

國立臺東大學生命科學所

碩士學位論文

Graduate Institute of Life Science

National Taitung University

指導教授：李炎 博士

以益生菌改善養豬場氣味之研究

Studies on Probiotics to Control the
Pig Farm's Malodor

研究生：徐旭昇

中華民國 97 年 1 月

國立台東大學

學位論文考試委員審定書

系所別：生命科學研究所

本班 徐旭昇 君

所提之論文 以益生菌改善養豬場氣味之研究

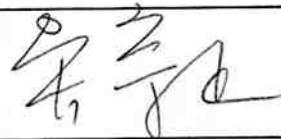
業經本委員會通過合於

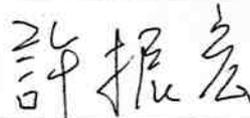
碩士學位論文
博士學位論文 條件

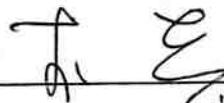
論文學位考試委員會：



(學位考試委員會主席)







(指導教授)

論文學位考試日期：97年1月22日

國立台東大學

附註：1. 本表一式二份經學位考試委員會簽後，送交系所辦公室及註冊組或進修部存查。

2. 本表為日夜學制通用，請依個人學制分送教務處或進修部辦理。

博碩士論文授權書

本授權書所授權之論文為本人在 國立台東大學 生命科學 所
96 學年度第 1 學期取得 碩 士學位之論文。

論文名稱：以益生菌改善養豬場氣味之研究

本人具有著作財產權之論文全文資料，授予下列單位：

同意	不同意	單位
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	國家圖書館
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	本人畢業學校圖書館

得不限地域、時間與次數以微縮、光碟或其他各種數位化方式重製後散布發行或上載網站，藉由網路傳輸，提供讀者基於個人非營利性質之線上檢索、閱覽、下載或列印。

本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會)的附件之一，申請文號為：(正申請中)，請將全文資料延後半年再公開。

公開時程

立即公開	一年後公開	二年後公開	三年後公開
		<input checked="" type="checkbox"/>	

上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行權利。依本授權所為之收錄、重製、發行及學術研發利用均為無償。上述同意與不同意之欄位若未鉤選，本人同意視同授權。

指導教授姓名：李忠 (親筆簽名)

研究生簽名：徐旭昇 (親筆正楷)

學號：9400809 (務必填寫)

日期：中華民國 97 年 1 月 22 日

1.本授權書(得自 <http://www.lib.ntu.edu.tw/theses/> 下載)請以黑筆撰寫並影印裝訂於書名頁之次頁。

2.依據 91 學年度第一學期一次教務會議決議:研究生畢業論文「至少需授權學校圖書館數位化,並至遲於三年後上載網路供各界使用及校內瀏覽。」

授權書版本:2005/06/09

誌 謝

轉眼間兩年半的碩士生涯即將結束，腦中突然一片空白，空虛的感覺襲上心頭，回顧這些日子，往事歷歷在目，感覺五味雜陳，如人飲水冷暖自知。

當初論文完成的時候，本來想要用致謝產生器，可惜已經被我的同學，育峰捷足先登，因此只好自己寫。

這本論文能夠完成，我必須感謝很多人，沒有這些貴人，我的論文無法順利產生。首先必須感謝的當然是我的父母以及我的老姐，沒有爸媽的鼓勵以及督促，我也不會走上唸研究所的這條路，老姊的噓寒問暖，做弟弟的點滴在心頭。

再來要感謝的是我的老師，李炎博士，感謝老師這些年來的照顧，每當學業上有困難的時候，都能夠毫不保留的幫助學生度過難關。

此外，也要感謝養豬場的老闆，賴永美老師以及李玉梅小姐，謝謝你們對於我課業方面以及日常生活方面的照顧，平日的噓寒問暖猶如多出了一對父母一樣，讓我十分的感動。

再來當然就是我那些老是陪我打屁吐槽的好朋友啦，已畢業滿口三字經的尚澄學長，和藹可親的惠春學姊，慷慨親切綽號金剛芭比的佳蓮學姊，以及我的好友士慶、育峰、惠嵐，還有好學弟年展、世峰等，謝謝以上各位給我多采多姿的碩士生活，謝謝各位！

目 錄

目 錄	I
圖目錄	IV
表目錄	VI
附錄	VII
中文摘要	VIII
Abstract	IX
壹、前言	1
貳、文獻回顧	2
一、養豬場臭味研究	2
1. 養豬場內臭味發生地點及原因	2
2. 豬糞尿分解所產生的臭味	2
3. 豬場臭味對於養殖人員的負面影響	6
4. 養豬場對於附近居民的影響	7
5. 豬場臭氣主要成份	7
二、益生菌 (probiotics) 之定義	12
三、養豬場主要菌種類別	15
1. <i>Streptococcus</i>	15
2. <i>Peptostreptococcus</i>	15
3. <i>Eubacteria</i>	16
4. <i>Lactobacillus</i>	16
5. <i>Escherichia</i>	17
6. <i>Clostridium</i>	17
7. <i>Propionibacterium</i>	17
8. <i>Bacteroides</i>	18
9. <i>Megasphaera</i>	18
參、材料與方法	23
一、實驗材料	23

二、實驗器材	23
1. stec GV-100 檢知器	23
2. Gastec 系列空氣檢知管	25
3. 檢知器使用方法	27
4. 檢知管變色原理及使用介紹	29
三、藥品及培養基	33
四、實驗方法	35
1. 益生菌培養	35
五、實驗室測試	38
1. 對峙培養試驗	38
2. 空氣臭味抑制實驗	38
(1) 選擇指標氣體	38
(2) 尿液、糞便臭味抑制測試	39
1 益生菌在尿液中所產生臭味之分析	39
2 添加益生菌對於抑制尿液產生臭味分析	39
3 益生菌在糞便中所產生臭味之分析	40
4 添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析	40
5 益生菌在糞尿混合液中所產生臭味之分析	40
5 添加益生菌對於抑制糞尿混合液產生臭味分析	41
4. 益生菌液對於大腸菌生長影響	44
六、野外測試	45
1. 堆肥舍測試	45
2. 保育舍測試	48
肆、實驗結果	51
一、對峙培養試驗	51
二、空氣臭味抑制實驗	56
1. 益生菌對於臭味抑制測試	56
(1) 益生菌在尿液中所產生臭味之分析	56

(2) 添加益生菌對於抑制尿液產生臭味分析	58
(3) 益生菌在糞便中所產生臭味之分析	60
(4) 添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析	62
(5) 添加益生菌在糞尿混合液產生臭味分析	64
(6) 益生菌抑制糞尿混合液臭味測試	66
三、益生菌液對於大腸菌生長影響	69
四、堆肥舍測試	71
五、保育舍測試	75
伍、結果與討論	79
陸、參考文獻	81
柒、附錄	87



圖目錄

圖一、豬糞尿在好氧情況下的分解情形	4
圖二、豬糞尿在厭氧情況下的分解情形	4
圖三、畜牧廢棄物之生物分解途徑及分解產物	5
圖四、醱酵解(同源發酵)途徑	20
圖五、檢知器介紹圖	23
圖六、檢知器細部分解圖	24
圖七、檢知管外觀圖	25
圖八、檢知管細部圖	26
圖九、檢知器使用方法	27
圖十、益生菌醱酵培養流程圖	36
圖十一、五十公升醱酵槽	36
圖十二、300 公升益生菌醱酵槽	37
圖十三、發酵液分裝冷藏	37
圖十四、實驗室測試架構圖	42
圖十五、尿液、糞便臭味抑制測試架構圖	42
圖十六、利用血清瓶測試進行尿液臭味抑制試驗	43
圖十七、利用血清瓶測試進行糞便臭味抑制試驗	43
圖十八、堆肥舍臭味濃度測試流程圖	46
圖十九、益生菌噴灑裝置圖	46
圖二十、密閉式堆肥舍外觀圖	47
圖二十一、堆肥舍內部	47
圖二十二、保育舍臭味濃度測試流程	49
圖二十三、保育舍外觀圖	49
圖二十四、保育舍內部圖	50
圖二十五、保育舍細部	50
圖二十六、枯草菌 <i>Bacillus subtilis</i> var. Natto (BCRC 14716)對峙培養情形	51

圖二十七、枯草菌 <i>Bacillus subtilis</i> var. <i>Natto</i> (BCRC 14716)對峙培養情形	52
圖二十八、 <i>Enterococcus faecium</i> (BCRC 12302)對峙培養結果...	53
圖二十九、乳酸菌 <i>Lactobacillus casei</i> . <i>subsp. rhamonus</i> (BCRC12249)對峙培養結果	54
圖三十、乳酸菌 <i>Lactobacillus casei</i> . <i>subsp. rhamonus</i> (BCRC12249)對峙培養結果	55
圖三十一、益生菌在無菌尿液臭味產生分析	57
圖三十二、益生菌在對於抑制尿液臭味產生分析	59
圖三十三、益生菌在糞便中所產生臭味之分析	61
圖三十四、益生菌對於抑制糞便產生臭味分析	63
圖三十五、益生菌在糞尿混合液產生臭味分析	65
圖三十六、益生菌抑制糞尿混合液臭味測試	68
圖三十七、益生菌液對於大腸菌生長影響	70
圖三十八、堆肥舍指標氣體濃度變化圖	74
圖三十九、保育舍指標氣體濃度變化圖	78

表目錄

表一、養豬場內豬糞尿及粉塵中所發現的臭氣組成	8
表二、常用之益生菌種類	14
表三、乳酸菌之分類-依其形狀與其發酵途徑	19
表四、養豬場主要菌種生長最適溫度以及 pH	21
表五、養豬場主要微生物種類及氣產生臭味的成分	22
表六、益生菌在尿液中所產生臭味濃度分析	56
表七、添加益生菌對於抑制尿液臭味濃度分析	58
表八、益生菌在糞便中所產生臭味濃度分析	60
表九、益生菌對於抑制糞便產生臭味濃度分析	62
表十、益生菌在糞尿混合液產生臭味濃度分析	64
表十一、益生菌抑制糞尿混合液臭味濃度測試	66
表十二、益生菌液對於大腸菌生長影響試驗	69
表十三、堆肥舍測試實驗	71
表十四、保育舍實驗測試	76

附錄

A. 菌株冷凍保存流程	88
B. 各別菌種專用培養基以及發酵工作液	89
C. 益生菌生長曲線圖	90
D. 益生菌在糖蜜醱酵液生長曲線圖	91
E. 實驗數據及表格	92



摘要

本研究利用乳酸菌(*L. Acidophilus*, *L. Casei*)、枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)以及腸球菌(*Enterococcus faecium*)等益生菌，經培養後所得之混合菌液噴灑在豬舍以及堆肥舍當中。由於乳酸菌以及枯草菌具有抑制細菌的功能，同時乳酸菌所產生的乳酸能夠有效降低豬舍環境的 pH 值以及利用競爭性抑制的作用減少產生臭味的細菌繁殖空間，來達成減少臭味的目的。

整體實驗分為兩組架構，分別為實驗室測試以及野外測試，經由實驗室測試發現，益生菌對於氨氣以及胺氣抑制程度，會因實驗條件不同而有不同程度差異。而對於抑制乙酸、丙酸以及硫化氫氣體而言，益生菌具有良好的效益。此外，益生菌可以延緩微生物增殖的速度，但是無法使微生物數量減少。

野外實驗地點為密閉的保育舍以及堆肥舍，將菌液均勻混合並且噴灑在空中，持續定時定點噴灑並且定時收集空氣中的氣體，並使用檢知管來分析特定氣體成份(氨，有機酸等)，以觀察空氣中臭味成份是否有降低的情形。

經由噴灑益生菌處理之後，堆肥舍當中，氨氣以及胺氣臭味變動幅度並不明顯，而在堆肥舍當中臭味指標氣體乙酸、丙酸以及硫化氫皆有顯著的下降，最終濃度低於檢知管偵測極限 0.05ppm。保育舍經由噴灑益生菌處理後，乙酸、丙酸以及硫化氫皆有顯著的下降，最終濃度低於檢知管偵測極限 0.05ppm，此外氨氣以及胺氣濃度則各有不同程度的下降。

Abstract

This study used the probiotics that were composed of *L. Acidophilus*, *L. Casei*, *Bacillus subtilis* and *Entrococcus faecium*. These bacteria cultured solutions were equally mixed. And then the liquid was sprayed all over the pig house as well as farmyard manure hut.

For probiotics can inhibit the growth of other bacteria. On one hand, probiotics can produce lactic acid to lower the environmental pH, on the other hand probiotics can create a competition with the effect that reduces the growth of other microorganisms. When the other microorganisms were controlled, the malodor gas emission had diminished.

This study had two parts such as : lab tests and field tests. After treated by probiotics, local gases were collected and analyzed for specific compositions (ammonia, hydrogen sulfide, organic acid, etc.) to detect whether the contents of malodor gases were reduced.

Our results showed that after the treatment by probiotics, indicator gases in pig houses were diminished quite obviously. Acetic acid, butyric acid, hydrogen sulfide, and some other kinds of organic acid were not detectable even at the lowest measurement limits of the detection tubes. Ammonia and amine were also reduced, but less obvious compared to other gasses.

壹、前言

近二十年來，台灣因經濟起飛，帶動國內生活水準提升，由於國內肉品市場需求龐大，使得中、大型養豬場增加養殖頭數和養殖面積，此外也出現許多零星的小型養豬場。由於人民環保意識抬頭，人權高漲，養豬場附近的居民開始抗議養豬場所產生的污染，與養豬場業者產生許多糾紛與不愉快(翁, 2006)。此外，地方環保局對於養殖廢水排放以及周界大氣異味檢測日趨嚴格，也造成農民養殖戶的困擾及壓力。因此，如何改善或減緩豬隻在養殖當中所散發的臭異味十分重要。

豬舍內大致可能產生：粒狀污染物（粉塵）、孢子（Spores）、二氧化碳（CO₂）、氨類、雜環類、揮發性脂肪酸，及硫化物等。產生的主要原因是豬隻所排泄的廢棄物經過厭氧及好氧菌作用所產生。(Yu, 1989)

本實驗目的，在於探討將益生菌液噴撒在豬場環境中，高濃度益生菌在環境中與雜菌競爭拮抗，導致雜菌生存空間受限，而難以大量生長。益生菌在醱酵過程中產生具抑菌效果之代謝產物，如：有機酸（Misra and Kuila, 1992）、過氧化氫（Condon, 1987; Dahiya and Speck, 1968）、細菌素（bacteriocin）（Abee *et al.*, 1995; Klaenhammer, 1993）、Reuterin（Axelsson *et al.*, 1989; Paul Ross *et al.*, 2002）、聯乙醯（diacetyl）（Jay, 1983; Kang and Fung, 1999）及抗生素(antibiotic reuterocyclin)（Ganzle *et al.*, 2000; Holtzel *et al.*, 2000）。這些抑菌物質功能各異，除直接與菌體作用外，亦可藉由降低環境pH值來減少雜菌之增殖。藉由益生菌的作用減少豬舍中產生異味的雜菌，達到降低豬舍臭味的目的。

貳、文獻回顧：

一、養豬場臭味研究

1. 養豬場內臭味發生地點及原因：

養豬場內的臭氣來源，可歸納為：

- (1) 養豬場床面之糞尿排泄物發酵；
- (2) 養豬場採食後所濺出飼料或剩餘飼料酸敗；
- (3) 糞尿排水溝廢水發酵；
- (4) 豬舍尚未清洗所殘留在地板上的糞尿，
- (5) 豬糞尿處理場堆肥發酵；
- (6) 養豬場內的灰塵；
- (7) 豬隻的體臭（馬，1993）。

養豬場所產生的廢污是一種固、液混合的狀態。飼養過程中廢污產生來源為：

- (1) 豬隻排放的糞尿：養豬場中最大量主要污染產生來源，而且糞尿的比值會因豬隻飼養料不同，而有所改變。
- (2) 清洗廢水：定期或是不定期的清洗養豬場所產生，屬於突發性的來源。
- (3) 墊草或是殘餘飼料：廢棄污染源中的一項穩定的來源（翁，2006）。

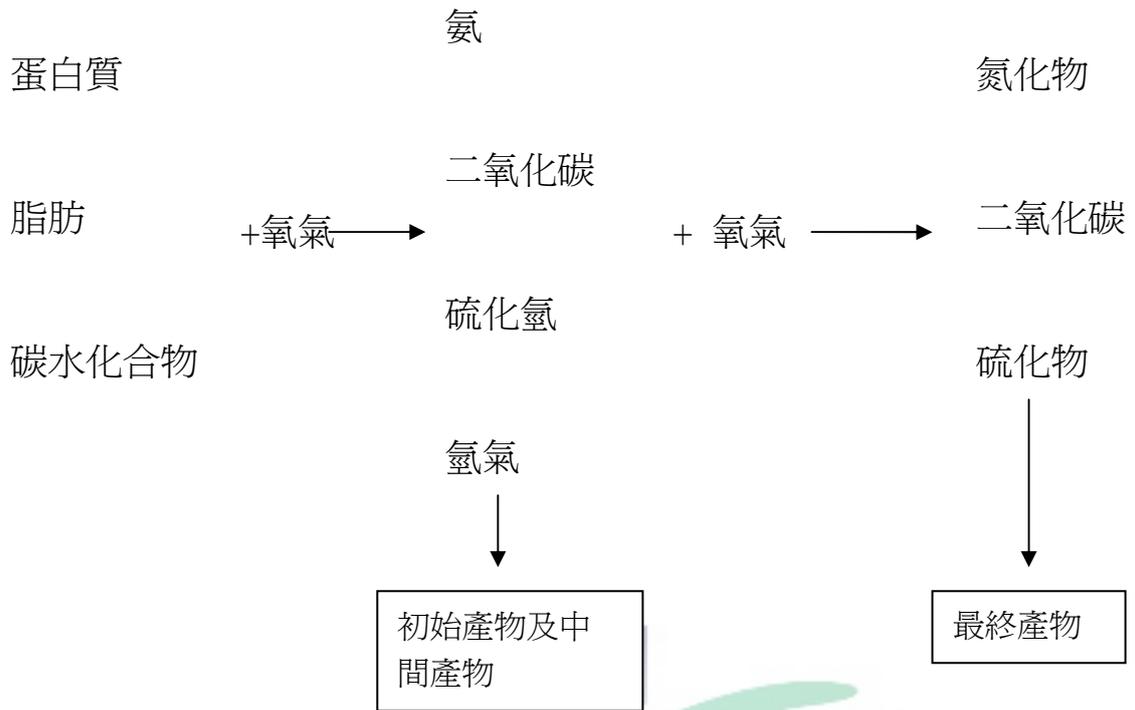
一般而言，臭氣產生的根源主要是厭氧微生物分解豬糞尿所釋放出的揮發性氣體，而灰塵雖沒有氣味，但臭味分子會附著於灰塵上，造成較高的臭味濃度（馬，1996）。

