

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

建立商業纖維分解酵素於反芻動物營養應用價值之評估方法

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2313-B-002-383-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學畜產學系暨研究所

計畫主持人：徐濟泰

計畫參與人員：張依瑄 王翰聰

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 30 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果報告
 期中進度報告

建立商業纖維分解酵素於反芻動物營養應用價值之評估方法

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫
計畫編號：NSC 91-2313-B-002-383-
執行期間：91年08月01日至92年07月31日

計畫主持人：徐濟泰
共同主持人：
計畫參與人員：張依瑄、王翰聰

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：國立台灣大學畜產學系

中 華 民 國 92 年 10 月 30 日

中文摘要

本研究計畫，以各兩種不同成熟度的禾本科狼尾草與豆科苜蓿以及一種玉米青貯等五種芻料當為測試纖維分解對象，再收集自餵飼高芻料或高精料乾乳牛瘤胃液，分別進行四種市售商業纖維分解酵素產品單獨或不同組合之試管消化試驗，同時分析各酵素產品之不溶性纖維素與半纖維素分解酵素、 α -L- arabinofuranosidase、feruloyl esterase 活性，以及分析在試管內與瘤胃液組合後之 cellulase、xylanase、 α -L- arabinofuranosidase、feruloyl esterase 個別酵素總活性以及試管消化率。Hemicell 是四種市售商業酵素中 cellulase、hemicellulase 與 feruloyl esterase 活性均最強。Selfeed 與 Bio-act 兩種商品酵素活性，以 cellulase 與 hemicellulase 為主。VP-100 則是以 hemicellulase 與 α -L-arabinofuranosidase 為主。置於餵飼高芻料乾乳牛瘤胃液中，四種市售商業酵素均能顯著提昇 cellulase 與 feruloyl esterase 活性表現，只有 Hemicell 與 VP-100 可顯著提昇 hemicellulase 活性表現，只有 VP-100 可顯著提昇 α -L-arabinofuranosidase 活性表現。四種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花狼尾草與玉米青貯的消化率，只有 VP-100 顯著提昇開花狼尾草 48 小時試管乾物質消化率，而 VP-100、Selfeed、Bio-act 均顯著提昇開花苜蓿消化率。置於餵飼高精料乾乳牛瘤胃液中，四種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花苜蓿的消化率。Bio-act 除外的其他三種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花狼尾草的消化率。只有 Hemicell 與 Selfeed 顯著提升開花狼尾草與開花苜蓿在高精料瘤胃液的消化率，可能是因為 Hemicell 與 Selfeed 適合作用的 pH 是如同餵飼高精料的偏酸性的條件，而 VP-100 可能需要高 pH 值，所以在高精料瘤胃液中無法顯著改善開花的老化牧草消化率。高精料瘤胃液中，再進行玉米青貯試管消化率測定，pH 偏酸性的問題更嚴重，四種市售商業纖維分解酵素均無法提升其消化率。

關鍵詞：苜蓿、狼尾草、玉米青貯、商業纖維分解酵素、試管乾物質消化率

Abstract

Ruminal fluids from dry dairy cows fed high forage (70% forage) or high concentrate (70% concentrate) diets were used to represent two ruminal conditions for testing cellulase、xylanase、 α -L- arabinofuranosidase、feruloyl esterase activities of four kinds of commercial fibrolytic enzyme products and their potential to improve in vitro dry matter digestibility of pre-bloom and blooming alfalfa, pre-bloom and blooming napier grass and corn silage. Hemicell showed the highest cellulase、hemicellulase and feruloyl esterase activities among four tested commercial enzyme products. Selfeed and Bio-act mainly showed higher cellulase and hemicellulase activities. VP-100 had higher hemicellulase and α -L-arabinofuranosidase activities. Tested in the ruminal fluid from dry cows fed

