大豆粕發酵的影響.....	27
4.3.4.1 對氨氮產量的影響.....	27	4.3.4.2 對納豆菌產孢的影響.....	27	4.4 大豆粕滅菌處理對大豆粕發酵的影響.....	28	4.4.1 在37℃發酵下含水量對大豆粕發酵的影響.....	28
4.4.1.1 對氨氮產量的影響.....	29	4.4.1.2 對總菌數的影響.....	29	4.4.1.3 對納豆菌產孢的影響.....	30	4.4.2 在大豆粕滅菌處理下發酵溫度及含水量對發酵的影響.....	31
4.4.2.1 對氨氮產量的影響.....	32	4.4.2.2 對總菌數的影響.....	32	4.4.2.3 對納豆菌產孢的影響.....	33	4.5 翻堆處理對大豆粕發酵的影響.....	33
4.5.1 對氨氮產量的影響.....	34	4.5.2 對總菌數的影響.....	34	4.5.3 對納豆菌產孢的影響.....	34	4.6 濕度控制對大豆粕發酵的影響.....	35
4.6.1 對氨氮產量的影響.....	35	4.6.2 對總菌數的影響.....	35	4.6.3 對			

納豆菌產孢的影響.....	36	4.7 添加麩皮及玉米粕對大豆粕發酵的影響.....	36	4.7.1 添加麩皮對大豆粕發酵的影響.....	36
4.7.1.1 對氮產量的影響.....	37	4.7.1.2 對納豆菌產孢的影響.....	37	4.7.1.3 大豆粕及麩皮一起滅菌處理對氮產量的影響.....	38
4.7.1.4 大豆粕及麩皮一起滅菌處理對總菌數的影響.....	38	4.7.1.5 大豆粕及麩皮一起滅菌處理對納豆菌產孢的影響.....	38	4.7.2 添加玉米粕對大豆粕發酵的影響.....	38
4.7.2.1 對氮產量的影響.....	39	4.7.2.2 對納豆菌產孢的影響.....	39	4.7.2.3 大豆粕及玉米粕一起滅菌處理對氮產量的影響.....	40
4.7.2.4 大豆粕及玉米粕一起滅菌處理對總菌數的影響.....	40	4.7.2.5 大豆粕及玉米粕一起滅菌處理對納豆菌產孢的影響.....	40	4.8 大豆粕發酵飼料放大生產試驗.....	41
4.8.1 氮產量.....	41	4.8.2 納豆菌產孢能力試驗.....	41	5. 結論.....	42
參考文獻.....	84				