2. 豬糞尿分解所產生的臭味

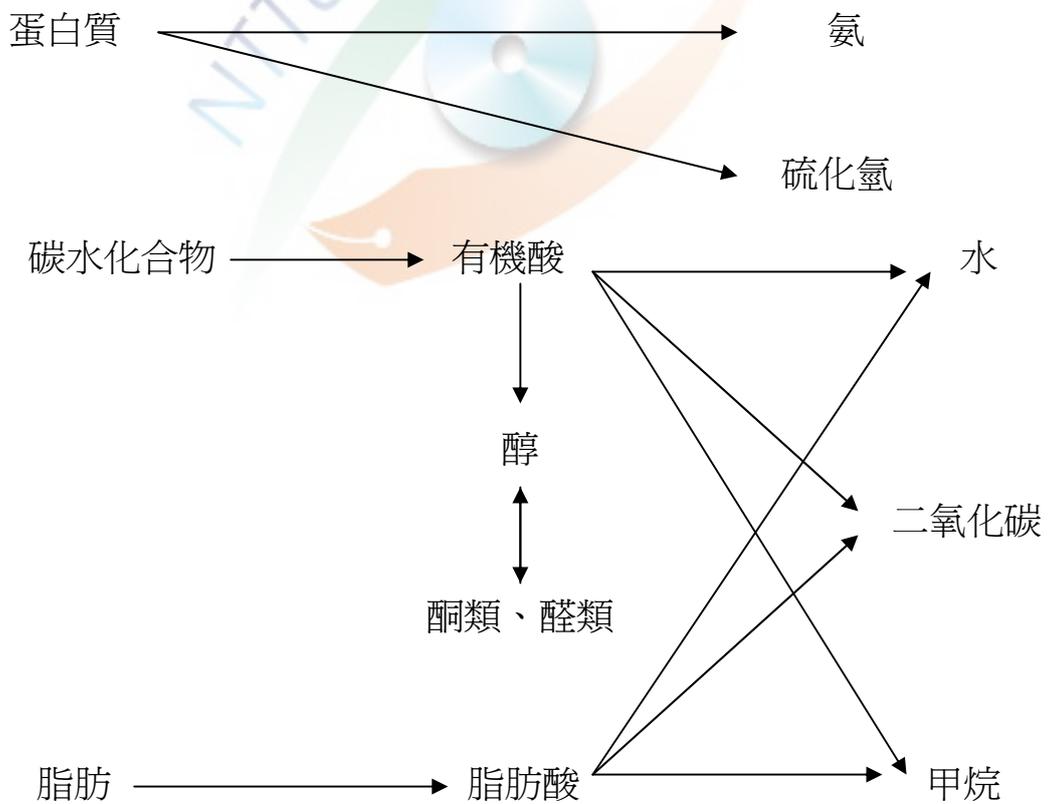
豬糞尿的主成分為蛋白質、碳水化合物及脂肪，其分解過程依氧氣的多寡可分為好氧、厭氧兩種，圖1及圖2所示分別為豬糞尿中的有機質在好氧及厭氧的條件下的分解情況（Yu, 1989）。在好氧條件下豬糞尿的分解產物有氮化物、二氧化碳及硫化物，在厭氧條件下的分解產物有甲烷、氨、硫化氫、二氧化碳等氣體及一些中間產物。許多的有機物在豬

糞尿厭氧分解的過程中產生，藉由厭氧細菌的作用與中間產物間複雜的化學反應，而形成臭味的氣體。圖 3 所示為畜牧廢棄物之生物分解途徑和分解的產物。可發現畜牧廢棄物分解後，會產生甲烷、氨、硫化氫、二氧化碳及有機酸（CIGR-Commission Internationale de Génie Rural., 1994）。

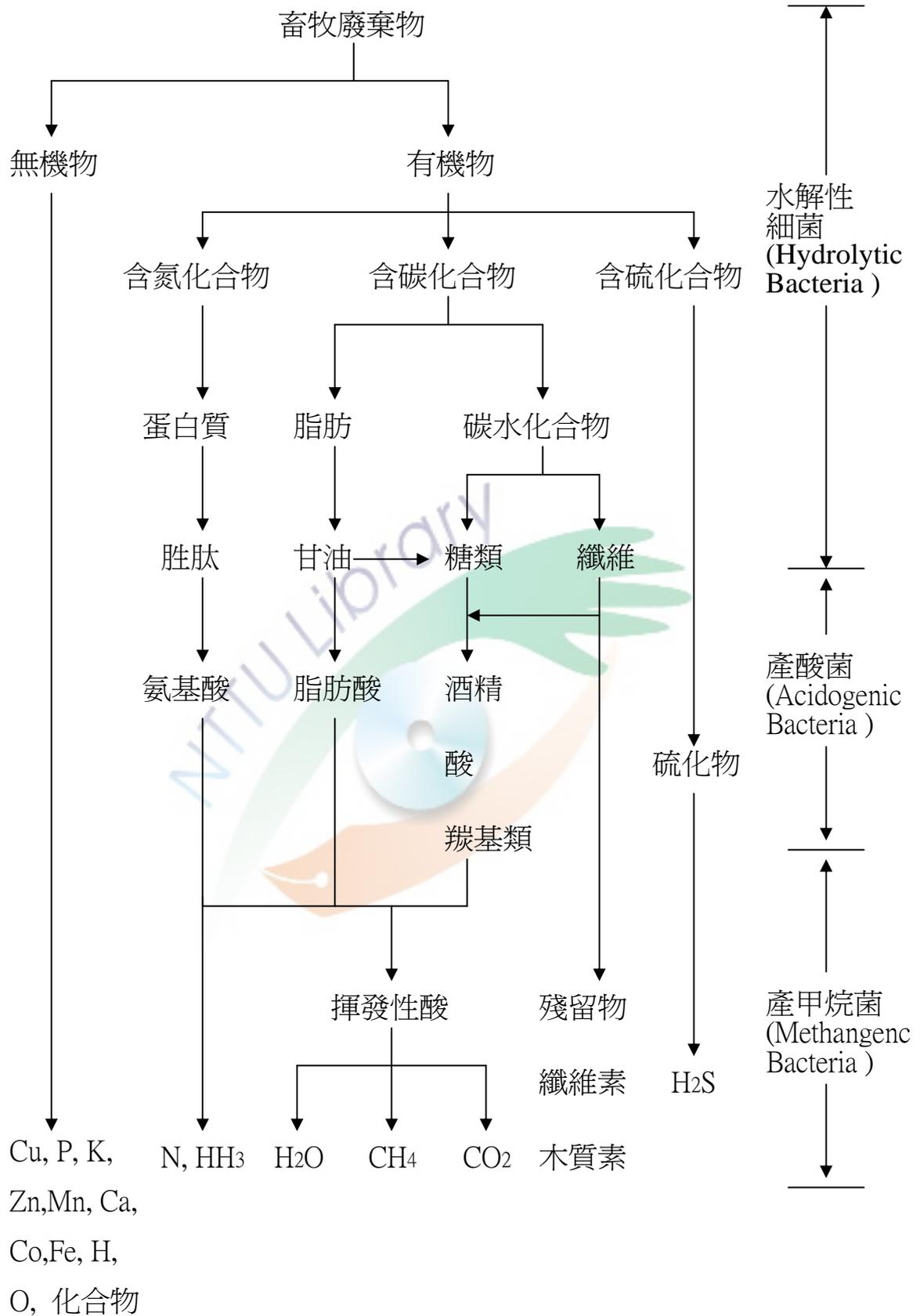




圖一、豬糞尿在好氧情況下的分解情形 (Yu, 1989)



圖二、豬糞尿在厭氧情況下的分解情形 (Yu, 1989)



圖三、畜牧廢棄物之生物分解途徑及分解產物 (CIGR, 1994)

3. 豬場臭味對於養殖人員的負面影響

畜舍的豬糞尿在分解過程中會產生污染物，這些物質對動物及工作人員的健康問題已有多篇研究報告(翁, 2006)，長期處於高濃度臭氣的工作人員普遍有咳嗽、呼吸急促、哮喘等症狀(鄒, 1999)。

當氨氣在 $25 - 37.5 \text{ mg} / \text{m}^3$ 時工作人員便可以察覺特殊氣味，而氨氣在 $50 - 62.5 \text{ mg} / \text{m}^3$ 時眼睛會受到刺激並開始流淚，氨氣濃度高於 $125 \text{ mg} / \text{m}^3$ 時會造成眼瞼發炎，高於 $187.5 \text{ mg} / \text{m}^3$ 時便會有中毒現象發生(鄒, 1999)。

氨氣在勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準中，其容許濃度為 $35 \text{ mg} / \text{m}^3$ ，而在冬季時，因為通風速率低，空氣中污染物濃度提高，造成工作人員罹患呼吸道疾病的比例大幅提高(梁, 1997)。氨氣在豬糞中佔有極大的比例，在許多除臭方法中都無法真正移除(鄒, 1999)。

存在豬糞尿中的有機酸約有二十四種(Yu, 1989)，以乙酸(acetic acid)及丙酸(propionic acid)所佔的比例較高，前者約佔 60%，後者約佔 35%(Zhu et al., 1996, 1997)。

乙酸在勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準中，其容許濃度為 10ppm，如果吸入或經由皮膚吸收可能會造成中毒，若皮膚或眼睛接觸到乙酸會產生刺激或灼傷感，乙酸燃燒可產生刺激性或毒性氣體。

酚在勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準中，其容許濃度為 5ppm，根據環保局 86 年公告之「行政院環境保護署篩選毒性化學物質作業原則」，酚列為列管名單中。酚可經吸入、攝取或皮膚吸收，對組織有刺激性，會引起皮膚病變及致癌性。

硫化氫在勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準中，其容許濃度為 10ppm，硫化氫為一無色有毒氣體，在 0.05ppm 濃度下即可聞到其特殊令人不悅的味道—腐蛋味；但是若暴

露在低濃度下短暫時間即可能造成嗅覺疲乏而不自知，進而造成嚴重中毒；若暴露在高濃度下（如 1000ppm 以上）則可能造成病患立即死亡。臨床上硫化氫中毒主要是造成呼吸抑制和中樞神經症狀如胸悶、頭痛、頭暈、嘔吐、定向感不佳、昏迷不醒(賀 2001)。

4. 養豬場對於附近居民的影響

養豬場的存在對於當地居民及地價均有不良的影響(Susan, 1995)，根據 Jamrs 於 1994 年的研究指出，養豬場的出現對社區當地地價會造成下跌的影響。而當地居民的情緒也會因為養豬場的臭味而有不穩定的現象，諸如緊張、憂鬱、易怒、疲勞，以及感到困擾等負面情緒(Susan, 1995)，而且居民對養豬場的排斥會隨著時間增加而上升，民眾對養豬場的臭氣感受十分敏銳，並要求臭味完全消除，無法接受只降低臭味的處理(Susan, 1995)。

5. 豬場臭氣主要成份

臭氣中的成分主要可分為有揮發性有機酸 (volatile fatty acid ; VFAs)，醇類、醛類、酚類、雜環類、胺類、硫化物等。上述經化學反應產生的新物質，其中以硫化氫 (hydrogen sulfide)、氨 (ammonia)、胺類 (amines)、揮發性脂肪酸 (VFAs)、酚類 (phenol) 和吲哚 (indole) 為最大量 (梁, 1997)。(Merkel *et al.*, 1969) 指出氨氣、硫化氫、有機硫化物是臭氣中顯著的成分，而(Denis *et al.*, 1987) 則認為 phenol, ρ -cresol 以及揮發性脂肪酸為豬場臭為主要來源。

Miner 和 Hazen (1969) 指出動物的排泄物中所產生的臭氣有 60 種不同的揮發性物質。(翁, 2006) 指出豬糞尿於厭氧情況下會有硫化氫、氨及部份揮發性有機物質釋出。此外 Yasuhara and Jimbu(1984) 則認為臭氣形成份以及濃度與酚、醛類及酮類有關。

表一、養豬場內豬糞尿及粉塵中所發現的臭氣組成(Yu, 1989)。

類別	固相	液相	氣相	粉塵	組成成分
有機酸		◎	◎	◎	Acetic acid
	◎	◎	◎	◎	Propionic acid
	◎	◎	◎		iso-Butyric acid
	◎	◎		◎	Butyric acid
	◎	◎	◎		iso-Valeric acid
	◎	◎		◎	Valeric acid
		◎			2-Methylbutyric acid
		◎			2,2-Dimethylpropionic acid
	◎				Caproic acid
	◎	◎		◎	Hexanoic acid
		◎		◎	Heptanoic acid
		◎		◎	Octanoic acid
		◎		◎	Nonanoic acid
	◎	◎		◎	Benzoic acid
				◎	Decanoic acid
				◎	Undecanoic acid
				◎	Didecanoic acid
				◎	Tridecanoic acid
				◎	Tetradecanoic acid
	◎	◎		◎	Phenylacetic acid
				◎	Hydrinannic acid
	◎				4-Methylvaleric acid
	◎			4-Methylhexanoic acid	
◎	◎			3-Phenylpropionic acid	
醇類			◎		Methanol
	◎		◎		Ethanol
	◎	◎			Proponol
			◎		2-Proponol
			◎		n-Proponol
		◎			Butanol

續表一(1)

類別	固相	液相	氣相	粉塵	組成成分
醇類			◎		n-Butanol
			◎		iso-Butanol
			◎		iso-Pentanol
	◎				Diacetone alcohol
	◎				Isomyl alcohol
胺類			◎		Methylamine
			◎		Ethylamine
			◎		Trimethylamine
			◎		Triethylamine
		◎			Anikine
		◎			Methylquinazoline
		◎			Quinazoline
		◎			Dimethyl, ethylquinazoline
胺類			◎		Methylamine
			◎		Ethylamine
			◎		Trimethylamine
			◎		Triethylamine
		◎			Anikine
		◎			Methylquinazoline
		◎			Quinazoline
		◎			Dimethyl, ethylquinazoline
混合 氣體		◎	◎		Ammonia
			◎		Hydrogen sulphide
醛類			◎		Acetaldehyde
			◎		Byturaldehyde
			◎		iso-Byturaldehyde
			◎		Formaldehyde
			◎		Heptaldehyde

續表一 (2)

類別	固相	液相	氣相	粉塵	組成成分
醛類			◎		Valeraldehyde
			◎		Octaldehyde
				◎	Decaldehyde
				◎	Bensaldehyde
			◎		Ethanal
			◎		Propanal
				◎	Butanal
				◎	2- Butanal
			◎		Hexanal
			◎		2- Hexanal
				◎	Pentanal
				◎	2- Pentanal
				◎	2- Heptanal
				◎	2, 4- Heptadienal
				◎	Decanal
				◎	2, 4- Nonadienal
				◎	2, 4- Decadeinal
		◎			3- Methylbutanal
醃類			◎		Triacetyl
		◎			Tri thiapentane
		◎			Triapentane
		◎			3, 3-dimethyl-2- thiapentane
酮類		◎	◎	◎	Acetone
				◎	Butanone
		◎			2-Butanone
	◎				3-Nethyl-2-Butanone
				◎	Pentanone
			◎		3-Pentanone
				◎	1-Octene-3-Octanone
		◎			2-Pentadecanone
	◎			2-Hexadecanone	

續表 一(3)

類別	固相	液相	氣相	粉塵	組成成分
酮類		◎			o-Aminoacetophenone
酯類			◎		Methyl formate
			◎		Methyl acetate
			◎		iso-Propyl acetate
			◎		iso-Butyl acetate
			◎		iso-Propyl propionate
			◎		Propyl acetate
			◎		n-Butyl acetate
			◎		Dimethyl sulfide
硫化物	◎	◎	◎		Diethyl sulphide
			◎		Methyl disulfide
		◎			Benzothiazole
		◎			Dimethylsulfoxide
酚類	◎	◎			Phenol
		◎			o-Cresol
		◎			m-Cresol
	◎	◎			p-Cresol
		◎			2,6-Di-t-butyl-p-cresol
	◎	◎			p-Ethyl-Phenol
雜環族	◎	◎	◎		Indole
	◎	◎	◎		Skatole
			◎		Pyrazines
			◎		Trimethylpyrazine
			◎		Tetramethylpyrazine
硫醇			◎		Methyl mercaptan

二、益生菌 (probiotics) 之定義

益生菌 (probiotics) 一詞可追溯至 1907 年，巴斯德實驗室之俄羅斯細菌學家，1908 年諾貝爾醫學及生理學獎得主 Eile Metchnikoff 博士，依其觀察保加利亞地區居民因常飲用醱酵乳，而獲得長壽，並從醱酵乳中分離出 *Lactobacillus bulgaricus*，認為此菌株和使人們長壽有關。

他將此一發現發表在『The prolongation of life』一書中，因此遂有『Probiotic』一詞產生 (Bibel, 1982)。Probiotics 源自希臘語原意為“for life”。“pro”字首為『親、支持』之意，“bio”為一字根意為『有關生命的』。因此，字意為『支持生命有關之物質』。

許多學者對益生菌亦有闡述，Lilly 與 Stillwell (1965) 指出 Probiotics 由微生物產生，能刺激其它微生物生長之物質；Fuller (1989) 認為益生菌是活的微生物，以單一或混合菌株，用於人類或動物，因攝食後可改善宿主腸內菌態平衡，因而促進宿主之健康 (Guarner and Schaafsma, 1998)。2001 年 10 月聯合國糧農組織與世界衛生組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization) FAO/WHO 專家諮詢會議對益生菌一詞形成四個共識 (洪, 2006)：

1. 必須是經由活菌作用，雖然死細胞證實有生理上之功能，但在消費者及科學的認知上則認定益生菌必須是活的微生物。
2. 必須表現出可偵測的生理優點，且經由導入特定的生物體內研究證實此優點。
3. 不侷限食品應用及經口服方式，可應用於藥品或外用敷料。
4. 不限作用機制，只要對宿主具保健康功效均可視之，且不特別要求菌株在胃腸道中存活，其代謝產物在體內具

生物活性即可。

除上述共識外，益生菌必須是一般公認安全 (Generally Recognized As Safe, GRAS) (Tuomola et al., 2001) 菌株。目前常用為益生作用之微生物如下列表 2 所示，主要為乳酸桿菌、酵母菌、以及真菌 (Fuller, 1992 ; Tannock, 2001)。



表二、常用之益生菌種類

Common microorganisms used as probiotics

Lactic acid bacteria	Other probiotics microorganism
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bacillus toyoi</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Lactobacillus casei subsp.rhamnosus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Aspergillus awamori</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp.bulargaricus</i>	<i>Aspergillus candidaus</i>
<i>Lactobacillus GG</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus faecium</i>	<i>Trichoderma reesei</i>
<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Corynebacterium acetoglutamicum</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Monascus ruber</i>
<i>Streptococcus faecalis</i>	
<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	
<i>Bifidobacterium thermophilus</i>	
<i>Bifidobacterium infants</i>	

(Tannock, 2001)。

三、養豬場主要菌種類別

由相關文獻得知(Jun, 1999)，豬場主要菌種種類由數量高到低為格蘭氏陽性球菌(大約占 39%，包含鏈球菌 *Streptococcus*、*Peptostreptococcus*、*Peptococcus*、*Staphylococcus*，以及 *Megasphaera* 等)、*Eubacterium* 約 27%、*Lactobacillus* 約 20%、*Escherichia* 約 8%、*Clostridium* 約 4%，以及剩下一些少部分的種類像是 *Propionibacterium*、*Bacillus*、以及 *Bacteriodes* 等所佔比例不及 2% (Nuru *et al.*, 1972), (Salanitro *et al.*, 1977), (Russell, 1979)。

另外以類型來分，*Clostridium sp.*、*Lactobacillus sp.*、*Peptostreptococcus*、*Eubacterium*、*Peptococcus*、*Propionibacterium*、*Bacteriodes*，以及 *Megasphaera* 等菌種為絕對厭氧菌；*Streptococcus*、*Staphylococcus*，以及 *Bacillus* 為兼性厭養菌，而 *Escherichia* 則為好氧及兼性厭氧菌。

以下為各種細菌特性及產物介紹

1. *Streptococcus*

Streptococcus 為一種化學異營菌，共有五種

Streptococcus 在豬場被發現，該菌種能夠利用降解有機物來產生能量，大部分的菌種為兼性厭氧菌，理想生長環境為 37 °C，pH 為接近中性的環境，pH 低於 4 或高於 9.6 都會使其停止生長(Russell, 1979)，所有菌種藉由發酵碳水化合物，主要產物為乳酸，以及少部分的乙酸、酒精、二氧化碳等，大部分的菌種也會產生氫。

2. *Peptostreptococcus*

Peptostreptococcus 為一化學異營菌，共有三種

Peptostreptococcus 在豬場被發現，可經由代謝胰化蛋白胨 peptone 以及氨基酸來轉化成甲酸，乙酸，丁酸以及其他一些有機酸等，以及一些揮發性胺類，此為還會產生各種醇類等。該菌種最適當的生長環境為 pH 7.0-7.5 溫度在 35-37°C 之間

(Russell, 1979)，在 pH 6.0-8.0 溫度 25-45°C 之間仍然可以生長，不過較為緩慢。

3. *Eubacteria*

Eubacteria 為一種絕對厭氧的細菌，行化學異營，經由代謝胰化蛋白胨 peptone 或是碳水化合物，來產生各類的有機酸以及揮發性有機酸。在接近中性以及溫度在 37°C 左右成長最為快速(Russell, 1979)，產生的大量有機酸以丁酸，乙酸，甲酸，以及乳酸為主(Moore and Holdeman, 1986)，依照(Russell, 1979)文章所敘述，共有五個種類的 *Eubacteria*，為養豬場中臭味來源的主要菌種之一。