high forage diet, all four commercial enzyme products increased cellulase and feruloyl esterase activities. Hemicell and VP-100 significantly increased hemicellulase activity. Only VP-100 significantly increased α -L-arabinofuranosidase activity. All four commercial enzyme products improved the 48-hour in vitro dry matter digestibility of pre-bloom napier and corn silage. Only VP-100 improved the 48-hour in vitro dry matter digestibility of blooming napier. VP-100, Selfeed, and Bio-act all improved the 48-hour in vitro dry matter digestibility of blooming alfalfa. Tested in the ruminal fluid from dry cows fed high concentrate diet, all four commercial enzyme products improved the 48-hour in vitro dry matter digestibility of pre-bloom alfalfa. Except of Bio-act, the other three commercial enzyme products improved the 48-hour in vitro dry matter digestibility of pre-bloom napier. Only Hemicell and Selfeed significantly improved blooming napier and blooming alfalfa. Maybe fibrolytic enzymes activity were more suitable to function at lower pH range like the high concentrate fed ruminal fluid. On the contrary, VP-100 may require higher pH condition like the high forage fed ruminal fluid. This may be able to explain why only VP-100 can improved the blooming napier digestibility in the high forage fed ruminal fluid, and in stead Hemicell and Selfeed improved blooming napier digestibility in the high concentrate fed ruminal fluid. The corn grain within the corn silage may cause worse pH declining in the high concentrate fed ruminal fluid which rendered no opportunity for any commercial enzyme products to improve the digestibility of corn silage in the high concentrate fed ruminal fluid.

Keywords : alfalfa, napier, corn silage, commercial fibrolytic enzymes, in vitro dry matter digestibility

前言

一、飼糧添加商業纖維分解酵素

商業纖維分解酵素於反芻動物營養應用，大致可分為飼糧添加與青貯製作兩種。飼糧添加成功的例子，例如 Beauchemin *et al.* (1995)肉牛飼養試驗，苜蓿乾草添加纖維分解酵素，可使乾物質採食量提高 15% (11.7 vs. 10.2 kg/day)，每日增重提高 30% (1.34 vs. 1.03 kg/day)。相同的劑量使用於梯牧乾草(timothy hay)，則無明顯乾物質採食量或每日增重的反應。增加到四倍於苜蓿乾草最佳劑量之後，餵飼添加纖維分解酵素的梯牧乾草之牛隻，才有乾物質採食量提高 6% (9.3 vs. 8.8 kg / day)，每日增重提高 36% (1.64 vs. 1.21 kg/day) 等反應。梯牧乾草添加纖維分解酵素的反應，主要來自纖維消化率提高 17%。

但是不論是苜蓿乾草最佳劑量或梯牧乾草乾草應用於大麥青貯，均無法得到明顯乾物質採食量或每日增重的反應。McAllister *et al.* (1999) 使用 2:1 混合商業纖維素分解酵素與半纖維素分解酵素處理大麥青貯，也無法得到顯著的肉牛增重反應。

乳牛飼糧添加的例子，例如 Rode *et al.* (1999) 使用纖維素分解酵素與半纖維素分解酵素混合物添加於精料再混入完全混合飼糧之中，對泌乳牛採食量沒有影響，但是顯著提高中洗纖維(51.0 vs. 42.5%)與酸洗纖維(41.9 vs. 31.7%)消化率，泌乳量則是有提高的趨勢(39.5 vs. 35.9 kg/day)。Broderick *et al.* (1997) 添加纖維分解酵素於苜蓿青貯，對泌乳牛飼糧採食量有顯著提高(25.5 vs. 23.1 kg)，但是泌乳量則無顯著變化(35.2 vs. 35.1 kg/day)。Kung, Jr. *et al.* (2000) 進行兩年的泌乳牛試驗，第一年在玉米青貯與苜蓿乾草混合芻料上噴灑纖維分解酵素含有 3500 carboxymethyl cellulase (CMCase) IU/kg 芻料乾物重+16000 xylanase IU/kg 芻料乾物重，對泌乳牛乾物質採食量沒有影響(22.5 vs. 22.0 kg/day)，但顯著提高泌乳量(39.5 vs. 37.0 kg/day)。但是第二年相同的酵素卻無法顯著提高泌乳量(33.6 vs. 32.9 kg/day)，而另一來源酵素混合物(3600 CMCase IU/kg 芻料乾物重+12000 xylanase IU/kg 芻料乾物重)則顯著提高泌乳量(35.4 vs. 32.9 kg/day)。