參考文獻

1. 方維倫。1990。應用微生物(上)。復文書局,台南市。
2. 呂向東、劉春田。1997。野生動物的營養與飼料。台灣省立鳳凰谷鳥園,台灣。
3. 陳世爵、陳潤卿。1981。黃豆油與黃豆食品手冊,台灣。
4. 黃卓志、辛志勳、張文重。1977。納豆菌之研究納豆菌培養條件之檢討。屏東農專學報。18:69-75。
5. 楊清白、吳樂民、吳春利。1986。飼料與營養。國立編譯館,台灣。
6. 詹惠雯。2005。利用 *Aspergillus oryzae* 固態發酵處理大豆粕以去除寡醣暨致過敏蛋白之研究。國立中興大學食品科學系碩士論文,台中市。
7. 鄭長義。1988。飼料圖鑑與品質管制。華香園出版社,台北市。
8. 鄭長義。1991。飼料製造技術。華香園出版社。台北市。
9. 顏宏達。1988。養豬飼料學。華香園出版社。台北市。
10. Barnes, E. M., Mead, G. C. and Barnum, D. A. 1972. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to anaerobic bacteria. *Br. Poult. Sci.* 13: 611-626.
11. Barratt, M.E., Strachan, P.J. and Porter, P. 1979. Immunologically mediated nutritional disturbances associated with soya-protein antigens. *Proc. Nutr. Soc.* 38:143-150.
12. Dunsford, B.R., Knabe, D.A. and Haensly, W.E. 1989. Effect of dietary soybean meal on the microscopic anatomy of the small intestine in the early-weaned pig. *J. Anim. Sci.* 67:1855-1863.
13. Freitas, M., Tavan, E. Cayuela, C. Diop, L. Sapin, C. and Trugnan, G. 2003. Host-pathogens cross-talk. Indigenous bacteria and probiotics also play the game. *Biol. Cell.* 95:503-506.
14. Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378.
15. Fuller, R. 1992. Probiotics: The Scientific Basis. Chapman and Hall, London.
16. Havenaar, R., Brink, B. T. and Huis, J. H. J. 1992. Selection of strains for probiotics use. In: R, Fuller. (Ed.). Probiotics: The Scientific Basis. P.209-222. Chapman and Hall, London.
17. Hong, K. J., Lee, C. H. and Kim, S. W. 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *J Med Food.* 4:430-435.
18. Hosoi, T., Ametani, A., Kiuchi, K. and Kaminogawa, S. 2000. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase, or subtilisin. *Can. J. Microbiol.* 46:892-497.
19. Hsu, A. and Allee, G. L. 1980. Limiting order of amino acids in alfalfa leaf protein concentrate. Abstracts, 72nd Annual Meeting, American Society of Animal Science. P.205.
20. Inooka, S. and Kimura, M. 1983. The Effect of *Bacillus natto* in Feed on the Sheep Red Blood Cell Antibody Response in Chickens. *Avian Dis.* 27:1086-89
21. Kiers, J.L., Meijer, J.C., Nout, M.J.R., Rombouts, F.M., Nabuurs, M.J.A. and van der Meulen, J. 2003. Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets. *J. Appl. Microbiol.* 95:545-552.
22. Komatsuzaki, T., Ohkuro, M. K. and Kuriyama, S. 1979. The difference in unspecifically immunizing effects among strains of natto bacilli. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 99:343-345
23. Liener, I. E. 1981. Factors affecting the nutritional quality of soya products. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 58:406-415.
24. Liener, I. E. 1994. Implication of antinutritional components in soybean foods. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 34:31-67.
25. Lilly, D. M., and Stillwell, R. H. 1965. Probiotic: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 174: 747-748.
26. Liu, K. 1999. Soybeans : chemistry, technology, and utilization. Chapman and Hall, United States, P.25-411.
27. Mateos, G. G. and Lazaro, R. 2004. Whole soybeans in pigs' diets. American soybean association. P.12.
28. Murata, H., Yaguchi, H. S. and Namioka, S. 1977. Effects of administration of *Bacillus natto* upon weaning piglets. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.* 30:645-649
29. New, M. 1976. A review of shrimp and prawn nutrition. *Aquaculture.* 9: 277-285
30. O' Sullivan, M. G., Thornton, G., G. Osullivan, C. and Collins, J. K. 1992. Probiotic bacteria: myth or reality. *Trends food technol.* 3: 309-314.
31. Odunfa, S.A. 1986. Dawadawa. In:Reddy, N.R., Pierson, M.D. and Salunkhe, D.K. (Eds.), *Legume-based Fermented Foods.* CRC Press, Boca Raton, FL, USA, P.173-189.
32. Olguin, M. C., Hisano, N., D' Ottavio, A. E., Zingale, M. I., Revelant, G. C. and Calderari, S. A. 2003. Nutritional and antinutritional aspects of an Argentinian soy flour assessed on weanling rats. *Journal of Food Compo Anal.* 16:441-449.
33. Osawa, O. and Matsumoto, K. 1997. Digestion of staphylococcal enterotoxin by *Bacillus natto*. *Antonie Van Leeuwenhoek,* 71:307-311.
34. Ozawa, K., Yokota, H., Kimura, M. and Mitsuoka, T. 1981. Effect of administration of *Bacillus subtilis* strain BN on intestinal flora of weanling piglets. *Jpn. J. Vet. Sci.* 43:771-775.
35. Parker, R. B. 1974. Probiotic, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health.* 29:4-8.
36. Rambaud, J. C., Bouhnik, Y., Marteau, P. and Pochart, P. 1993. Manipulation of the human gut microflora. *Proc. Nutr. Sci.* 52: 357-366.
37. Sato, T., Yamada, Y., Ohtani, Y., Mitsui, N., Murasawa, H. and Araki, S. 2001. Production of menaquinone-7 (vitamin K2) by *Bacillus subtilis*. *J. Biosci. Bioeng.* 91:16-20.
38. Schwab, C. G. 1995. Protected proteins and amino acids for ruminants. In: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding.* VCH. New York, United States, P.115.
39. Smith, H. W. 1965. The development of the flora of the alimentary tract in young animals. *J. Pathol. Bacteriol.* 90: 495-513.
40. Smith, J., Clawson, JR. A.J. and Barrick, E.R. 1976. Effect of ratio of protein from corn and soybean meal in diets of varying total protein on performance, carcass desirability and diet digestibility in swine. *J. Anim. Sci.* 26:752-758.
41. Sperti, G. S. 1971. Probiotics. West Point, CT: Avi Publishing Co.
42. Sumi, H. 1997. Antibacterial Activity of Bacil inhibition against *Escherichia coli* O157. *Bioindustry.* 14:47.
43. UNEP, 1999. " Agri Food Production; Facts and

Figures ” . UNEP Industry and Environment, P.4-31. 44. USDA, 2003. “ Oilseeds: World Markets and Trades ” . Circular series FOP 02-03 Foreign Agricultural Service. U.S. Department of Agriculture. 45. Zani, J.L., Weykamp da Cruz, F., Freitas dos Santos, A. and Gil-Turnes, C. 1998. Effect of probiotic CenBiot on the control of diarrhea and feed efficiency in pigs. J. Appl. Microbiol. 84: 68-71.