4. *Lactobacillus*

Lactobacillus 為對氧有容忍性或者是絕對厭氧的菌種，為一種嗜酸菌，偏好在偏酸的環境下生存，利用葡萄糖作為碳源，*Lactobacillus* 有分兩種發酵方式，同源發酵以及異源發酵。

同源發酵的乳酸菌代謝葡萄糖會經由果糖二磷酸(fructose-bisphosphate)路徑(圖 4)，能行此路徑的乳酸菌本身已包含所需酵素，包括丁醛醇酶(aldolase)，及具有能將甘油醛 3 磷酸(glyceraldehydes-3-phosphate)轉化成 1,3-二磷酸甘油(1,3-bisphosphoglycerate)所產生的氫應用於丙酮酸鹽還原成乳酸鹽的能力。在這種情形下，乳酸鹽是葡萄糖發酵產物，產生乳酸的量高達 90% 以上，其他產物的產量則視提供的氧氣而定。

異源發酵則產生大約 50% 乳酸，以及大量的二氧化碳(20-25%)，酒精以及乙酸等(表五)。*Lactobacillus* 的生長環境為 pH 4.5-6.4 溫度則為 30-40°C 之間，在 pH 3.5 以下或者 6.5 以上則停止生長，該菌種生存溫度很廣泛，從 2-53°C 之間皆可以生長(Moore and Holdeman, 1986)。有九種菌種在養豬廢棄物當中被辨別出來(Russell, 1979)，由於乳酸菌大

部分的產物皆為乳酸(僅有少部分的乳酸菌行異源發酵，而產生較少量的乳酸)，由資料顯示，對於豬場內惡臭的產生來源，並沒有顯著的關聯。

5. *Escherichia*

Escherichia 最著名的菌種就是大腸菌 *Escherichia coli* 簡稱 *E. coli*，為好氧或者是兼性厭氧菌，利用葡萄糖或者其他碳水化合物來產生丙酮酸鹽 pyruvate，進而轉化為甲酸，乙酸以及乳酸等有機酸，該菌種的理想生長環境接近中性，溫度為 37°C，但是在 pH 4.4-9.0 之間仍然能生長，幾乎所有的菌種皆能夠產生 Indole 類，該種化合物臭味甚為劇烈，為主要臭味之一(Jun Zhu *et al.*, 1999)。

6. *Clostridium*

Clostridium 雖為絕對厭氧菌，但對於氧的容忍度很大，不用產生芽苞也可以輕易在空氣中生存，該菌種適合生長的 pH 為 6.5-7.0 之間，溫度則是 30-37°C，根據文獻顯示，此種菌種對於溫度的忍受性也很大，從 15-69°C 皆能生長(Cato *et al.*, 1986)。*Clostridium* 以分解氨基酸來產生能量(Prescott *et al.*, 1996)，並且分解蛋白質產生各種惡臭物質，例如氨，揮發性脂肪酸，硫化氫，以及胺類，有些種類還可以產生 indole 以 phenol 等臭味物質。有四種菌種在養豬場中被發現 Russell(1979)，由於生存的範圍極為廣泛，加上能產生多樣的惡臭物質，使 *Clostridium* 成為產生惡臭的菌種之一(Jun Zhu *et al.*, 1999)。

7. *Propionibacterium*

Propionibacterium 包含厭氧菌以及兼性樣氧菌，這類屬的菌種皆能夠產生丙酸(propionic)，乙酸以及少量的甲酸，一般來說，最適宜的成長條件為 pH 7 溫度 37°C，有兩種菌種在豬場當中分類出來(Russell, 1979)，只有 *Propionibacterium acnes* 會產生 indole(Jun Zhu *et al.*,

1999)。

8. *Bacteroides*

Bacteroides 為厭氧菌，行化學異營，經由代謝碳水化合物以及胰化蛋白胨 peptone 產生能量。代謝產生物只有甲酸，乙酸，丙酸以及其他類的有機酸。其理想的生長條件為 pH 7 溫度 37°C (Moore and Holdeman, 1986)，依照(Russell, 1979) 文章所敘述，共有兩個種類的菌種，在豬的排泄物當中分類出來。

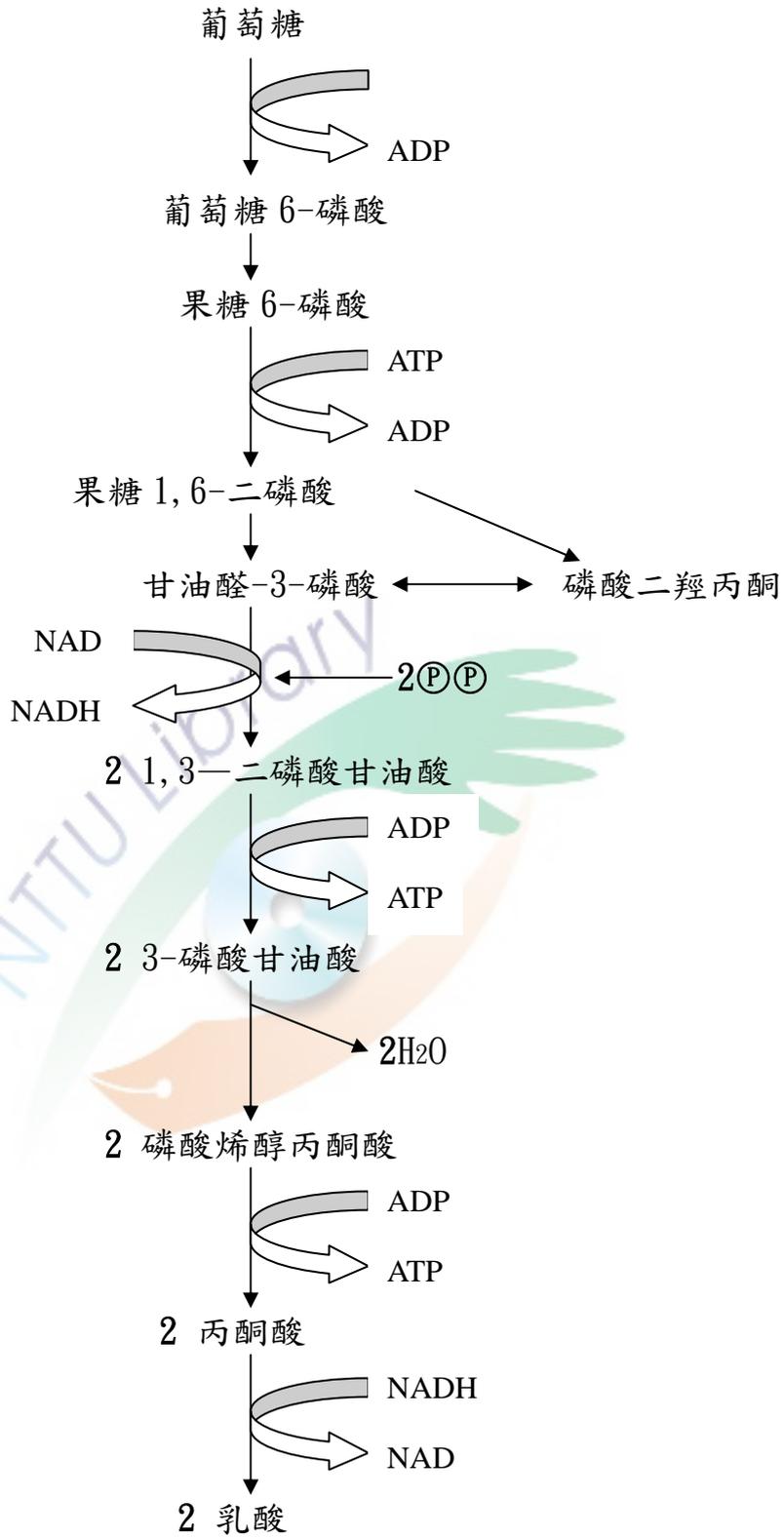
9. *Megasphaera*

Megasphaera 只有兩種菌種從豬場分離出來(Holt et al., 1994)，屬於化學異營的厭氧菌，經由厭氧發酵乳酸鹽產生乙酸，丙酸以及揮發性脂肪酸等，並且也可經由發酵含硫氨基酸來產生含硫化合物，該菌種理想生長環境為接近中性 pH=7.4 溫度為 25-40°C (Jun Zhu et al., 1999)。

表三、乳酸菌之分類-依其形狀與其發酵途徑

球菌	桿菌
同源發酵	
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3-CHOH-COOH$	
<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Thermobacteria</i>
<i>S. diacetylactis</i> 、 <i>S. faecalis</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>
<i>S. salivarius</i> 、 <i>S. thermophilus</i>	<i>L. helveticus</i> 、 <i>L. acidophilus</i>
<i>S. lactis</i> 、 <i>S. pyogenes</i>	<i>L. bulgaricus</i> 、 <i>L. derbruckii</i>
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	<i>L. casei</i> 、 <i>L. plantarum</i>
<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	<i>Streptobacteria</i>
異源發酵	
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3-CHOH-COOH + CH_3-CH_2OH + CO_2$ (或 CH_3-CHOH)	
<i>Leuconostoc mesenterodis</i>	<i>Betabacteria</i> 、 <i>Lactobacillus</i>
<i>brevis</i>	
<i>L. cremoris</i>	<i>L. viridescens</i> 、 <i>L. fermentum</i>
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>

(Ewing & Cole , 1996)



圖四、醱酵解(同源發酵)途徑-每莫耳六碳糖產生兩莫耳乳酸

(Ewing and Cole, 1996)

表四、養豬場主要菌種生長最適溫度以及 pH

bacterial genera	pH	Temperature(°C)
<i>Streptococcus</i>	4.0-9.6	37
<i>Peptostreptococcus</i>	6-8	25-45(35-37)
<i>Eubacterium</i>	6.5-7.5	20-45(37)
<i>Lactobacilli</i>	3.6-6.4	2-53(37)
<i>Clostridium</i>	6.5-7	15-69(30-37)
<i>Propionibacterium</i>	6.5-7.5	30-37(35)
<i>Escherichia</i>	4.4-9.0	37
<i>Bacteroides</i>	5.0-8.5	25-45
<i>Megasphaera</i>	7.4-8.0	25-40

(Jun , 2000)

表五、養豬場主要微生物種類及產生臭味的成分

Bacterial genera	potential odorous compounds
<i>Streptococcus</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, ammonia and volatile amines
<i>Peptostreptococcus</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-valeric, ammonia and volatile amines, iso-caproic acid
<i>Eubacterium</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-caproic acid, indole and phenols
<i>Lactobacilli</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids,
<i>Escherichia</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, Indole
<i>Clostridium</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-valeric, iso-caproic acid, indole and phenols
<i>Propionibacterium</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-valeric, iso-caproic acid, ammonia and volatile amines
<i>Bacteroides</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-valeric, iso-caproic acid, ammonia and volatile amines
<i>Megasphaera</i>	formic, acetic, propionic, butyric acids, iso-butyric, valeric, caproic, iso-caproic acid, volatile S-containing compounds

Jun and Larry (1999)

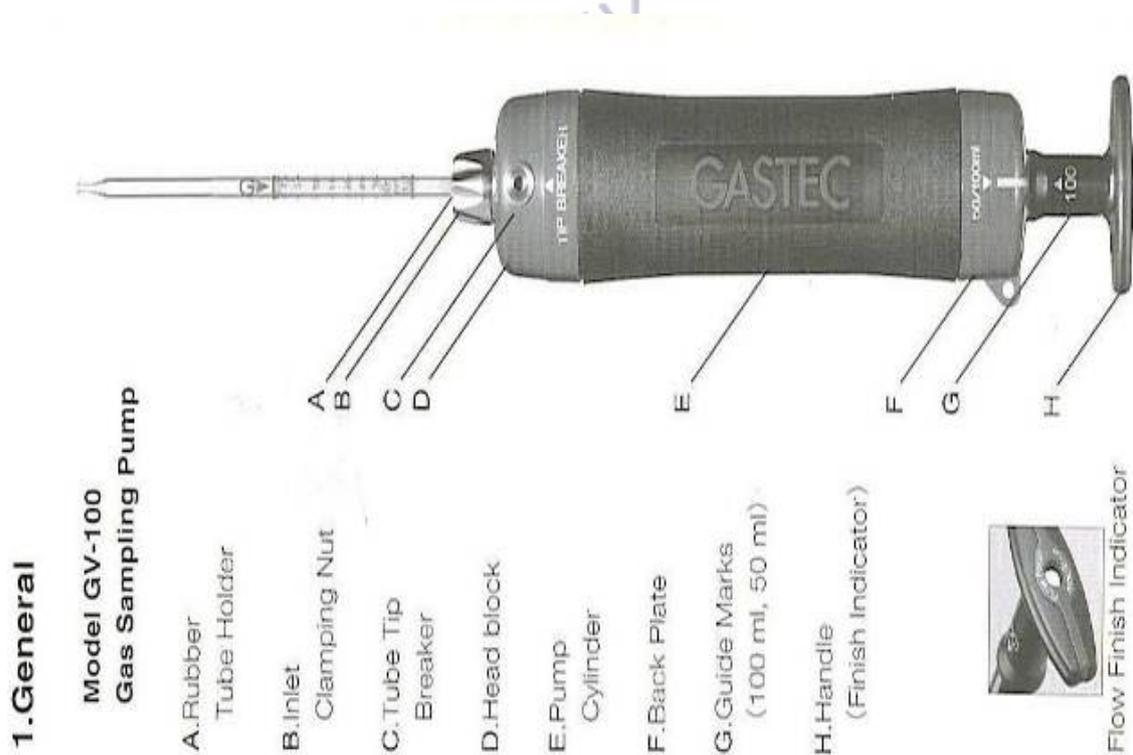
參、材料與方法

一、實驗材料

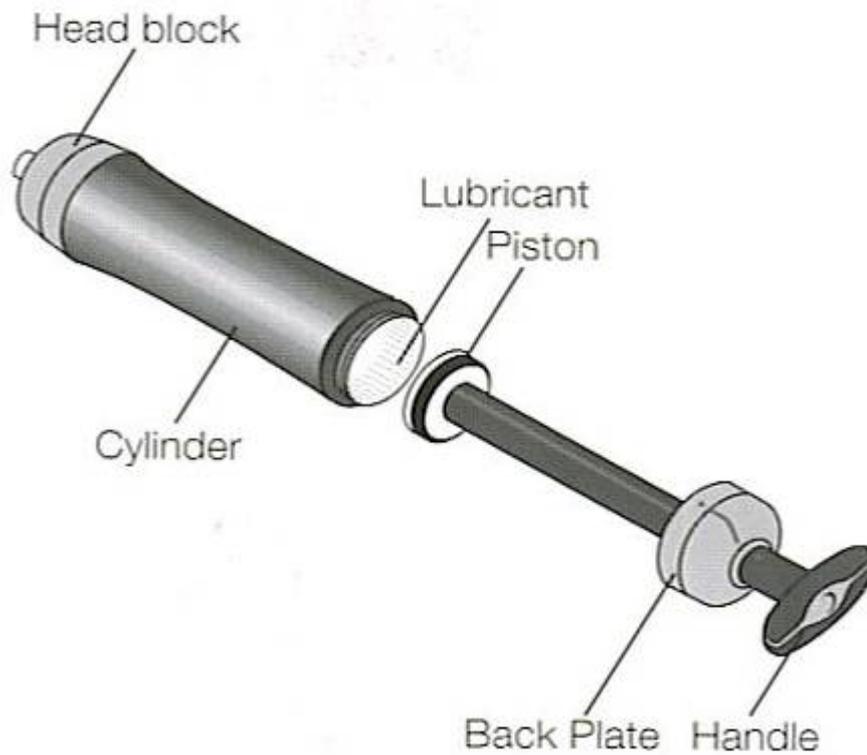
本實驗菌株取得方式為經由食品工業研究所購買，包含 *Lactobacillus acidophilus* (BCRC14065)、*Lactobacillus casei. subsp. rhamonus* (BCRC12249)、兩株枯草菌 *Bacillus subtilis var. Natto* (BCRC 14716) 以及 *Bacillus subtilis var. Natto* (BCRC 17435) 以及益生菌 *Enterococcus faecium* (BCRC 12302) 等，共五株菌株。

二、實驗器材

1. Gastec GV-100 檢知器 (GASTEC Corporation, Japan)



圖五、檢知器介紹圖



圖六、檢知器細部分解圖

上圖為檢知器細部分解圖，內部含有一單向活塞以及逆止閥，防止空氣回流，當抽取空氣時，內部呈現負壓狀態，使得空氣經由檢知管流入管中，當空氣進入檢知管之後，檢知管會產生化學反應產生變色，檢視變色範圍來測得所欲偵測目標的氣體濃度。

2. Gastec 系列空氣檢知管

依照所偵測的氣體以及濃度，有不同型號的檢知管來搭配，
以下型號是本實驗所需要用到的檢知管：

型號	檢測類別	檢測濃度範圍
3L	Ammonia	0.5 to 78 ppm
3La	Ammonia	2.5 to 200 ppm
4HM	Hydrogen sulfide	25 to 1600 ppm
4L	Hydrogen sulfide	1 to 240 ppm
4LT	Hydrogen sulfide	0.1 to 2 ppm
60	Phenol	0.4 to 1 ppm
81L	Acetic acid	0.1 to 10 ppm
81L	Butyric acid	0.1 to 30 ppm
180	Amines	5 to 100 ppm
180L	Amines	0.5 to 5 ppm