二、使用商業纖維分解酵素所面臨的困難

前述飼糧添加商業纖維分解酵素的文獻，可以見到同一種商業纖維分解酵素不一定對每一種芻料都會有改善消化率的效果。甚至同一種芻料在不同年度，都可能對同一種商業纖維分解酵素有不同的反應。類似的情況發生於青貯製作使用商業纖維分解酵素的文獻，商業纖維分解酵素的使用不一定每次都能增加青貯製作過程中洗纖維與酸洗纖維含量的減少。顯然一定有一些因素，造成商業纖維分解酵素在使用時會有不一致的結果發生。如果可以事先了解並克服這些影響因素，應該可以更加確保商業纖維分解酵素的應用價值。

第一個應考慮的影響因素，是不同的微生物所產生的纖維分解酵素，對同一種芻料有不同的纖維素與半纖維素分解能力。Matsui *et al.* (1998) 比較四種瘤胃纖維分解細菌與四種瘤胃真菌對梯牧乾草的細胞壁分解能力，即發現不同微生物有不同的分解半纖維素與分解纖維素比例(degraded xylan to degraded cellulose ratio)結果。瘤胃微生物有如此現象，用於生產商業纖維分解酵素的微生物也可推測有類似現象。因此，我們不應該預期每種商業纖維分解酵素應用於不同芻料或飼糧時候，會有相同的反應。是否能夠找到每一種特定芻料或飼糧最適當的商業纖維分解酵素，將是決定其反應大小之關鍵。

第二個應考慮的影響因素，是不同生長階段的牧草(芻料)，會有不同的細胞壁構造，這可以由植物細胞主細胞壁(primary cell wall)與次細胞壁

(secondary cell wall)組成的差異性推測。主細胞壁通常含 9-25%纖維素、25-50%半纖維素、10-35%果膠與 10%蛋白質，成熟植物細胞發展出來的次細胞壁通常則含 40-80%纖維素、10-40%半纖維素與 5-25%木質素(Bidlack *et al.*, 1992)。禾本科植物的半纖維素組成以 arabinoxylans 為主，而豆科植物則以 xyloglucans 為主(Cosgrove, 1997)。包裹在纖維素聚集成的纖維絲外圍的半纖維素會影響纖維素的分解，Tovar *et al.* (1997)比較比普通玉米中洗纖維消化率高的褐色中肋變種玉米，即發現變種玉米的半纖維素比普通玉米含量少。半纖維素的支鏈又會影響半纖維素的消化率，Hespell *et al.* (1997)使用同一種澱粉、半纖維素與纖維素分解酵素混合物進行分解試驗，含比較多 arabinose 與 uronic acid 支鏈的玉米與小麥胚芽的半纖維素，就比較少支鏈的 oat spelt 與 beechwood 的半纖維素消化率低。又禾本科植物的次細胞壁半纖維素與木質素之間有脂鍵與乙醚鍵等鍵結，使其構造與豆科植物有所不同(Bidlack *et al.*, 1992)。Yang *et al.* (1999)試驗即顯示，苜蓿乾草的試管中洗纖維消化速率比百慕達乾草或盤固乾草快。半纖維素與木質素之間的化學鍵結，也是限制細胞壁分解程度的重要因素(Jung *et al.*, 1996)。Jung *et al.* (2000)分析試驗結果即發現，半纖維素的支鏈 arabinose 消化率與木質素的 ferulate ether 含量有負相關之關係。Grabber *et al.* (1997)也發現含有 feruloyl esterase 活性的商業纖維分解酵素混合物，比不含此種活性的商業纖維分解酵素混合物，對半纖維素的分解能力高出一倍。Bhat and Hazlewood (2001)指出，要先由 α -L-arabinofuranosidase、acetyl esterase、phenyl esterase、 α -D-glucosidase 去除支鏈之後，才能使半纖維素(arabinoxylans)充分被分解。因為細胞壁的組成不同，對不同生長階段的牧草與不同種類牧草，我們會預期需要不同的纖維分解酵素組合，才能有充分的分解作用。

第三個應考慮的影響因素，是纖維分解酵素之間的協同作用。de Vries *et al.* (2000)以小麥麵粉中不容於水的聚五碳醣為測試對象，顯示 *Aspergillus* 的 xylanase A、xylanase D 以及所有支鏈分解酵素搭配所有 xylanase 能夠釋放的 xylose 比例分別為 4.4、12.6 與 98.7%。協同作用也可以產生於瘤胃纖維分解酵素與外源纖維分解酵素之間，Morgavi *et al.* (2000)的試驗即驗證 *Trichoderma longibrachiatum* 的纖維分解酵素與瘤胃纖維分解酵素共同作用，可提高玉米青貯的消化率達 40%。Lee *et al.* (2000)以韓國本土黑山羊瘤胃分離出來的真菌 *Orpinomyces* strain KNGF-2 當為飼糧添加製劑，也證明可以提高綿羊的瘤胃中洗纖維與酸洗纖維消化率。Colombatto *et al.* (2000)嘗試分析六種商業纖維分解酵素的 xylanase、endoglucanase、exoglucanase、cellobiase、true cellulase、 β -D-glucopyranosidase、 α -L-arabinofuranosidase、 α -L-arabinopyranosidase、 β -D-xylopyranosidase 活性，並且測試此六種商業纖維分解酵素對玉米青貯以及苜蓿乾草的試管消化產生氣體量，但是沒有發現

任何差異。此試驗雖分析多種酵素活性，但是沒有利用分析結果做不同酵素組合，而且未將 phenyl esterase 活性考慮在內，可能是其未發現任何單一酵素來源的分解能力差異之原因。

第四個應考慮的影響因素，是反芻動物飼糧芻料與精料比例變化對纖維消化之影響。Valadares *et al.* (2000)比較精料與苜蓿青貯四種比例(20:80、35:65、50:50、65:35)的泌乳牛飼糧，發現飼糧中洗纖維消化率隨著飼糧非纖維碳水化合物含量增加呈線性的降低。Hino *et al.* (2000)肉牛飼養試驗顯示，最適作用 pH4-5 的纖維素分解酵素，餵給採食高芻料飼糧的肉牛對中洗纖維消化率改善程度遠低於採食高精料飼糧的肉牛。因此，我們除了要考慮反芻動物飼糧芻料與精料比例所造成瘤胃纖維分解條件的變化之外，也要同時顧慮到所採用商業纖維分解酵素產品之最適作用 pH 範圍。

材料與方法

本研究計畫，以各兩種不同成熟度的禾本科狼尾草與豆科苜蓿以及一種玉米青貯等五種芻料當為測試纖維分解對象，再收集自餵飼高芻料或高精料乾乳牛瘤胃液，分別進行四種市售商業纖維分解酵素產品單獨或不同組合之試管消化試驗，同時分析各酵素產品之不溶性纖維素與半纖維素分解酵素、 α -L- arabinofuranosidase、feruloyl esterase 活性，以及分析在試管內與瘤胃液組合後之 cellulase、xylanase、 α -L- arabinofuranosidase、feruloyl esterase 個別酵素總活性以及試管消化率，期望整理出不同典型芻料之最適當商業纖維分解酵素產品之完整酵素活性組成特色。

一、商業酵素來源

本試驗所使用的四種商業纖維分解酵素的來源分別為，添寶 (Bio-act) 購自添寶科技開發有限公司(台北市)，恆美酵素 (Hemicell) 購自利統股份有限公司(台北市)，飼樂肥 (Selfeed) 與 VP100 購自祥圃實業有限公司(台北市)。

二、瘤胃液來源

將 2 頭裝有瘤胃瘻管之乾乳牛分別圈飼於個別欄中，並前後餵飼高芻料(精芻比例為 30：70)及高精料(精芻比例為 70：30)飼糧各達 2 週以上，再行收集其瘤胃液。

三、48 小時試管消化試驗

參考 Tilley and Terry (1963)之試驗方法，商用酵素與試驗草料混合比例依廠商推薦劑量 1：2000，並分別搭配餵飼高芻料(精芻比例為 30：70)或高精料(精芻比例為 70：30)達 2 週以上之乾乳牛瘤胃液進行試管消化試驗。

四、酵素活性測試

四種固態之商用酵素粉末均以 1 公克溶解於 1000 mL 磷酸鹽緩衝液(50 mM sodium phosphate, pH 6.8)中稀釋，瘤胃液則以 1/4 於人工唾液中稀釋，分別採以不溶性纖維素(濾紙)及 xylan 作為酵素反應之受質，分析各商業酵素之 cellulase 與 hemicellulase 活性，其活性測定依據 Nelson-Somogyi 的 DNS 還原糖測定法 (Wood and Bhat, 1988)。α-L-arabinofuranosidase 之分析，以 0.04 % (w/v) 4NPA 為酵素反應受質，於 37 °C，50 mM sodium acetate buffer (pH 5.0，含 4 mM NaN₃)，反應 1 小時，測定 410 nm 之吸光值 (Lee *et al.*, 2001)。Feruloyl esterase 之分析，以 AFMB (Autoclaved Fraction from Maize Bran)作為受質，40 °C 反應後，測 286 nm 吸光值(Bonnin *et al.*, 2001)。