圖七、檢知管外觀圖

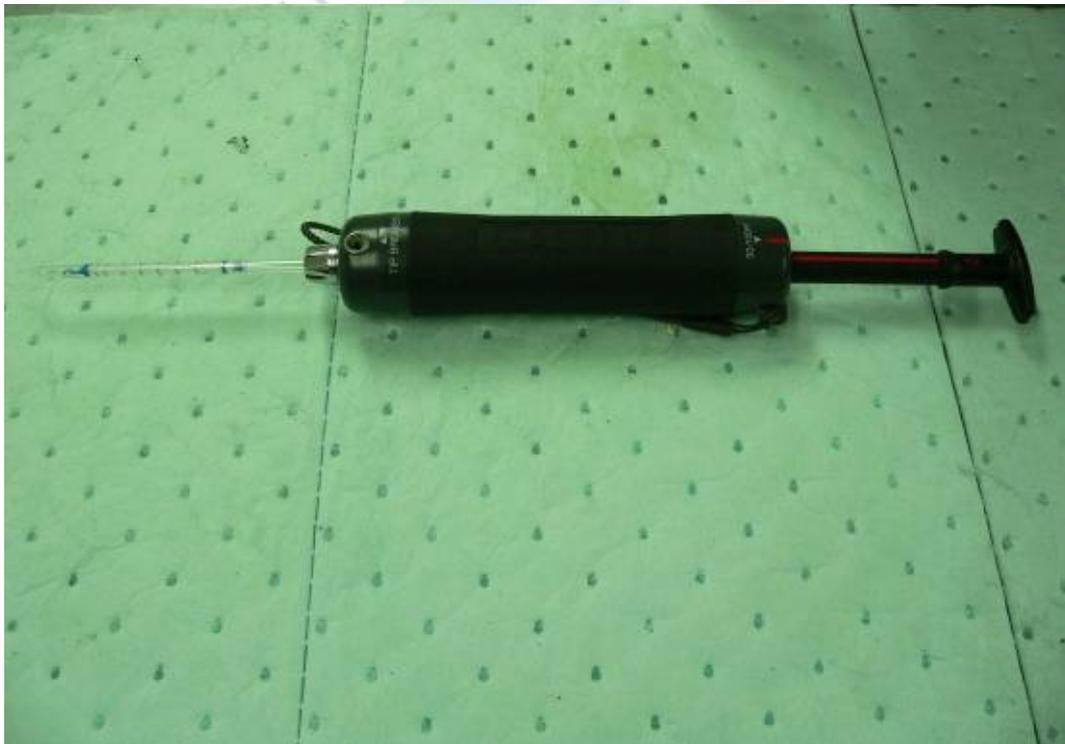


圖八、檢知管細部圖：依照變色程度對照刻度，來判別所偵測的氣體
濃度

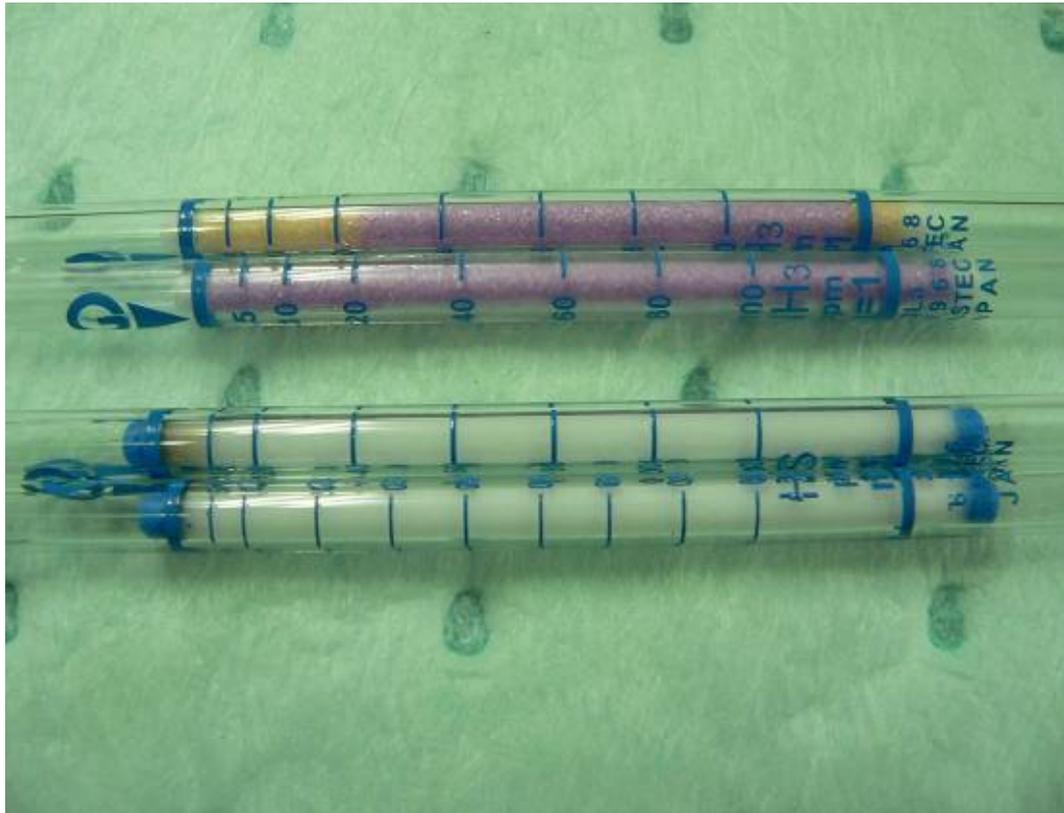
3. 檢知器使用方法:圖九為檢知器使用步驟



圖九 將檢知管與檢知器組裝



續圖九 (1) 抽氣使空氣流入檢知管



續圖九 (2) 讀取變色範圍對照刻度，紀錄數值

4. 檢知管變色原理及使用介紹：

檢知管為一玻璃管，管內填充不同顏色的化學合成物，具有專一性，利用 Gastec GV-100 檢知器抽取空氣，使空氣流經檢知管產生化學反應變色，由變色範圍可以知道空氣中指標氣體的濃度(周, 2004)。

(1) 氨(ammonia):

將氣體流經檢知管，氣體當中氨氣中和磷酸使檢知管由紫色轉為黃色，依照變色範圍測定氨氣濃度，濃度誤差範圍在 5-10%之間

purple → yellow



使用環境限制：

1 溫度:工作溫度為 0 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

溫度(°C)	0	5	10	15	20	25	30	35	40
相關係數	1.35	1.25	1.15	1.07	1.0	0.95	0.9	0.86	0.83

2 溼度: 使用環境 0 - 90%之內不會產生誤差

3 壓力依照使用環境壓力換算, 換算公式為

$$\text{檢測讀值(ppm)} \times 1013(\text{hPa}) / \text{環境氣壓 (hPa)}$$

4 其他氣體影響: 當空氣中 CO₂ 濃度在 1%以上，或者空氣當中有聯氨(hydrazine)或者胺類(amines)會增加 5%的誤差

(2) 胺類(amines):

將氣體流經檢知管，胺類與硫酸作用改變 pH 使檢知管由粉紅轉為黃色，依照變色範圍測定胺類濃度，濃度誤差範圍在 5-10%之間

Pink → Yellow



使用環境限制：

1 溫度:工作溫度為 0 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

溫度(°C)	0	10	20	30	40
相關係數	1.8	1.3	1.0	0.8	0.6

2 溼度: 使用環境 0 - 90%之內不會產生誤差

3 壓力依照使用環境壓力換算, 換算公式為
檢測讀值(ppm) × 1013(hPa) / 環境氣壓 (hPa)

4 其他氣體影響: 空氣中含有聯氨(hydrazine)、苯胺(aniline)、吡啶(pyridine)或氨氣 (ammonia)會增加 5% 的誤差。

(3)乙酸(acetic acid):

將氣體流經檢知管，乙酸中和氫氧化鈉使檢知管由粉紅轉為梨黃色，依照變色範圍測定乙酸濃度，濃度誤差範圍在 5-10% 之間

Pink → Pale yellow

$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H} + \text{Base} \longrightarrow \text{Reaction product}$

使用環境限制：

1 溫度:工作溫度為 0 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

溫度(°C)	0	10	20	30	40
相關係數	1.3	1.1	1.0	0.9	0.8

2 溼度: 使用環境 0 - 80%之內不會產生誤差

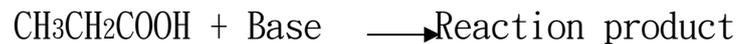
3 壓力依照使用環境壓力換算, 換算公式為
檢測讀值(ppm) × 1013(hPa) / 環境氣壓 (hPa)

4 其他氣體影響: 空氣中含有氯 (chloride)、二氧化硫 (sulfur dioxide)、二氧化氮(nitrogen dioxide)會增加 5%以內的誤差。

(4) 丙酸(butyric acid):

將氣體流經檢知管，丙酸中和氫氧化鈉使檢知管由粉紅轉為梨黃色，依照變色範圍測定丙酸濃度，濃度誤差範圍在 5-10%之間

Pink → Pale yellow



使用環境限制：

- 1 溫度:工作溫度為 0 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

溫度(°C)	0	10	20	30	40
相關係數	1.3	1.1	1.0	0.9	0.8

- 2 溼度: 使用環境 0 - 80%之內不會產生誤差

- 3 壓力依照使用環境壓力換算,

換算公式為檢測讀值(ppm) × 1013(hPa) / 環境氣壓 (hPa)

- 4 其他氣體影響: 空氣中含有氯 (chloride)、二氧化硫(sulfur dioxide)、二氧化氮(nitrogen dioxide)、甲酸(formic acid)會增加 5%以內的誤差。

(5) 硫化氫(hydrogen sulfide):

將氣體流經檢知管，硫化氫與醋酸鉛反應使檢知管由白色轉為棕色，依照變色範圍測定丙酸濃度，濃度誤差範圍在 5-10%之間

White → Brown



使用環境限制：

- 1 溫度:工作溫度為 0 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

溫度(°C)	0	10	20	30	40
相關係數	0.9	0.95	1.0	1.05	1.1

- 2 溼度: 使用環境 0 - 90%之內不會產生誤差

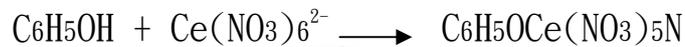
3 壓力依照使用環境壓力換算，
換算公式為檢測讀值(ppm) × 1013(hPa) / 環境氣壓 (hPa)

4 其他氣體影響:除了乙硫醇會造成些微誤差，其餘氣體不會造成影響。

(6)酚(phenol):

將氣體流經檢知管，氣體當中酚與硝酸銻結合使得顏色由梨黃色轉為灰色，依照變色範圍測定酚濃度，濃度誤差範圍在 25%之間

Pale yellow → Gray



使用環境限制：

1 溫度:工作溫度為 10 - 40°C，依照檢測地區溫度將測得數值乘以相關係數來得到正確濃度

Tube Reading (ppm)	True concentration				
	10°C	15°C	20°C	30°C	40°C
25	38	30	25	23	21
20	28	23	20	19	17
15	18	17	15	14	13
10	11	11	10	10	8
5	5	5	5	5	5
3	3	3	3	3	3
1	1	1	1	1	1

2 溼度: 使用環境 0 - 90%之內不會產生誤差

3 壓力依照使用環境壓力換算，換算公式為
檢測讀值(ppm) × 1013(hPa) / 環境氣壓 (hPa)

4 其他氣體影響:空氣當中含有甲酚(cresol)會與硝酸銻結合增加誤差，空氣當中氨(ammonia)以及胺類(amines)超過 2000ppm 也會影響數值的可靠度。

三、藥品及培養基：

1. Agar powder (Bio basic G1212)
2. Beef Extract (Bio basic D0225)
3. Dextrose (石津製藥)
4. Malt Extract (Bio basic G257)
5. Peptone (Bio-Basic No.G211A)
6. Yeast Extract Powder (Himedia RM027)
7. Brain heart infusion agar (Scharlau 12643)
8. Lactobacilli MRS broth (DIFCO 0881)
9. MacKonky agar (Difco 0075)
10. Muller & Hinton agar (Himedia M-173)
11. Molasses culture solution
 - (1) Molasses 20.0 ml
 - (2) Sucrose 25.0 g
 - (3) Glucose 15.0 g
 - (4) Distilled Water 1.0 L
12. Nutrient agar
 - (1) Beef extract 3.0 g
 - (2) Peptone 5.0 g
 - (3) Agar 15.0 g
 - (4) Distilled Water 1.0 L
 - (5) Adjust pH to 7.0
13. YPD Agar
 - (1) Yeast extract 10.0 g
 - (2) Peptone 20.0 g
 - (3) Dextrose 20.0 g
 - (4) Agar 15.0 g
 - (5) Distilled Water 1.0 L

14. 甘油保存液

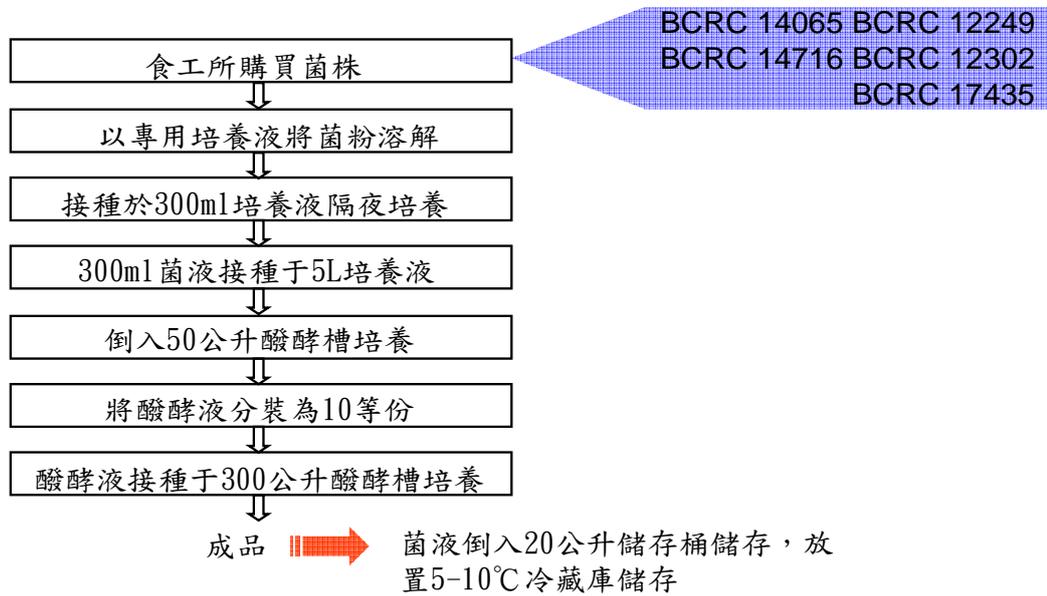
- (1) 65% (v/v) glycerol
- (2) 0.1M MgSO₄
- (3) 0.025 M Tris-Cl, pH 8.0



四、實驗方法：

1. 益生菌培養：

- a. 利用食品工業研究所購買的乳酸菌菌株，*Lactobacillus acidophilus* (BCRC14065)、*Lactobacillus casei. subsp. rhamonus* (BCRC12249)、兩株枯草菌 *Bacillus Subtilis* var. Natto (BCRC 14716)、*Bacillus Subtilis* var. Natto (BCRC 17435) 以及益生菌 *Enterococcus faecium* (BCRC 12302) 等五株菌株，將冷凍乾燥菌粉以專用培養液稀釋(附錄 B)，將其分別培養於液體培養基以及固體培養基上，並將剩餘的菌液以甘油冷凍液於-20°C 下冷凍保存(附錄 A)。
- b. 將菌株接種至 5 公升培養液培養，經過 48 小時使微生物飽和，與糖蜜培養液 45 公升混合成 50 公升醱酵液，利用醱酵槽依照食工所提供各菌種培養條件培養 72 小時醱酵產生菌液。
- c. 再將 50 公升混合液取出 10 公升，倒入 300 公升醱酵槽，以糖蜜培養液培養 72 小時。
- d. 以 pH 儀檢測醱酵液是否醱酵完成，當 pH 小於 3. 顯示醱酵液醱酵完成。
- e. 將各種醱酵菌液從醱酵槽漏存膠桶中，即完成益生菌菌液。
- f. 將各益生菌液以等比例混合，並將菌液倒入 20 公升儲存桶儲存，將儲存桶放置 5-10°C 冷藏庫儲存。
- g. 混合菌液濃度為 3.2×10^8 CFU/ml



圖十、益生菌醱酵培養流程圖



圖十一、五十公升醱酵槽



圖十二、300 公升益生菌醱酵槽



圖十三、將醱酵液分裝於 20 公升儲存桶，置於 5-10°C 冷藏庫儲存

五、實驗室測試:

1. 對峙培養試驗:

利用所選用的益生菌，進行對峙培養試驗，實驗方法參考臨床微生物診斷學(蔡, 2002)，瓊脂紙錠擴散實驗。實驗以 *E. coli* 為抑制對象，方法是利用培養好的菌液，利用分光光度儀以波長 OD₆₀₀ 將其設定為 0.8，超過的以生理食鹽水稀釋，使其菌數約略相等。將無菌棉棒沾上 *E. coli* 菌液並且塗滿 Muller-Hinton agar plate，並將沾上試驗菌液的紙片放置中心，觀察生長情形。

2. 空氣臭味抑制實驗:

(1) 選擇指標氣體:

養豬場臭味濃度與揮發性脂肪酸(VFAs)濃度強弱有相關，當 VFAs 濃度越高整體臭味的濃度也一起增加(John, 2005)。在 VFAs 當中乙酸(acetic acid)以及木酸(propionic acid)分別佔有總量的 70%以及 20%左右(Jun *et al.* 1999)。除此之外硫化氫(H₂S)、氨(NH₃)以及胺類(amines)等也有同樣的關係(McCrory *et al.*, 2001)，而來自 VFAs 臭味不完全跟 VFAs 總濃度有線性關係，但與丙酸(butyric acid)有線性關係(Kenneth *et al.*, 2007)。利用與空氣臭度增減具有相關性的氣體來分析空氣臭味抑制情形。

以下為所選擇的指標氣體:

氨(ammonia)

胺類(amines)

乙酸(acetic acid)

丙酸(butyric acid)

硫化氫(hydrogen sulfate)

酚(phenol)

以上幾種氣體為豬舍中豬糞尿分解過程中所產生的氣體，

且與臭味濃度有相關性，可做為指標性氣體。實驗方法以及儀器檢測方法則參考多方先進論文(傅, 1999; 梁, 1997; 張, 2004)。

(2) 尿液、糞便臭味抑制測試

將養豬場母豬舍所採集而得的糞便以及尿液裝入經高壓滅菌處理血清瓶中，並將其分為六項，觀察添加益生菌對於糞便以及尿液所產生的臭味指標氣體增減情形。為了減少實驗誤差，因此將實驗物品在無菌操作台，打開瓶蓋曝氣 10 分鐘，使待測物的起始濃度能夠彼此接近，測完起始濃度之後，將實驗物品放在 37°C 培養箱培養 5 天。實驗進行三重複，將所做實驗數據平均做成圖表，增加準確度。

實驗共分六項分別為：

1 益生菌在尿液中所產生臭味之分析：

測試益生菌添加在尿液當中是否會產生臭味氣體，將尿液以高溫高壓滅菌處理，由於尿液當中沒有微生物，不會分解蛋白質產生臭味氣體，因此作為對照組。尿液來源為母豬舍新鮮尿液，尿液取得後在三十分鐘內進行實驗。實驗分為兩組，對照組為滅菌後尿液，實驗組為無菌尿液添加 1 ml 益生菌液，測試益生菌在無菌尿液當中培養五天後，血清瓶內指標氣體濃度變化量，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖表。

2 添加益生菌對於抑制尿液產生臭味分析：

測試益生菌添加在尿液當中是否能夠抑制臭味氣體的產生，由於尿液並沒有經過無菌處理，尿液會經由微生物分解產生臭味，藉由額外添加益生菌來抑制其他雜菌增生，達到抑制臭味的目的。尿液來源為母豬舍新鮮尿液，尿液取得後在三十分鐘內進行實驗。實驗分為兩組，對照組為新鮮尿液，實驗組為尿液添加 1 ml 益生菌液，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖

表。

3 益生菌在糞便中所產生臭味之分析：

測試益生菌添加在糞便當中是否會產生臭味氣體，糞便來源為母豬舍新鮮糞便，取得後在三十分鐘內進行實驗。糞便用高溫高壓滅菌處理，處理之後的糞便不會額外的產生臭味氣體，因此作為對照組。實驗分為兩組，對照組為滅菌處理糞便，實驗組為糞便添加 1 ml 益生菌液，以無菌玻棒攪拌均勻混合。測試益生菌在無菌糞便當中培養五天後，血清瓶內指標氣體濃度變化量，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖表。

4 添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析：

測試益生菌添加在糞便當中是否能夠抑制臭味氣體的產生，糞便來源為母豬舍新鮮糞便，取得後在三十分鐘內進行實驗。實驗分為兩組，對照組為新鮮母豬糞便，實驗組為糞便添加 1 ml 益生菌液，以無菌玻棒攪拌均勻混合。由於糞便並沒有經過無菌處理，糞便會經由微生物分解產生臭味，因此藉由添加益生菌來抑制其他雜菌增生，達到抑制臭味的目的。將糞便放置在血清瓶中，並置於培養箱培養五天，偵測血清瓶內指標氣體濃度變化量，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖表。