五、中洗纖維及酸洗纖維測定

未開花狼尾草、開花狼尾草、未開花苜蓿、開花苜蓿與玉米青貯等五種芻料，中洗纖維及酸洗纖維之測定採用 Goering and van Soest (1970) 與 van Soest *et al.* (1991)分析方法。

結果與討論

五種受測試芻料的近似分析化學組成，顯示開花的狼尾草與開花的苜蓿的酸洗纖維(ADF)與中洗纖維(NDF)均高於其未開花者，粗蛋白質含量則相反(表 1)。玉米青貯粗蛋白質、ADF、NDF 含量分別為 10.34%、36.64%、57.64%，近似於未開花狼尾草，但是考量到玉米青貯中含有相當量的玉米軸穗，因此其非玉米粒部分的植株體之實際 ADF 與 NDF 含量應該是高於未開花狼尾草。四種市售商業纖維分解酵素之 cellulase、hemicellulase、α-L-arabinofuranosidase、feruloyl esterase 活性測定，均是以一公克原酵素產品固形物溶於 1000 mL 緩衝液方式進行測試。Bio-act 酵素活性以 cellulase 與 hemicellulase 為主。Hemicell 是四種酵素中 cellulase、hemicellulase 與 feruloyl esterase 活性均最強。Selfeed 類似於 Bio-act，但是其 hemicellulase 相對較高。VP-100 則是以 hemicellulase 與 α-L-arabinofuranosidase 為主(表 2)。

四種市售商業纖維分解酵素置於餵飼高芻料乾乳牛瘤胃液中之活性測定，顯示四者均能顯著提昇 cellulase 活性表現(表 3)，其中以 Hemicell 最強，與酵素產品單獨分析的結果相似。四種市售商業纖維分解酵素當中只有 Hemicell 與與 VP-100 可顯著提昇 hemicellulase 活性表現(表 3)，Bio-act 與 Selfeed 的 hemicellulase 顯然無法於瘤胃液中表現。四種市售商業纖維分解酵素當中只有 VP-100 可顯著提昇 α-L-arabinofuranosidase 活性表現(表 3)，與酵素產品單獨分析的結果相似，Hemicell 的 α-L-arabinofuranosidase 顯然無法於

瘤胃液中表現。四種市售商業纖維分解酵素的 ferulyl esterase 活性於酵素產品單獨分析時均不高(表 2)，但是均可顯著提昇瘤胃液中 ferulyl esterase 活性(表 3)，顯然瘤胃液的原有 ferulyl esterase 活性極弱。

在餵飼高芻料乾乳牛瘤胃液中之四種芻料 48 小時試管乾物質分解能力測試，四種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花狼尾草的消化率，但是只能表現較強 cellulase 活性的 Bio-act 則不能像其他三種市售商業纖維分解酵素顯著提昇未開花苜蓿(表 4)，芻料種類不同所需的外源酵素支援的需求顯然不同。四種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇玉米青貯的消化率(表 4)，玉米青貯因為含有玉米粒，所以其在單獨瘤胃液中的消化率有高於未開花狼尾草的現象。相對而言，未開花狼尾草似乎比玉米青貯更容易因為外加纖維分解酵素，而較大幅度改善其消化率。開花狼尾草的消化率，只有 VP-100 顯著提昇其 48 小時試管乾物質消化率(表 4)。雖然 Hemicell 有比 VP-100 更強的 cellulase、hemicellulase、ferulyl esterase 活性，但是 Hemicell 卻不能顯著提昇開花狼尾草的消化率，顯示 VP-100 較強的 α -L-arabinofuranosidase 活性是老化的禾本科牧草分解所最需要外源酵素協助的。VP-100、Selfeed、Bio-act 均顯著提昇開花苜蓿消化率(表 4)，顯然老化的豆科牧草的纖維受保護程度弱於老化的禾本科牧草，因此較容易由外源酵素協助提昇消化率。

四種市售商業纖維分解酵素置於餵飼高精料乾乳牛瘤胃液中之活性測定，顯示除了 VP-100 之外，其他三者均能顯著提昇 cellulase 活性表現(表 5)，四種市售商業產品均能顯著提昇餵飼高精料乾乳牛瘤胃液 hemicellulase 活性表現，但是四種市售商業產品均無法提昇 α -L-arabinofuranosidase 活性，VP-100、Selfeed、Bio-act 三者均能提昇 ferulyl esterase 活性。

在餵飼高精料乾乳牛瘤胃液中之五種芻料 48 小時試管乾物質分解能力測試，除了 Bio-act 之外，其他三種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花狼尾草的消化率(表 6)。但是四種市售商業纖維分解酵素均可顯著提昇未開花苜蓿的消化率(表 6)，而且未開花苜蓿消化率有高於未開花狼尾草消化率的現象，其兩者消化率的差距大於在餵飼高芻料乾乳牛瘤胃液所測定的數據(表 4)，高芻料與高精料瘤胃液環境中消化率表現差異，應該與未開花苜蓿的高蛋白質含量(表 1)所賦予的較高緩衝能力而改善高精料瘤胃液環境中消化率有所關係。玉米青貯是五種芻料當中消化率最低者，這應該與玉米青貯含有玉米粒，造成高精料瘤胃液環境更加往低 pH 值方向發展，而造成玉米青貯在高精料瘤胃液消化率(表 6)遠低於其高芻料瘤胃液消化率(表 4)。不同於高芻料瘤胃液消化率表現，只有 Hemicell 與 Selfeed 顯著提升開花狼尾草在高精料瘤胃液的消化率(表 6)，可能的解釋是 Hemicell 與 Selfeed 的酵素較適合高精料瘤胃液的低 pH 值，而高芻料唯一表現最好的 VP-100 的酵素可能較適合高 pH 值。與開花狼尾草相似，只有 Hemicell 與 Selfeed 顯著提升開花苜蓿

在高精料瘤胃液的消化率(表 6)。從高精料瘤胃液中開花苜蓿與開花狼尾草消化率的差距大於其在高芻料瘤胃液消化率表現之現象，可見開花苜蓿應該有表現其蛋白質緩衝效應，但是開花苜蓿的蛋白質含量低於未開花苜蓿，可能緩衝效應還不足以讓 VP-100 表現顯著提升消化率效果。

參考文獻

- Beauchemin, K. A., L. M. Rode, and V. J. H. Sewalt. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steer fed dry forages. *Can. J. Anim. Sci.* 75:641-644.
- Bhat, M. K. and G. P. Hazlewood. 2001. Enzymology and other characteristic of cellulases and xylanases. In: M. R. Belford and G. G. Partridge (Ed.) *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. Pp.11-60.
- Bidlack, J., M. Malone, and R. Benson. 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell wall in plants. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 72:51-56.
- Bonnin, E., M. Brunel, Y. Gouy, L. Lesage-Meessen, M. Asther, and J. F. Thibault. 2001. *Aspergillus niger* I-1472 and *Pycnoporus cinnabarinus* MUCL39533, selected for the biotransformation of ferulic acid to vanillin, are also able to produce cell wall polysaccharide-degrading enzymes and feruloyl esterases. *Enzyme and Microbial Technol.* 28: 70-80.
- Broderick, G. A., R. Derosa, and S. Reynal. 1997. Value of treating alfalfa silage with fibrolytic enzymes prior to feeding the silage to lactating dairy cows. *US Dairy Forage Research Center Research Summaries* pp.74-76.
- Colombatto, D., F. L. Mould, M. K. Bhat, and E. Owen. 2000. Biochemical and in vitro assessment of six enzyme preparations as potential feed additives. *Proceedings of the British Society of Animal Science* p.54.
- Cosgrove, D. J. 1997. Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13:171-201.
- Georing, H. K. and P. J. van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagent, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 397*. ARS, USDA, Washington, DC.
- Grabber, J. H., R. D. Hatfield, and J. Ralph. 1997. Effect of diferulate cross-linking on the hydrolysis of xylans and nonlignified walls by a fungal enzyme mixture containing feruloyl esterase and potent xylanase activities. *US Dairy Forage Research Center Research Summaries* pp.47-48.
- Hespell, R. B., P. J. O'Bryan, M. Moniruzzaman, and R. J. Bothast. 1997. Hydrolysis by commercial enzyme mixtures of AFEX-treated corn fiber and isolated xylans. *Applied Biochemistry and Technology* 62: 87-97.
- Hino, T., T. Miwa, N. Asanuma, K. Shiraishi, H. Kitamura, and H. Mizoguchi. 2000. Effect of addition of cellulase preparations on fiber digestion in beef