5 益生菌在糞尿混合液中所產生臭味之分析：

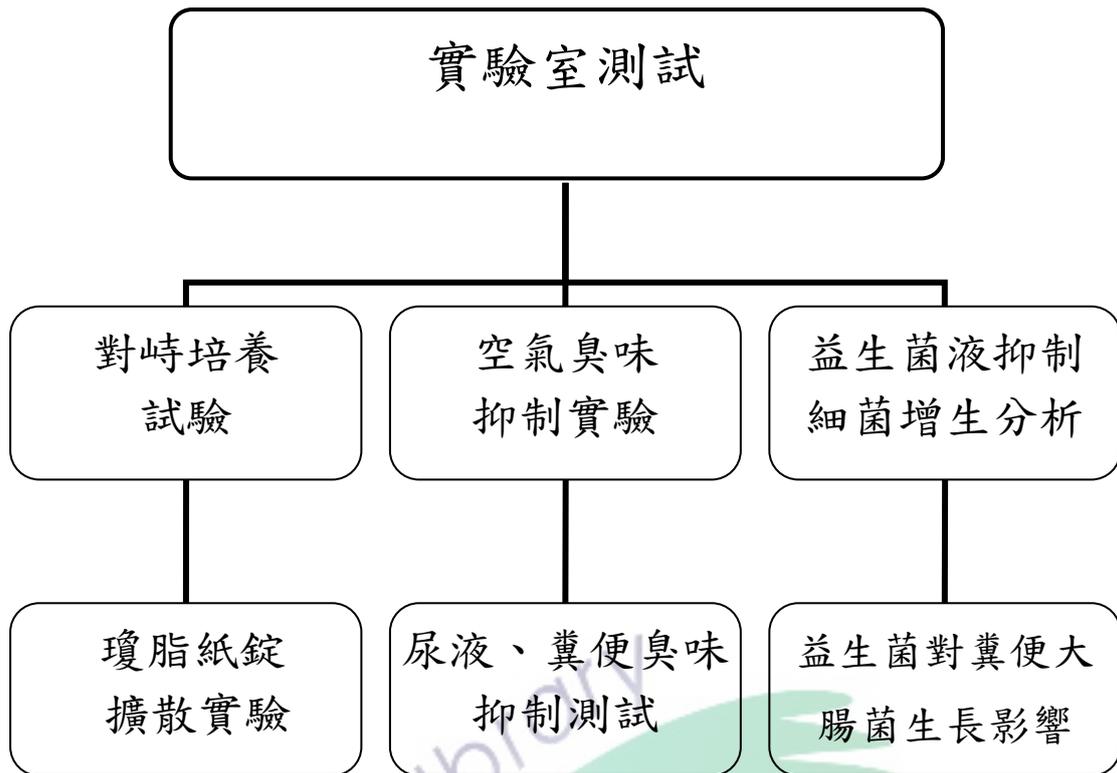
養豬場豬隻所產生的排泄物，在清洗豬舍的時候，會混在一起呈現泥漿狀態，因此有必要討論當糞尿混在一起時益生菌是否會產生臭味氣體，以及是否能夠有效的抑制其他雜菌所產生的臭味氣體。本實驗是將糞便以及尿液 50:50 g/v 混合，放入血清瓶，並加以高溫高壓滅菌處理，糞便以及尿液來源為母豬舍新鮮糞尿，取得後在三十分鐘內進行實驗。對照組為滅菌後的糞尿混合

液，實驗組則是糞尿混合液並添加 1ml 的益生菌，並置於培養箱培養 5 天，觀察血清瓶中濃度變化情形，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖表。

6 添加益生菌對於抑制糞尿混合液產生臭味分析：

本實驗討論當糞尿混在一起時益生菌是否能夠有效的抑制其他雜菌所產生的臭味氣體。將糞便以及尿液 50:50 g/v 混合，放入血清瓶，糞便以及尿液來源為母豬舍新鮮糞尿，取得後在三十分鐘內進行實驗。對照組為母豬舍的糞尿混合液，實驗組則是糞尿混合液並添加 1ml 的益生菌，並置於培養箱培養 5 天，觀察血清瓶中濃度變化情形，實驗進行三重複，以所做實驗數據平均值做成圖表。





圖十四、實驗室測試架構圖



圖十五、尿液、糞便臭味抑制測試架構圖



圖十六、利用血清瓶測試進行尿液臭味抑制試驗



圖十七、利用血清瓶測試進行糞便臭味抑制試驗

3. 益生菌液對於大腸菌生長影響

將益生菌混合液，與母豬舍糞便混合，觀察益生菌對於糞便中大腸菌生長影響。糞便來源為母豬舍的糞便，實驗前先測定所採集的糞便每公克的含菌量，並將糞便分為兩組，每組糞便重量為 5g，分別為糞便、糞便加上 100 μ L 無菌水、糞便加上 100 μ L probiotics，以及糞便加上 1mL 無菌水、糞便加上 1mL probiotics，而後將實驗物品放置於 37°C 培養箱培養 3 天，實驗進行三重複，並觀察大腸菌菌落生長情形，並計算成長倍率。

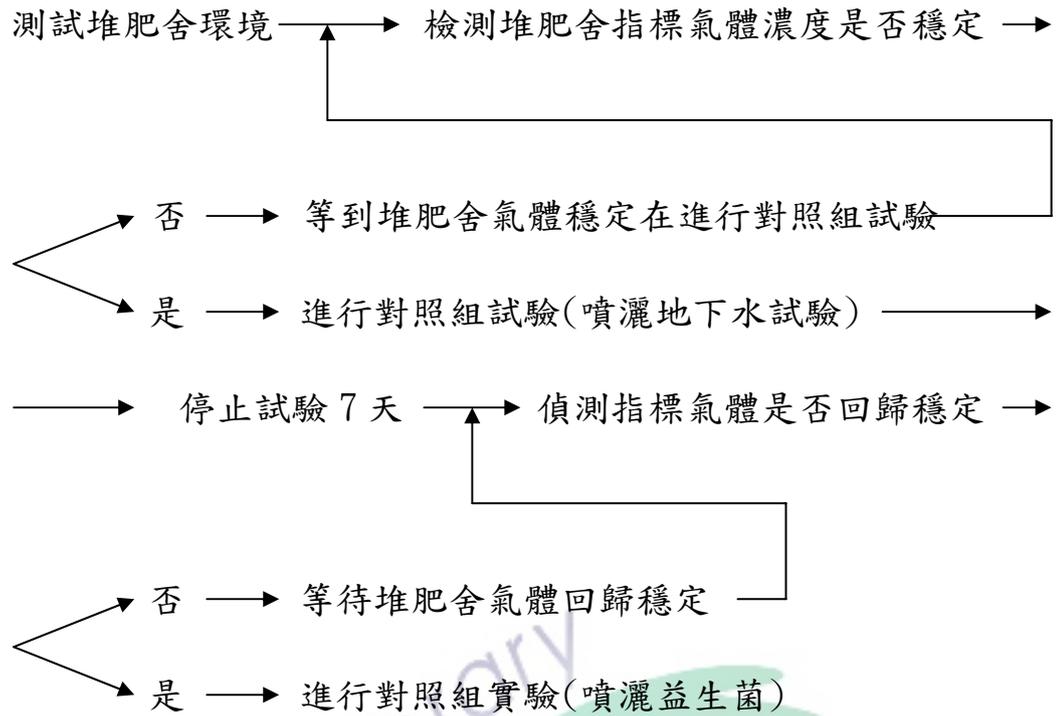


六、 野外測試

1. 堆肥舍測試

堆肥舍為一穩定密閉環境，溫度以及溼度都變動較小，溫度約在 21-22°C，溼度則保持在 68-70 度之間，氣體濃度穩定，為測試理想場所。實驗設定一對照組，一實驗組。對照組為單純灑水測試，測試方法是以動力噴霧機經由 1000 公升儲水桶將地下水由噴霧器噴灑至堆肥舍當中，噴灑時間為一分鐘，出水量為 24.6 L/min，實驗時間為期 5 天。由於使用的水量較大，無法以無菌水測試，因此使用地下水代替，地下水的含菌量為 8 CFU/100ml，大腸菌則是未被檢驗出來。每日早上 10 點以及下午 5 點進行噴灑，測量時間則是每日早上 8 點以及 6 點，將氣體濃度變化量予以紀錄。

實驗組實驗方法與對照組實驗方法概略相同，堆肥舍在經過對照組試驗之後，先停止實驗 7 天，並以檢知管偵測氣體濃度直到濃度不再有變動情形為止。之後將 20 公升混合益生菌液投入 1000 公升儲水桶，將菌液由 20 公升稀釋至 1000 公升，此時菌液濃度約為 6.4×10^7 cfu/ml。再將稀釋後的益生菌液噴灑於堆肥舍當中，噴灑時間與條件與空白組相同，噴灑時間為一分鐘，出水量為 24.6 L/min，每日早上 10 點以及下午 5 點進行噴灑，測量時間則是每日早上 8 點以及 6 點連續噴灑 5 天，將氣體濃度變化量予以紀錄。



圖十八、堆肥舍臭味濃度測試流程圖



圖十九、益生菌噴灑裝置圖，分別為 1000 公升儲水桶以及噴霧器



圖二十、密閉式堆肥舍外觀圖



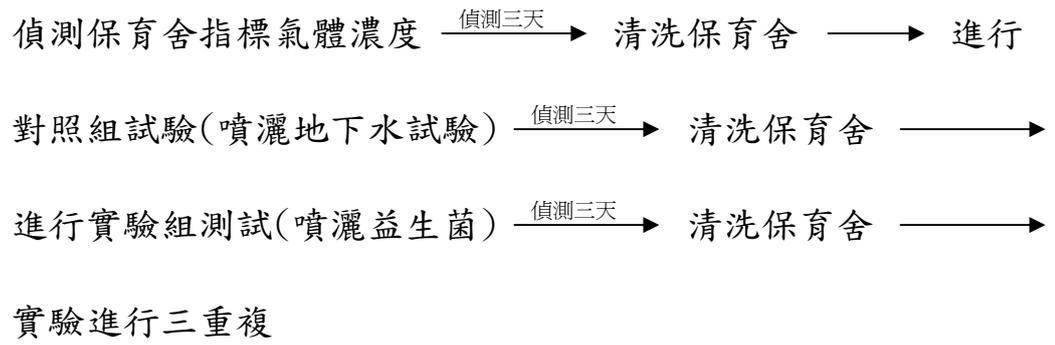
圖二十一、堆肥舍內部，頂部設有噴水頭可將液體平均噴灑於室內

2. 保育舍測試

保育舍為離乳幼豬開始獨立生活的地方，為一半密閉空間，由於仔豬抵抗力較弱，保育舍床面有空隙使糞便不會堆積在床面，因此可以保持床面清潔，使疾病不易發生。由於保育舍清洗時間間隔較長，相較於種豬區、母豬區、高床區、以及產房等，臭味條件相對穩定，因此挑選為測試地點。

實驗分為三組，空白組、對照組以及實驗組。空白組只偵測保育舍氣體，不做任何處理。對照組則是將地下水噴灑於保育舍當中，地下水的含菌量為 8 CFU/100ml，大腸菌則是未被驗出。噴灑時間為一分鐘，出水量為 24.6 L/min。每日上午 9 時先偵測保育舍的氣體濃度，10 時進行噴灑，下午 5 時偵測噴灑後濃度差異。

實驗組實驗方法則是將 20 公升混合益生菌液投入 1000 公升儲水桶，將菌液由 20 公升稀釋至 1000 公升，此時菌液濃度約為 6.4×10^7 cfu/ml。再將稀釋後的益生菌液噴灑於保育區當中，噴灑時間為一分鐘，出水量為 24.6 L/min。每日上午 9 時先偵測保育舍的氣體濃度，10 時進行噴灑，下午 5 時偵測噴灑後濃度差異，實驗進行三重複，以數據平均值作成圖表，增加準確度。



圖二十二、保育舍臭味濃度測試流程圖



圖二十三、保育舍外觀圖



圖二十四、保育舍內部圖

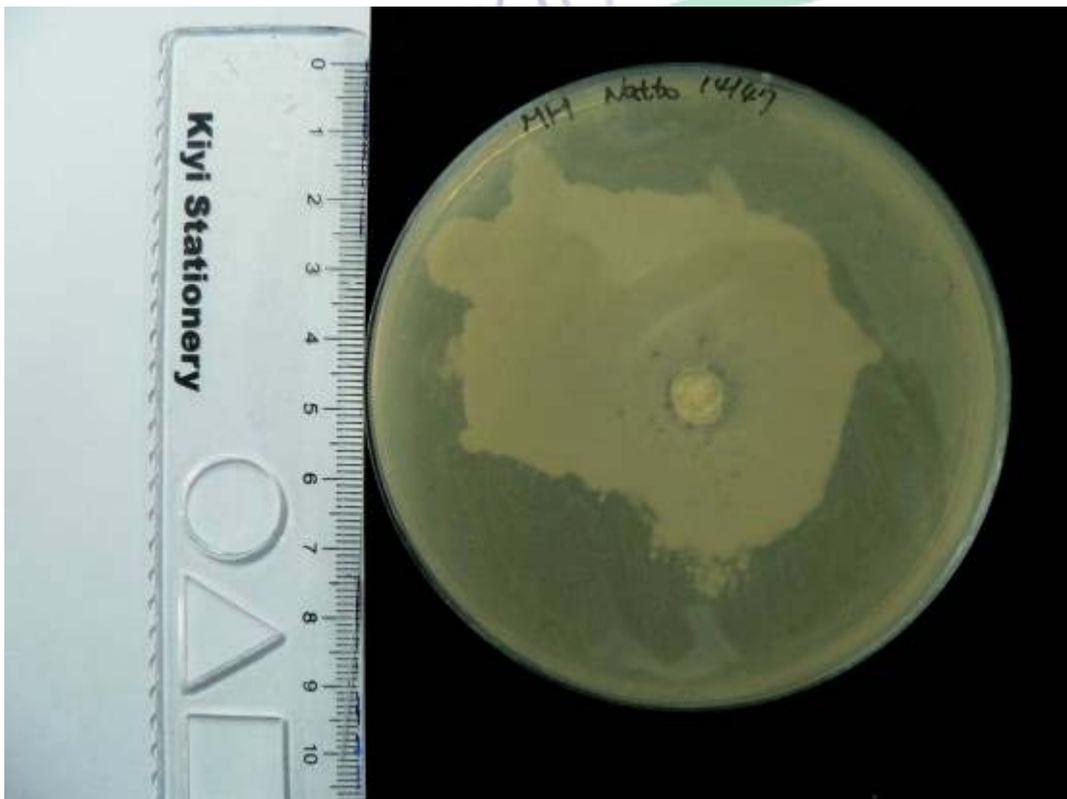


圖二十五、保育舍細部，由於保育舍清洗時間較長，因此床下會有糞便殘留，可以提供穩定的臭味來源

肆、實驗結果

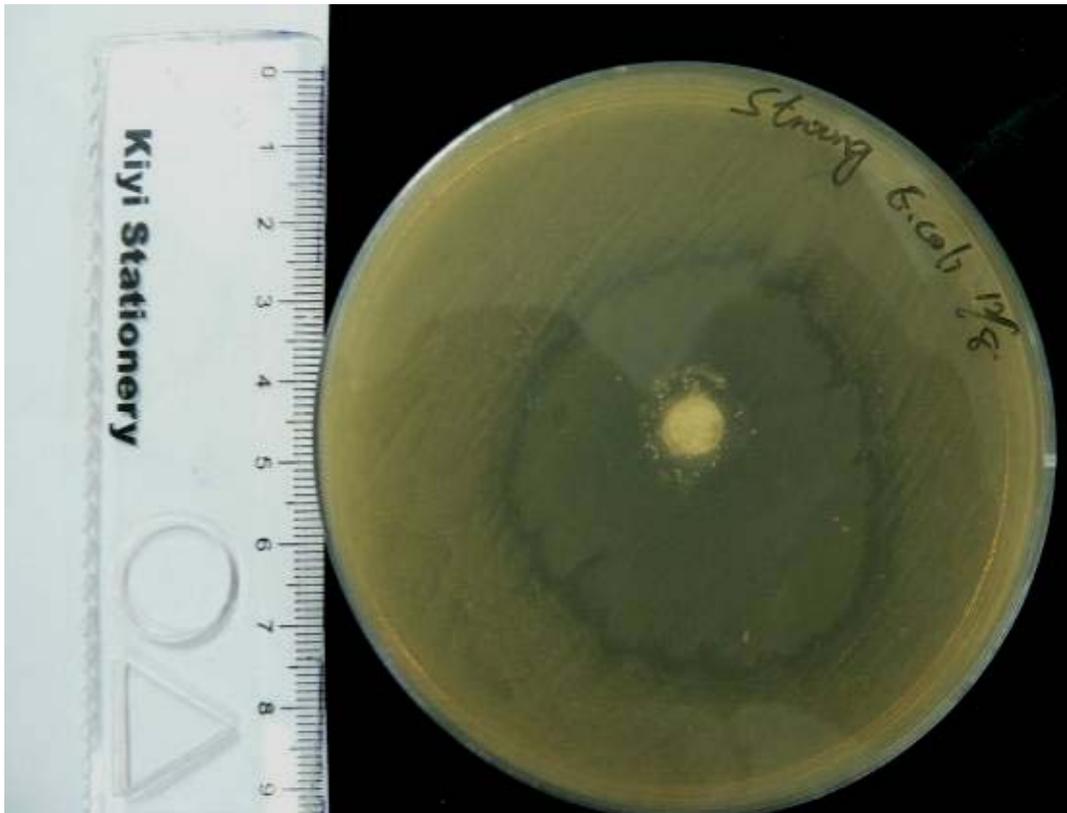
一、對峙培養試驗：

益生菌與 *E. coli* 進行對峙培養試驗結果，圖二十六為枯草菌 *Bacillus subtilis* var. *Natto* (BCRC 14716)，由於枯草菌具有游走性質，因此會產生向外擴張而成為不規則菌落，將枯草菌生長範圍內的菌落挑出，並利用革蘭氏染色(Gram stain)進行鏡檢，結果顯示為純菌株，無其他雜菌交雜其中，因此枯草菌生長擴散範圍內皆無 *E. coli* 生長，推斷該株菌株具有抑制 *E. coli* 增生效果。



圖二十六、枯草菌 *Bacillus subtilis* var. *Natto* (BCRC 14716)對峙培養情形，無明顯抑制環產生，枯草菌生長範圍內，*E. coli* 無法生長

圖二十七則為枯草菌 *Bacillus subtilis* var. *Natto* (BCRC 17435) 對峙培養結果，除了因為具有游走特性而產生不規則菌落之外，並且產生一圈明顯的抑菌環，抑菌環的寬度為 2 ± 0.5 mm。將枯草菌生長範圍內的菌落挑出，並利用革蘭氏染色(Gram stain)進行鏡檢，結果顯示為純菌株，無其他雜菌交雜其中，因此枯草菌生長擴散範圍內皆無 *E. coli* 生長。



圖二十七、枯草菌 *Bacillus subtilis* var. *Natto* (BCRC 17435) 對峙培養情形，具有明顯抑制環產生，枯草菌生長範圍內，*E. coli* 無法生長

圖二十八則為益生菌 *Enterococcus faecium* (BCRC 12302) 對峙培養結果，抑菌環寬度為 4 ± 1 mm。



圖二十八、*Enterococcus faecium* (BCRC 12302) 對峙培養結果

圖二十九為乳酸菌 *Lactobacillus acidophilus* (BCRC14065) 對峙培養結果，抑菌環呈現不規則狀，寬度約為 1.5 ± 0.5 mm 不等，*acidophilus* 能夠分泌過氧化氫的抗菌物質，具有抗菌作用。



圖二十九、乳酸菌 *Lactobacillus acidophilus* (BCRC14065) 對峙培養結果

圖三十為乳酸菌 *Lactobacillus casei. subsp. rhamonus* (BCRC12249) 對峙培養結果，抑菌環產生較不明顯，但仍然有抑制 *E. coli* 效果，寬度約為 3 ± 0.5 mm，此株細菌能夠分泌大量的酸性物質，因此可以有效酸化豬舍環境，讓豬場環境當中雜菌較不容易增生。