- cattle. Anim. Sci. J. 71:J46-J50.
- Jung, H., D. R. Buxton, R. D. Hatfield, D. R. Mertens, J. Ralph, and P. J. Weimer. 1996. Identification of cell wall traits that can be manipulated to improve forage digestibility. US Dairy Forage Center Informational Conference with Dairy and Forage Industries. Pp.9-14.
- Jung, H.-J. G., M. A. Jorgensen, J. G. Linn, and F. M. Engels. 2000. Impact of accessibility and chemical composition on cell wall polysaccharide degradability of maize and Lucerne stems. J. Sci. Food Agric. 80:419-427.
- Kung, Jr., L., R. J. Treacher, G. A. Nauman, A. M. Smagala, K. M. Endres, and M. A. Cohen. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 83:115-122.
- Lee, S. S., J. K. Ha, and K.-J. Cheng. 2000. Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. Anim. Feed Sci. Technol. 88:201-217.
- Lee, R. C., R. A. Burton, M. Hrmova, and G. B. Fincher. 2001. Barley arabinoxylan arabinofuranohydrolases: purification, characterization and determination of primary structures from cDNA clones. Biochem. J. 356: 181-189.
- Matsui, H., K. Ushida, K. Miyazaki, and Y. Kojima. 1998. Use of ratio of digested xylan to digested cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms. Anim. Feed Sci. and Technol. 71:207-215.
- McAllister, T. A., S. J. Oosting, J. D. Popp, Z. Mir, L. J. Yanke, A. N. Hristov, R. J. Treacher, and K. J. Cheng. 1999. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. Can. J. Anim. Sci. 79:353-360.
- Morgavi, D. P., K. A. Beauchemin, V. L. Nsereko, L. M. Rode, A. D. Iwaasa, W. Z. Yang, T. A. McAllister, and Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. J. Dairy Sci. 83:1310-1321.
- Rode, L. M., W. Z. Yang, and K. A. Beauchemin. 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. J. Dairy Sci. 82:2121-2126.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Br. Grassland Soc. 18:104-111.
- Tovar, G. M. R., J. C. Emile, D. B. Michalet, and Y. Barriere. 1997. In situ degradation kinetics of maize hybride stalks. Animal Feed Sci. and Technol. 68:77-88.
- Valadares, F. S. C., G. A. Broderick, R. F. D. Valadares, and M. K. Clayton. 2000. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on nutrient utilization and milk production. J. dairy Sci. 83:106-114.

- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and J. B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- de Vries, R. P., H. C. M. Kester, C. H. Poulsen, J. A. E. Benen, and J. Visser. 2000. Synergy between enzymes from *Aspergillus* involved in the degradation of plant cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Res.* 327:401-410.
- Yang, C. M. J., Y. H. Cheng, Y. A. Lin, and C. F. Lee. 1999. In situ ruminal degradation characteristics of dry matter and cell wall components in alfalfa, Bermuda, and pangola hays. *J. Agric. Assoc. China* 185:81-100.

表 1. 供試五種芻料之化學組成

| | Napier | Blooming napier | Alfalfa | Blooming alfalfa | Corn silage |
|-----|--------|--------------------|---------|---------------------|-------------|
| | (%) | | | | |
| ADF | 37.43 | 46.44 | 19.34 | 25.41 | 36.64 |
| NDF | 61.58 | 73.24 | 24.64 | 33.91 | 57.64 |
| CP | 10.29 | 7.73 | 21.32 | 16.23 | 10.34 |

表 2. 四種市售商業酵素之活性組成分析

| | Cellulase | Hemicellulase | α -L-arabino- furanosidase | Feruloyl esterase |
|----------|-----------------------|---------------|--------------------------------------|----------------------|
| | μ M sugar /hr /mL | | | |
| Bio-act | 86.48 | 122.58 | 6.35 | 0.53 |
| Hemicell | 746.67 | 1040.42 | 23.60 | 1.46 |
| Selfeed | 70.75 | 410.39 | 5.39 | 0.61 |
| VP-100 | 28.02 | 134.58 | 50.44 | 0.16 |
| MSE | 28.53 | 52.57 | 10.59 | 0.01 |