圖三十、乳酸菌 *Lactobacillus casei. subsp. rhamonus* (BCRC12249) 對峙培養結果

二、空氣臭味抑制實驗

1. 益生菌對於臭味抑制測試

(1) 益生菌在尿液中所產生臭味之分析

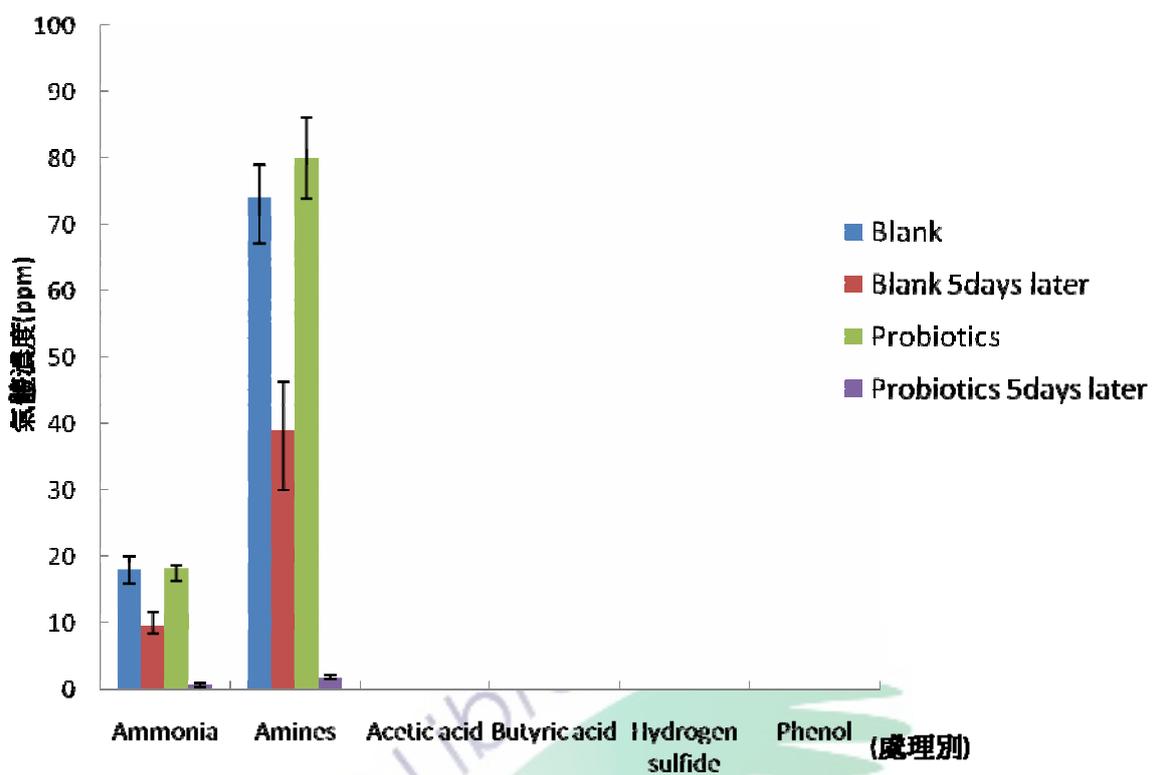
將益生菌添加在無菌消毒處理過的尿液當中，實驗進行三重複，並將數據平均做成圖表。經由五天的培養，氨氣以及胺類氣體濃度不論是實驗組以及對照組皆下降，而實驗組氨氣及胺氣的氣體濃度下降幅度則較對照組大。氣體濃度下降的原因在於氨氣以及胺氣經由一段時間之後會轉化為含氮化合物，造成測試時氣體濃度下降的情形。乙酸、丙酸、硫化氫以及酚等指標氣體，經由五天之後，氣體濃度沒有明顯上升情形，所以氣體濃度皆低於偵測下限 0.05ppm 以下。

表六、益生菌在尿液中所產生臭味濃度分析

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics
Blank	0g	100ml	Yes	Not added
Test	0g	100ml	Yes	1ml

	Blank	Blank	Test	Probiotics	Probiotics
	Blank	(5 days later)	Test	Probiotics	(5 days later)
	(ppm)	(ppm)		(ppm)	(ppm)
Ammonia	18	9.7	Ammonia	18.3	0.7
Amines	74.3	39	Amines	80	2
Acetic acid	—	—	Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—	Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—	Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—	Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



圖三十一、益生菌在無菌尿液臭味產生分析

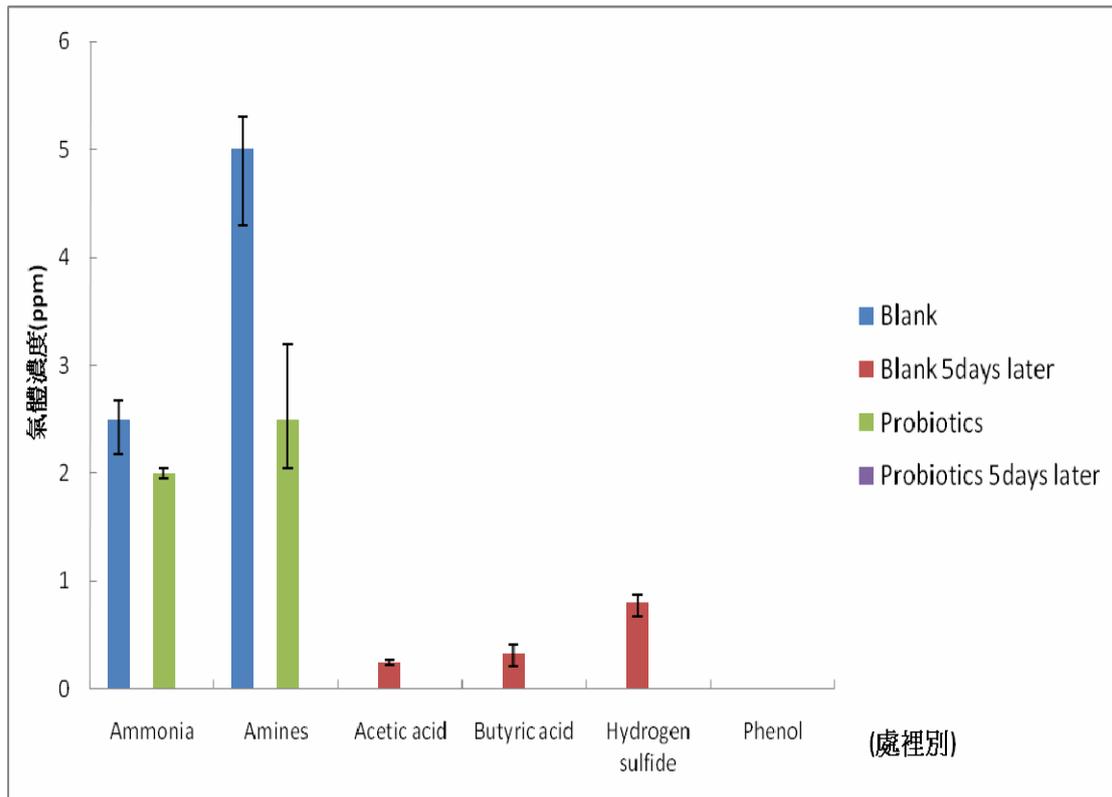
(2) 添加益生菌對於抑制尿液產生臭味分析

將益生菌添加在母豬尿液當中，尿液不經由滅菌處理，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表，經由五天的培養，偵測氣體濃度。經由實驗測試，對照組以及實驗組氨氣以及胺類氣體濃度皆下降至檢知管最低偵測極限 0.5ppm 以下。空白組在乙酸、丙酸以及硫化氫等氣體方面，經過五天之後，氣體濃度皆有上升的情形。而額外添加乳酸菌的實驗組尿液，所測得的氣體濃度都皆低於檢知管下限 0.05 ppm，相對於對照組，具有抑制臭味產生的功能。

表七、添加益生菌對於抑制尿液臭味濃度分析

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics
Blank	0g	100ml	No	Not added
Test	0g	100ml	Yes	1ml
Blank	Blank	Blank	Test	Probiotics
	(ppm)	(5 days later) (ppm)		(ppm)
Ammonia	3	—	Ammonia	2
Amines	4.7	—	Amines	3.4
Acetic acid	—	0.28	Acetic acid	—
Butyric acid	—	0.37	Butyric acid	—
Hydrogen sulfide	—	0.73	Hydrogen sulfide	—
Phenol	—	—	Phenol	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



圖三十二、益生菌在對於抑制尿液臭味產生分析

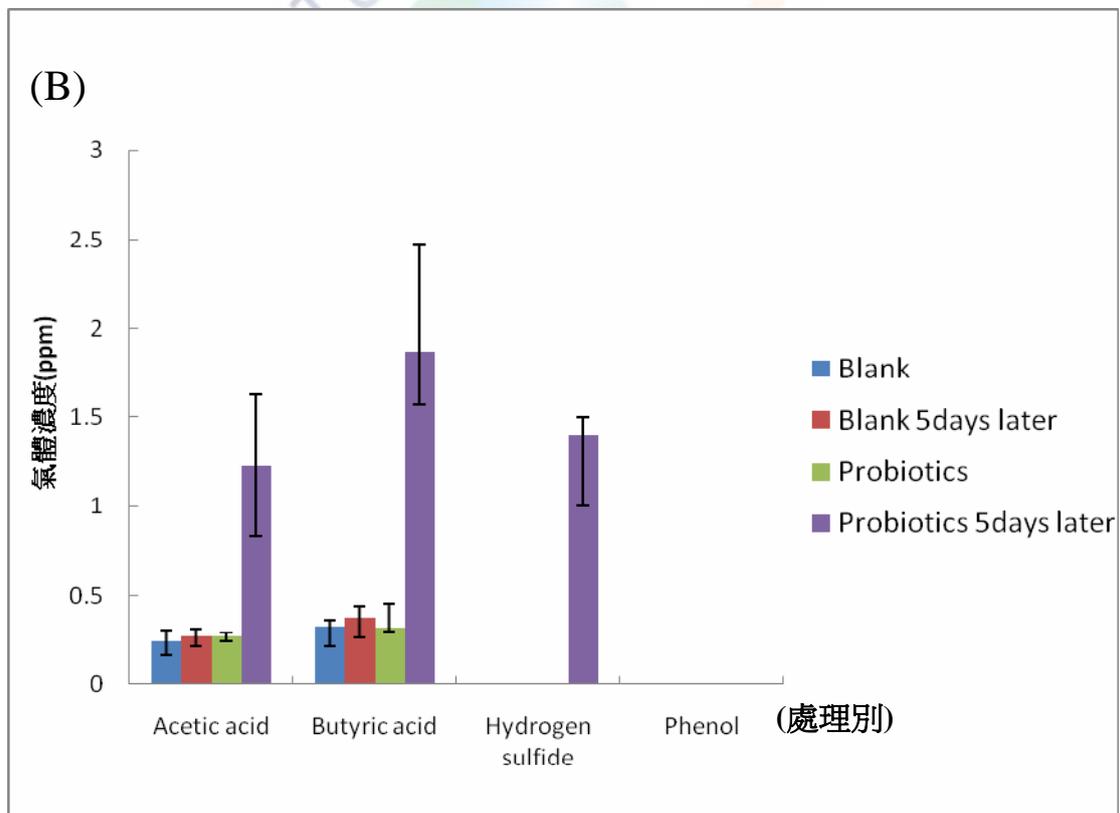
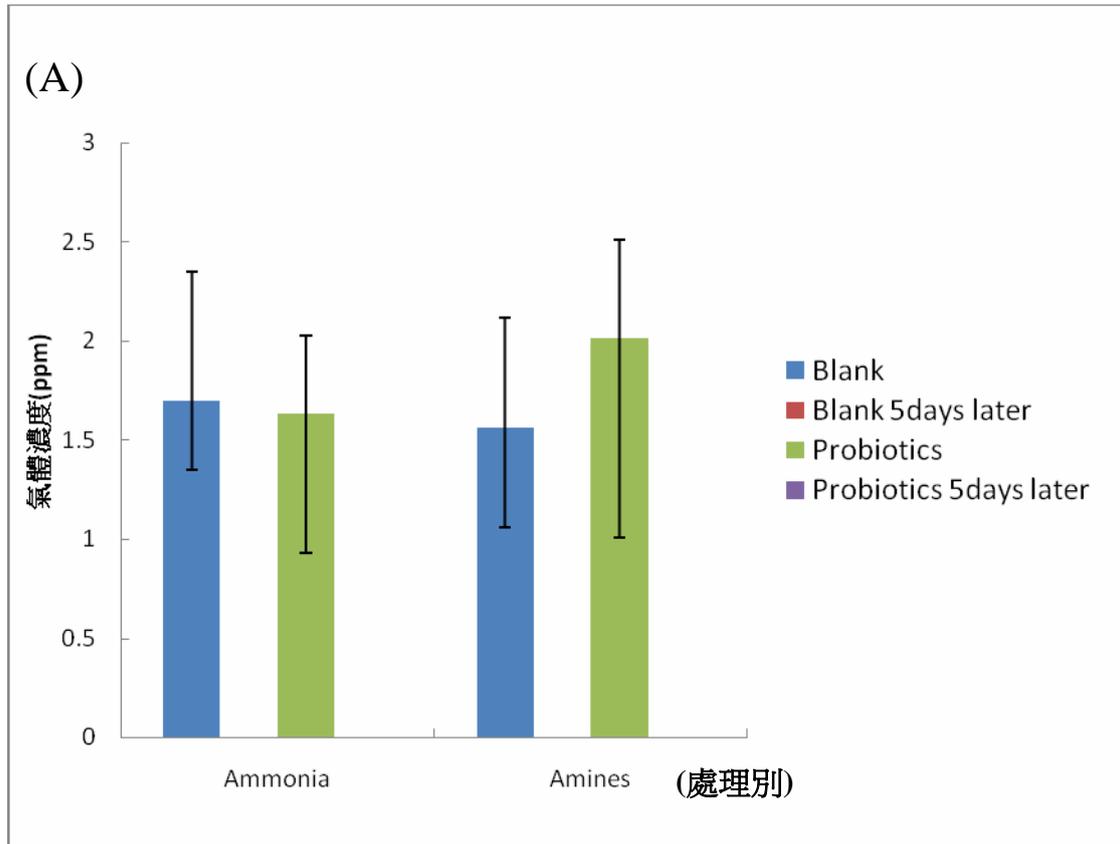
(3) 益生菌在糞便中所產生臭味之分析

將益生菌添加在無菌消毒處理過的糞便當中，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表。經由五天的培養，偵測氣體濃度。由數據顯示，氨氣以及胺類氣體濃度無論是對照組以對照組氣體濃度皆有下降。此外比較其他氣體，在實驗組方面，乙酸、丙酸以及硫化氫等氣體，皆有升高的情形，濃度升高大約在 1 - 1.5 ppm 之間，相對於對照組來說，臭味濃度有稍微增高的趨勢，由此試驗可以了解，添加了益生菌仍然會產生少量的臭味氣體。

表八、益生菌在糞便中所產生臭味濃度分析

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics	
Blank	100g	0ml	Yes	Not added	
Test	100g	0ml	Yes	1ml	
Blank	Blank	Blank	Test	Probiotics	
	(ppm)	(5 days later) (ppm)		(ppm)	
				(5 days later) (ppm)	
Ammonia	1.7	—	Ammonia	1.63	—
Amines	1.56	—	Amines	2.01	—
Acetic acid	0.241	0.27	Acetic acid	0.27	1.23
Butyric acid	0.33	0.38	Butyric acid	0.32	1.87
Hydrogen sulfide	—	—	Hydrogen sulfide	—	1.4
Phenol	—	—	Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



圖三十三、益生菌在糞便中所產生臭味之分析

(4) 添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析

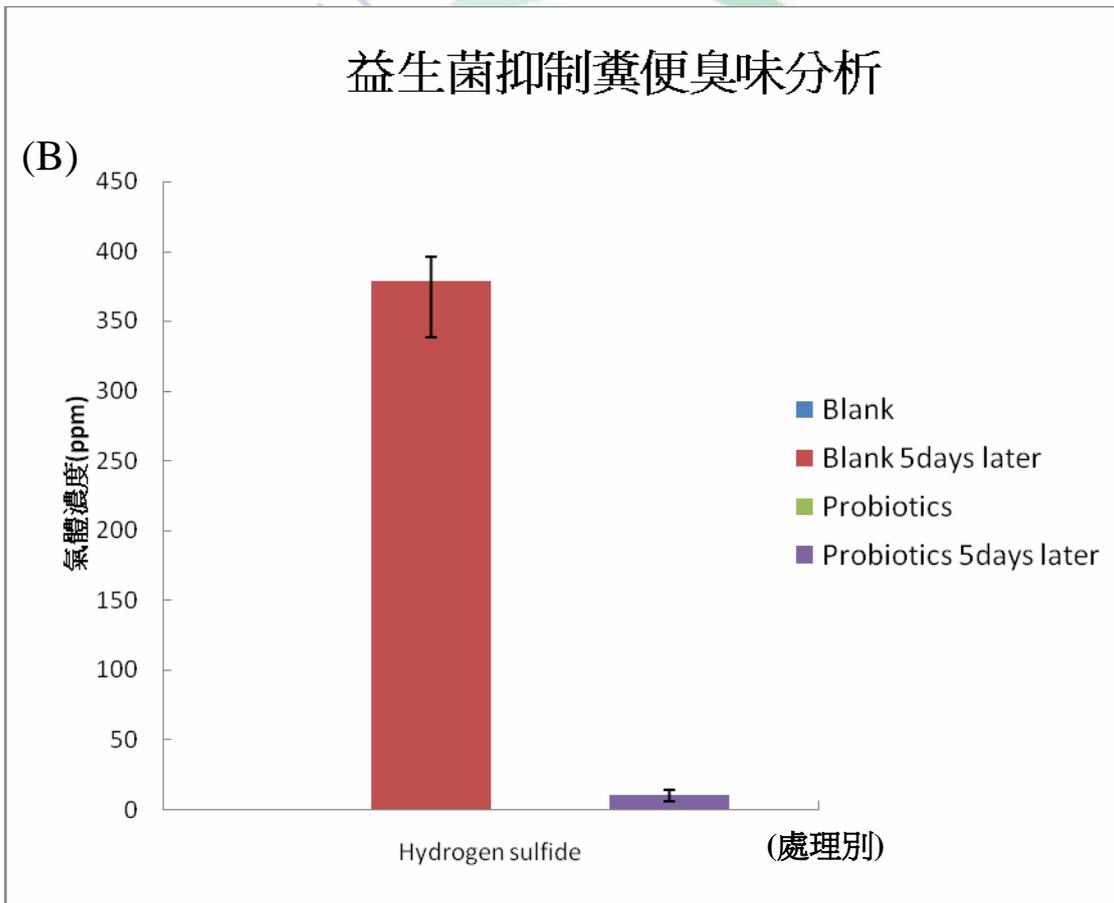
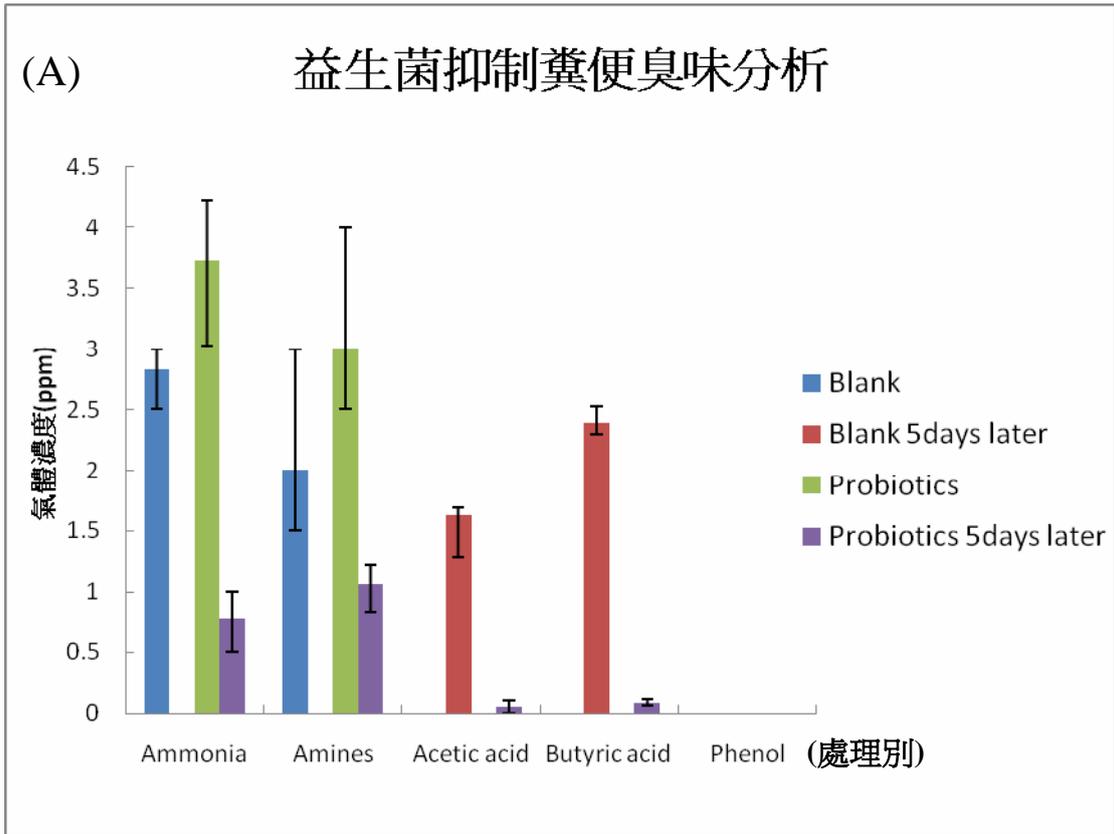
將益生菌添加在母豬糞便當中，糞便不經由滅菌處理，放在培養箱培養 5 天，偵測氣體濃度，實驗進行三重複，將數據平均做成圖表。經由偵測結果，無論是對照組或者是實驗組，氨氣以及胺類氣體濃度皆有下降，但是下降程度不一，對照組氣體濃度降到偵測極限以下，而試驗組則是下降至原來濃度一半左右。

此外比較乙酸、丙酸以及硫化氫等氣體，可以明顯的看出兩者的差異，添加益生菌處理的糞便，乙酸以及丙酸氣體濃度明顯較低，只有在 0.1 ppm 左右，而添加益生菌的糞便硫化氫氣體濃度與對照組相較，更只有對照組濃度的 1/20 左右，因此抑制臭味產生的效果可說是非常明顯。

表九、益生菌對於抑制糞便產生臭味濃度分析

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics	
Blank	100g	0ml	No	Not added	
Test	100g	0ml	No	1ml	
	Blank			Probiotics	
	Blank	(5 days later)	Test	Probiotics	(5 days later)
	(ppm)	(ppm)		(ppm)	(ppm)
Ammonia	2.83	—	Ammonia	3.73	0.77
Amines	2	—	Amines	3	1.07
Acetic acid	—	1.63	Acetic acid	—	0.05
Butyric acid	—	2.39	Butyric acid	—	0.08
Hydrogen sulfide	0.133	379	Hydrogen sulfide	0.2	11.33
Phenol	—	—	Phenol	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



圖三十四、益生菌對於抑制糞便產生臭味分析

(5) 添加益生菌在糞尿混合液產生臭味分析

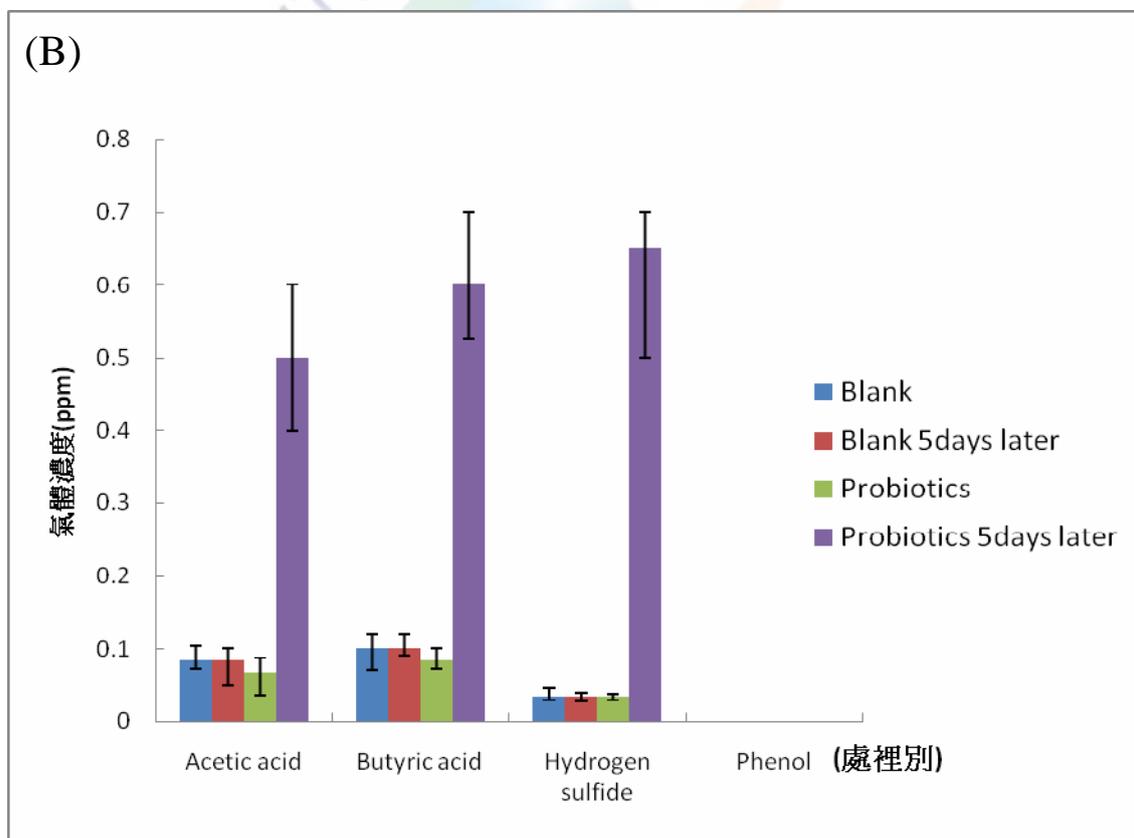
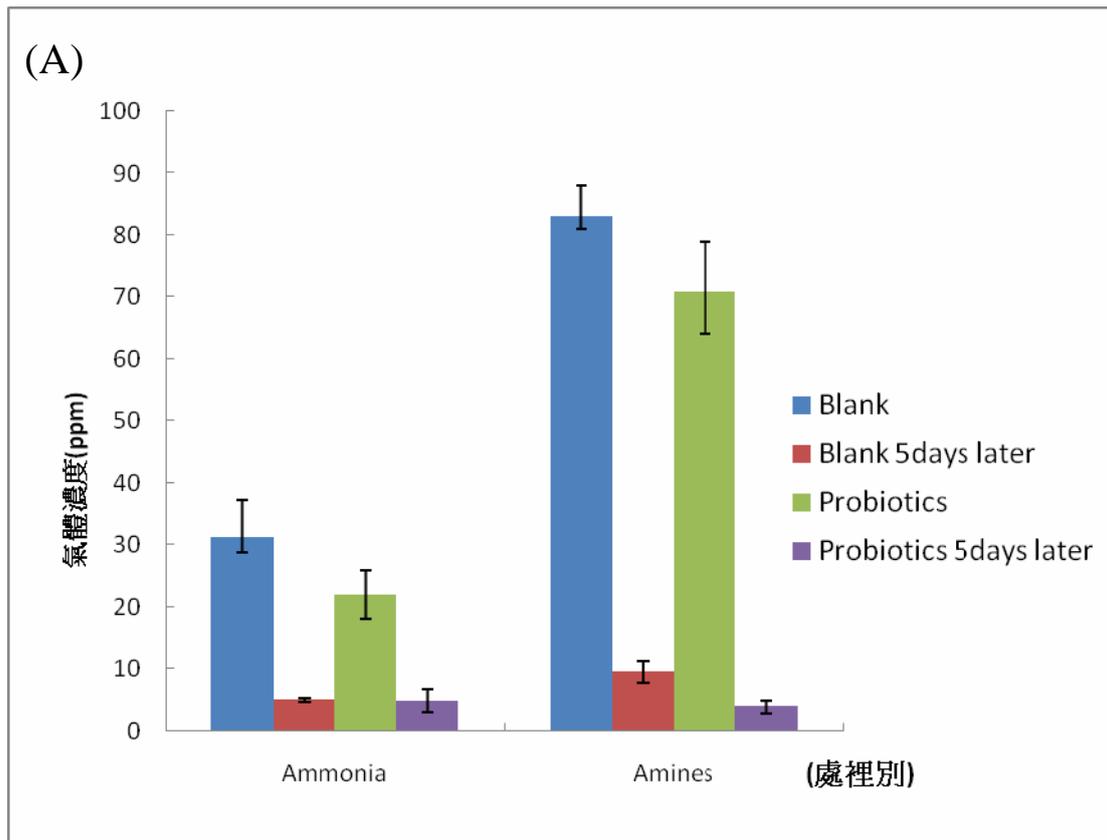
將糞便與尿液 50:50 g/v 混合，放入血清瓶加以高壓滅菌處理，放在培養箱培養 5 天，偵測氣體濃度，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表。由圖三十三(A)可以觀察出不論是對照組或試驗組，氨氣以及胺類氣體濃度皆有下降。

圖三十三(B)則顯示，在無菌糞尿混合液中添加了益生菌，則乙酸、丙酸以及硫化氫等指標氣體，濃度皆有升高的情形，濃度增加大約為 0.35 - 0.45 ppm 左右。

表十、益生菌在糞尿混合液產生臭味濃度分析

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics
Blank	50g	50ml	Yes	Not added
Test	50g	50ml	Yes	1ml
Blank	Blank	Blank	Test	Probiotics
	(ppm)	(5 days later) (ppm)		(5 days later) (ppm)
Ammonia	31.333	5.1	Ammonia	22
Amines	83	9.666	Amines	71
Acetic acid	0.083	0.083	Acetic acid	0.066
Butyric acid	0.1	0.1	Butyric acid	0.083
Hydrogen sulfide	0.033	0.033	Hydrogen sulfide	0.033
Phenol	—	—	Phenol	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



圖三十五、益生菌在糞尿混合液產生臭味分析

(6) 益生菌抑制糞尿混合液臭味測試

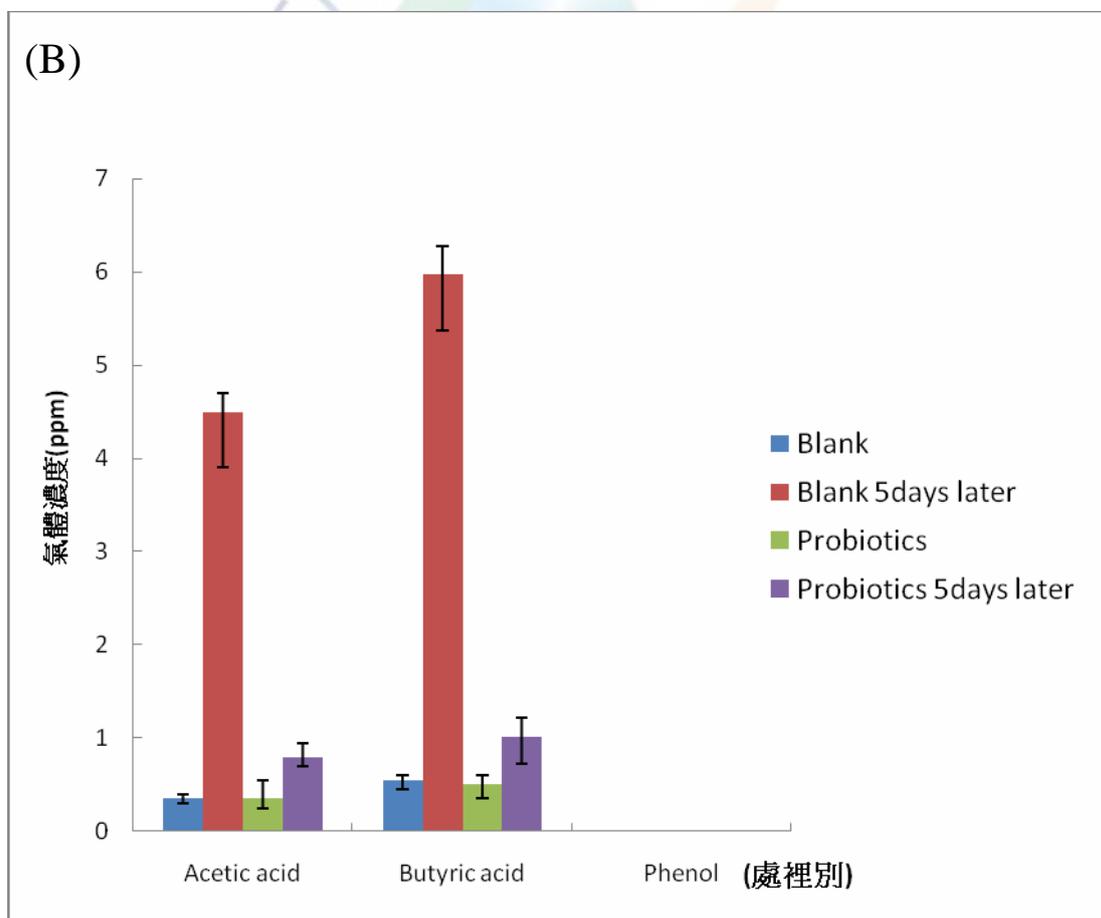
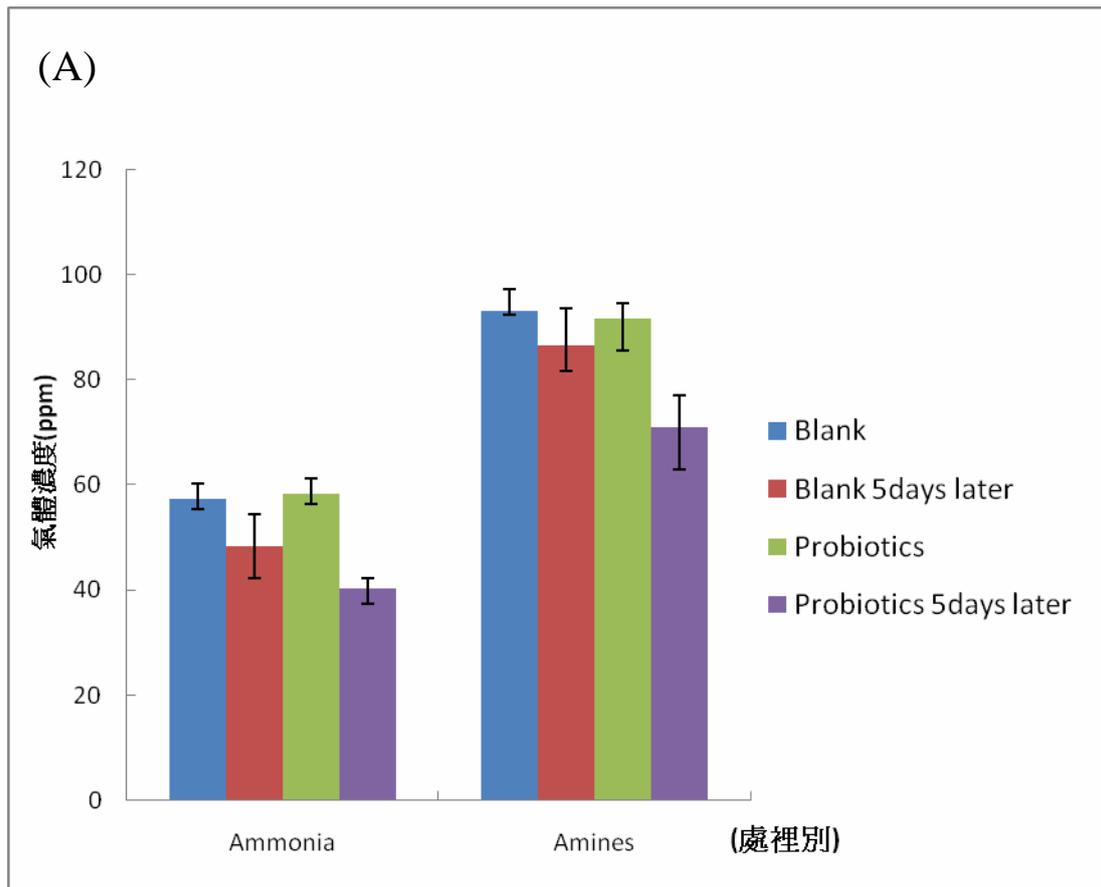
將糞便與尿液 50:50 g/v 混合，放在培養箱培養 5 天，偵測氣體濃度，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表。由圖三十四(A)所顯示，在糞尿混合的條件之下，不論是實驗組或是對照組氨氣以及胺氣濃度都有下降，其中添加益生菌的糞尿混合液下降幅度較大。

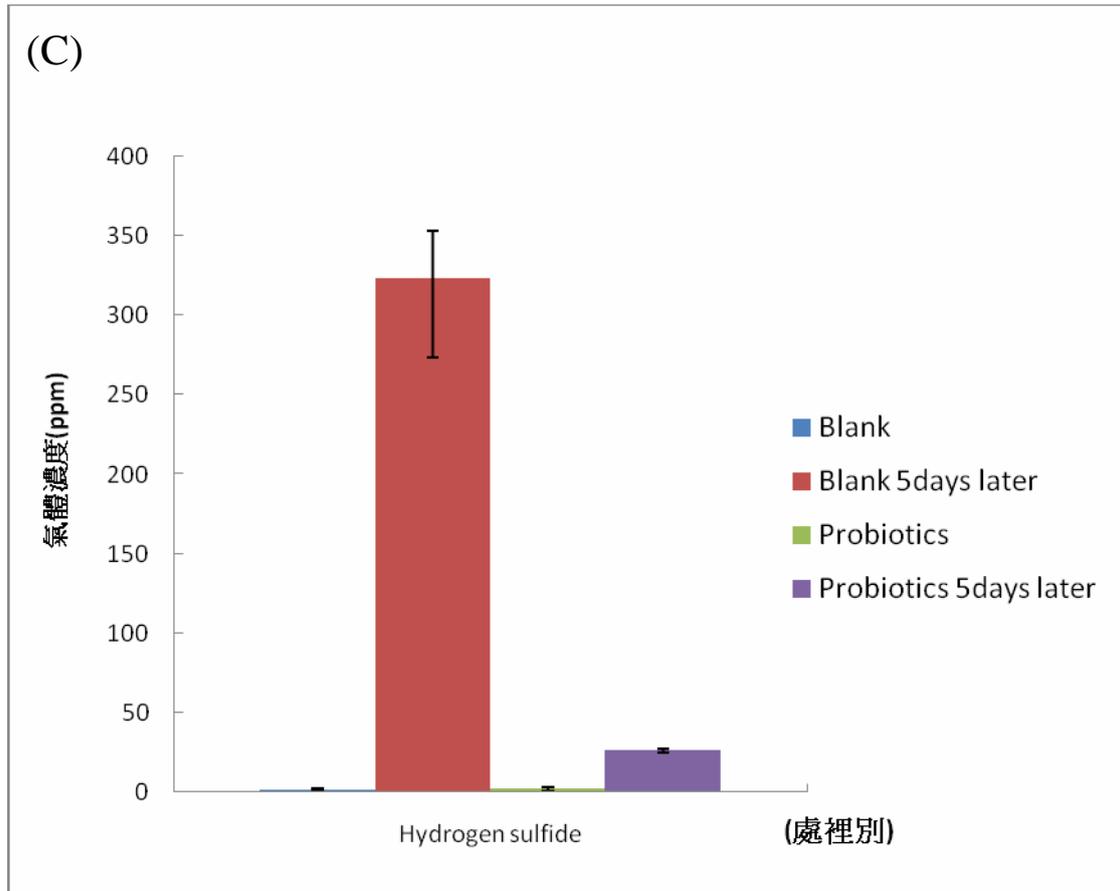
此外比較乙酸、丙酸以及硫化氫等指標氣體，添加益生菌的實驗組，指標氣體濃度遠低於不添加益生菌的對照組，指標氣體濃度以硫化氫差異最為顯著，丙酸、乙酸次之。

表十一、益生菌抑制糞尿混合液臭味濃度測試

	Feces	Urine	Autoclave	Probiotics
Blank	50g	50ml	No	Not added
Test	50g	50ml	No	1ml
Blank	Blank	Blank	Test	Probiotics
	(ppm)	(5 days later) (ppm)		(5 days later) (ppm)
Ammonia	57.33	48.33	Ammonia	58.33
Amines	93.333	86.67	Amines	91.67
Acetic acid	0.35	4.5	Acetic acid	0.35
Butyric acid	0.55	5.97	Butyric acid	0.5
Hydrogen sulfide	1.98	323.33	Hydrogen sulfide	2.52
Phenol	—	—	Phenol	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限