表 3. 四種市售商業酵素於餵飼高芻料之乾乳牛瘤胃液之活性表現

| | Cellulase | Hemicellulase | α -L-arabino- furanosidase | Feruloyl esterase |
|-------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | μ M sugar /hr /mL | | | |
| Bio-act | 18609.7 ^b | 15498.6 ^d | 2571.29 ^b | 11.37 ^a |
| Hemicell | 21178.7 ^a | 19489.7 ^a | 2545.89 ^b | 10.97 ^{ab} |
| Selfeed | 16627.5 ^c | 17089.9 ^{bc} | 2529.12 ^b | 10.94 ^{ab} |
| VP-100 | 17590.8 ^{bc} | 17448.4 ^b | 2801.34 ^a | 10.48 ^b |
| Rumen fluid | 14631.2 ^d | 16294.0 ^{cd} | 2492.21 ^b | 9.16 ^c |
| MSE | 478.26 | 288.37 | 31.22 | 0.20 |

表 4. 四種市售商業酵素於餵飼高芻料乾乳牛瘤胃液中對五種芻料之 48 小時乾物質試管消化率

| | Napier | Blooming napier | Alfalfa | Blooming alfalfa | Corn silage |
|-------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | (%) | | | | |
| Bio-act | 52.46 ^b | 44.66 ^b | 69.06 ^b | 61.53 ^b | 53.64 ^c |
| Hemicell | 54.25 ^{ab} | 39.20 ^c | 71.78 ^a | 60.08 ^{bc} | 55.42 ^b |
| Selfeed | 55.39 ^a | 45.97 ^{ab} | 72.26 ^a | 63.85 ^a | 54.02 ^{bc} |
| VP-100 | 54.24 ^{ab} | 47.50 ^a | 71.56 ^a | 63.95 ^a | 61.24 ^a |
| Rumen fluid | 44.77 ^c | 45.02 ^b | 68.20 ^b | 58.73 ^c | 50.80 ^d |
| MSE | 0.77 | 0.62 | 0.29 | 0.64 | 0.30 |

表 5. 四種市售商業酵素於飼料高精料之乾乳牛瘤胃液之活性表現

| | Cellulase | Hemicellulase | α -L-arabino- furanosidase | Feruloyl esterase |
|-------------|-----------------------|----------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | μ M sugar /hr /mL | | | |
| Bio-act | 18340.7 ^a | 17105.9 ^a | 2708.84 ^b | 11.08 ^c |
| Hemicell | 13093.2 ^b | 17741.1 ^a | 2925.92 ^a | 11.07 ^c |
| Selfeed | 18621.2 ^a | 18210.1 ^a | 2889.05 ^{ab} | 12.48 ^a |
| VP-100 | 11535.7 ^c | 17273.4 ^a | 2855.50 ^{ab} | 11.71 ^b |
| Rumen fluid | 11836.5 ^c | 15773.0 ^b | 2803.26 ^{ab} | 10.91 ^c |
| MSE | 352.48 | 381.05 | 61.52 | 0.17 |

表 6. 四種市售商業酵素於飼料高精料乾乳牛瘤胃液中對五種芻料之 48 小時乾物質試管消化率

| | Napier | Blooming napier | Alfalfa | Blooming alfalfa | Corn silage |
|-------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | (%) | | | | |
| Bio-act | 29.96 ^{bc} | 16.67 ^b | 52.98 ^b | 44.90 ^b | 12.55 ^a |
| Hemicell | 41.18 ^a | 26.19 ^a | 60.88 ^a | 51.98 ^a | 9.20 ^a |
| Selfeed | 38.47 ^a | 24.89 ^a | 57.30 ^a | 52.99 ^a | 7.15 ^a |
| VP-100 | 30.95 ^b | 23.35 ^{ab} | 57.37 ^a | 47.08 ^b | 6.49 ^a |
| Rumen fluid | 24.76 ^c | 16.75 ^b | 49.09 ^c | 43.97 ^b | 11.90 ^a |
| MSE | 1.76 | 2.12 | 1.15 | 1.11 | 2.11 |