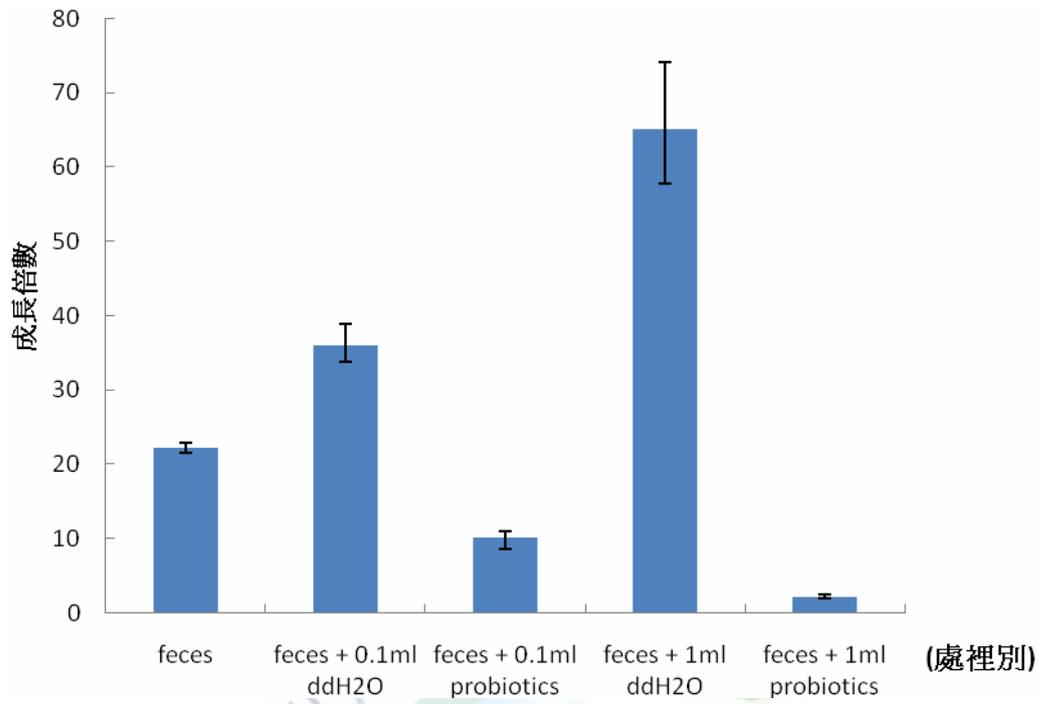
圖三十六、益生菌抑制糞尿混合液臭味測試

三、益生菌液對於大腸菌生長影響

將益生菌混合液，與母豬舍糞便混合，置於培養箱培養三天，觀察益生菌對於糞便中大腸菌生長影響，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表。實驗結果如圖三十五所示，大腸菌生長倍率多寡與益生菌的量有關，益生菌量越高，大腸菌生長受到限制造成生長倍率降低，而添加水份能夠提供細菌有利的生長環境，因而造成大腸菌的大量生長。

表十二、益生菌液對於大腸菌生長影響試驗

	Feces	Distilled Water	probiotics
feces	5g	0ml	0ml
feces + 0.1ml ddH ₂ O	5g	100 μ L	0ml
feces + 0.1ml probiotics	5g	0ml	100 μ L
feces + 1ml ddH ₂ O	5g	1ml	0ml
feces + 1ml probiotics	5g	0ml	1ml
	菌落數(CFU/ml)	菌落數 3 days later (CFU/ml)	E.coli 成長倍數
feces	2.74×10^7	6.095×10^8	22.261
feces + 0.1ml ddH ₂ O	2.74×10^7	9.775×10^8	35.972
feces + 0.1ml probiotics	2.74×10^7	2.721×10^8	10.224
feces + 1ml ddH ₂ O	2.74×10^7	1.742×10^9	65.125
feces + 1ml probiotics	2.74×10^7	6.417×10^7	2.278



圖三十七、益生菌液對於大腸菌生長影響

四、堆肥舍測試

比較堆肥舍在噴水處理以及噴灑益生菌處理過程中，指標氣體濃度變化情形。

實驗以堆肥舍背景氣體為空白組，灑水處理為對照組，益生菌處理則為實驗組。堆肥舍經過灑水處理之後，不論是氨、胺氣、乙酸、丙酸以及硫化氫，濃度都較噴灑前增高。

此外以益生菌處理後的堆肥舍，乙酸、丙酸以及硫化氫氣體漸漸降低，最後低於偵測極限 0.05 ppm，而經由益生菌處理的堆肥舍，對於氨以及胺氣來說，並沒有明顯能夠降低濃度的趨勢。

表十三、堆肥舍測試實驗

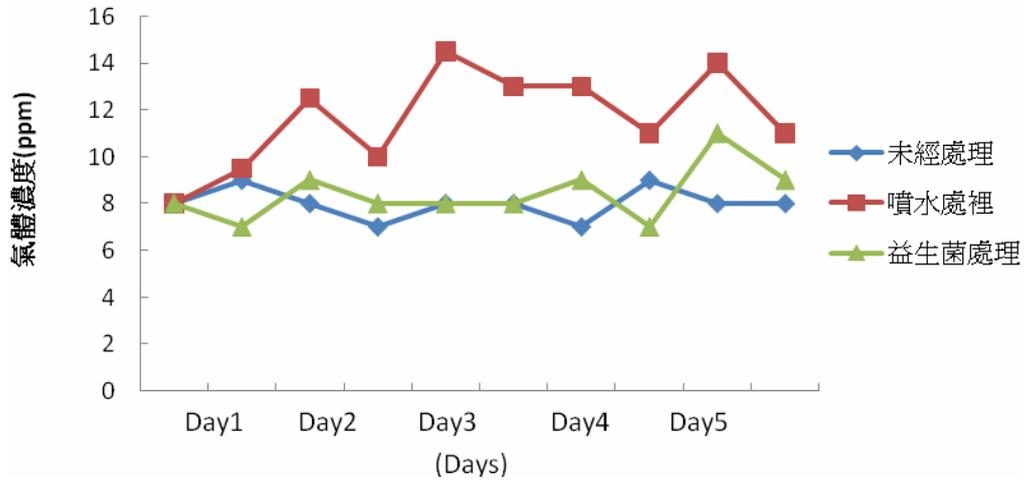
組別		實驗方式									
空白組		不加以處理，堆肥舍背景氣體									
對照組		灑水處理									
實驗組		噴灑益生菌處理									
堆肥舍氣體濃度 ppm											
空白組	Day 1	Day 1	Day 2	Day 2	Day 3	Day 3	Day 4	Day 4	Day 5	Day 5	
Ammonia	8	9	8	7	8	8	7	9	8	8	
Amines	22	23	23	18	23	22	19	22	21	22	
Acetic acid	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	
Butyric acid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.19	0.2	0.2	0.2	0.19	0.2	
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

以灑水處理堆肥舍指標氣體濃度變化 ppm										
對照組	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5	
Ammonia	8	9.5	12.5	10	14.5	13	13	11	14	11
Amines	23	28	43	38	53	46	49	43	51	42
Acetic acid	0.13	0.25	0.2	0.25	0.22	0.3	0.25	0.22	0.4	0.3
Butyric acid	0.2	0.38	0.25	0.38	0.3	0.45	0.37	0.35	0.6	0.45
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.13	0.1	0.15	0.14	0.2	0.18	0.3	0.28
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

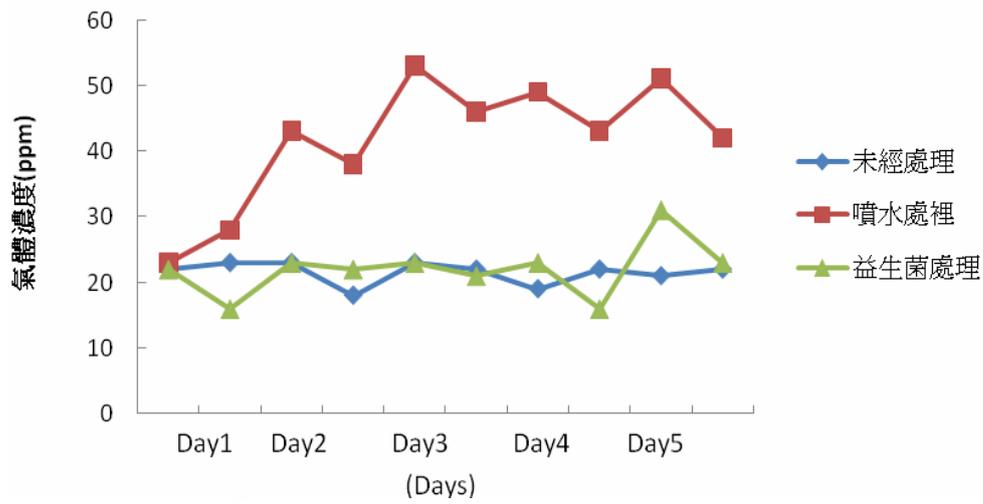
經由混合益生菌噴灑之後指標氣體變化情形										
實驗組	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5	
Ammonia	8	7	9	8	8	8	9	7	11	9
Amines	22	16	23	22	23	21	23	16	31	23
Acetic acid	0.13	0.13	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	—
Butyric acid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.08	—	—	—	—	—	—	—
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

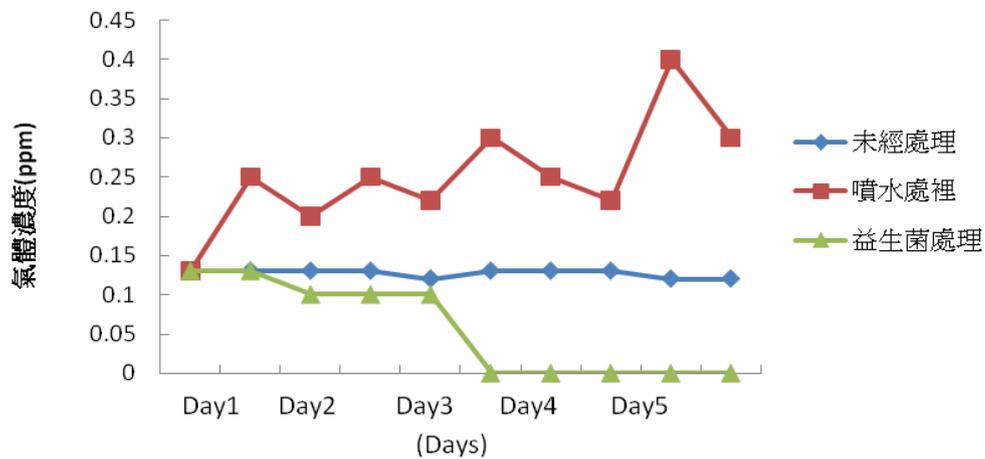
(A) 堆肥舍氨氣濃度變化圖



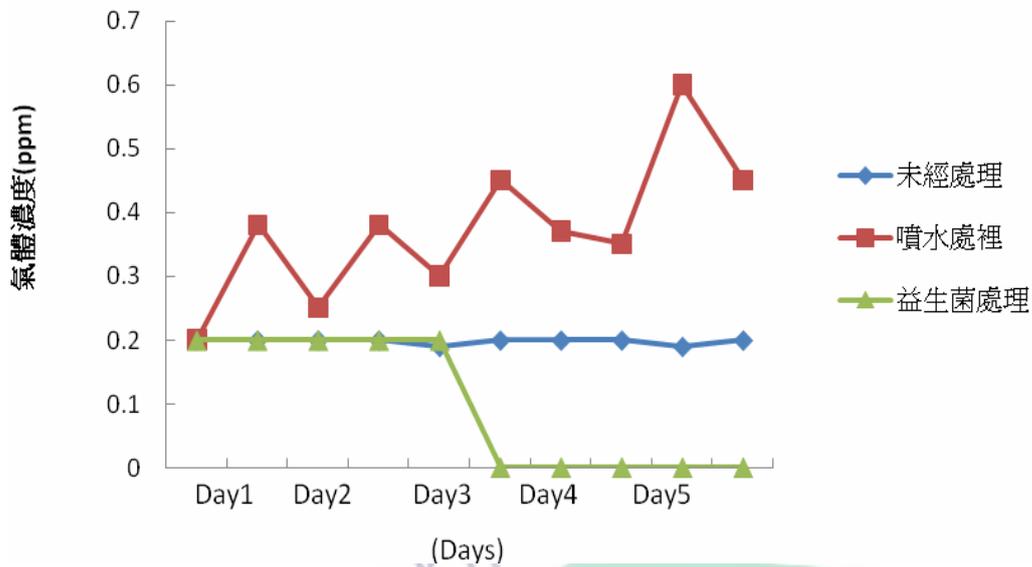
(B) 堆肥舍胺氣濃度變化圖



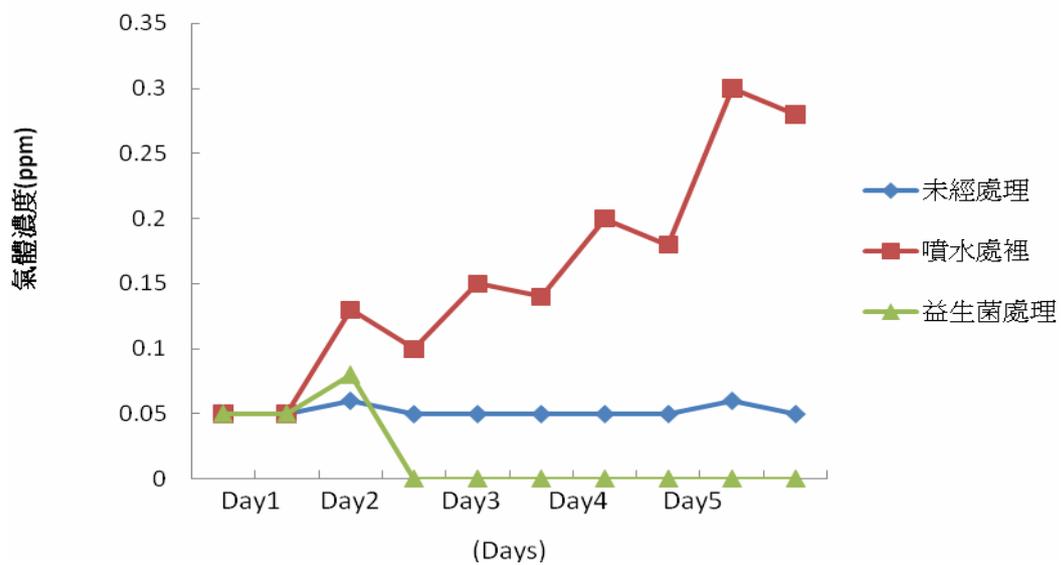
(C) 堆肥舍乙酸氣體動變化圖



(D) 堆肥舍丙酸氣體濃度變化圖



(E) 堆肥舍硫化氫氣體濃度變化圖



圖三十八、堆肥舍指標氣體濃度變化圖

五、保育舍測試

比較保育舍在噴水處理以及噴灑益生菌處理過程中，指標氣體濃度變化情形，實驗進行三重複，以數據平均值做成圖表。

實驗分為三組，保育舍背景氣體為空白組，灑水處裡為對照組，益生菌處理則為實驗組。由於保育舍清洗間隔時間較長，因此，豬舍當中糞便會持續的堆積。以空白組而言，指標氣體濃度也會緩慢增加，因此相對於堆肥舍，氣體穩定度會較差。

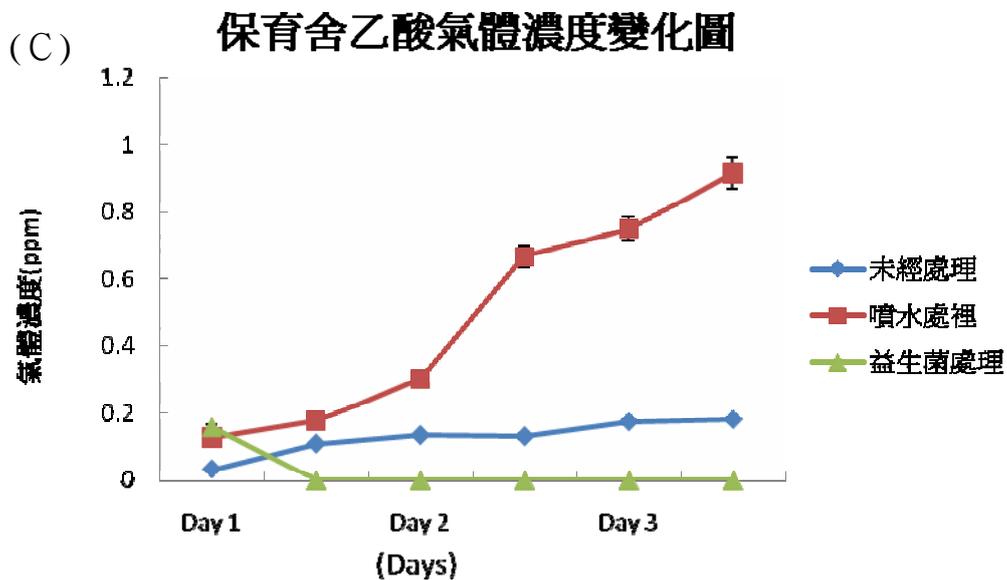
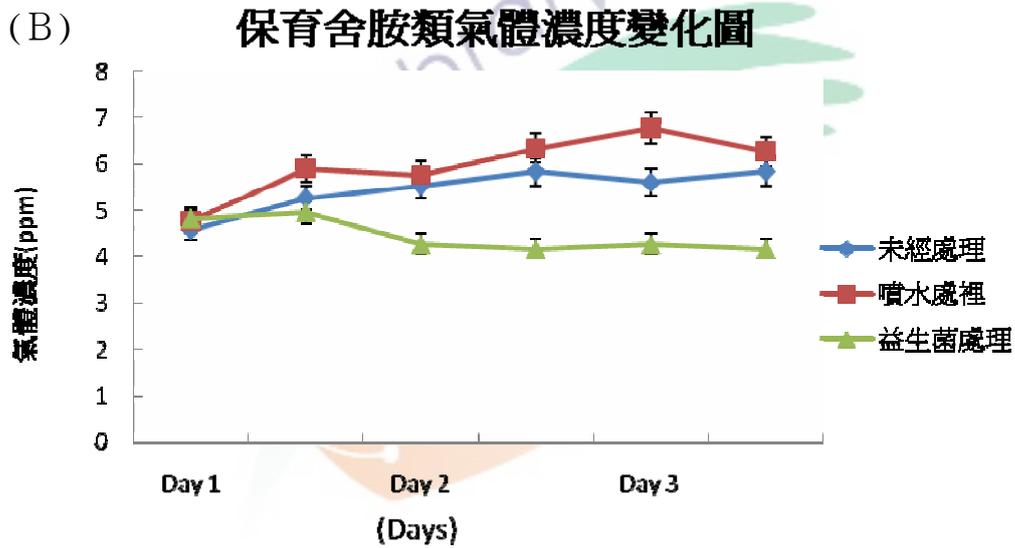
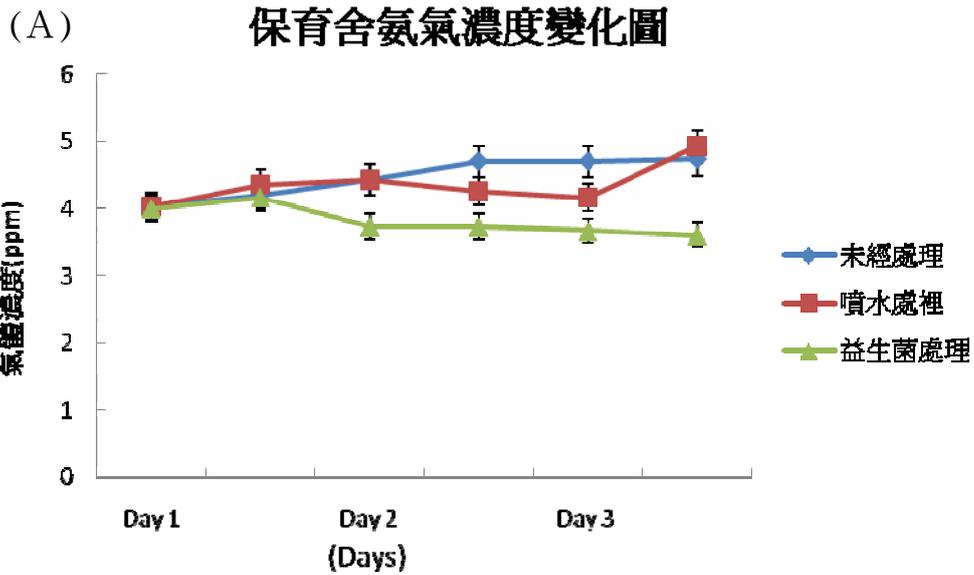
保育舍經過灑水處理之後，除了氨濃度上升較不明顯之外，胺氣、乙酸、丙酸以及硫化氫，相較於空白組而言，濃度上升速度較空白組高。

而經由噴灑益生菌的保育舍，氨氣以及胺氣濃度較空白組低，乙酸、丙酸以及硫化氫氣體則在噴灑處理後，濃度減低至 0.05 ppm 以下。

表十四、保育舍實驗測試

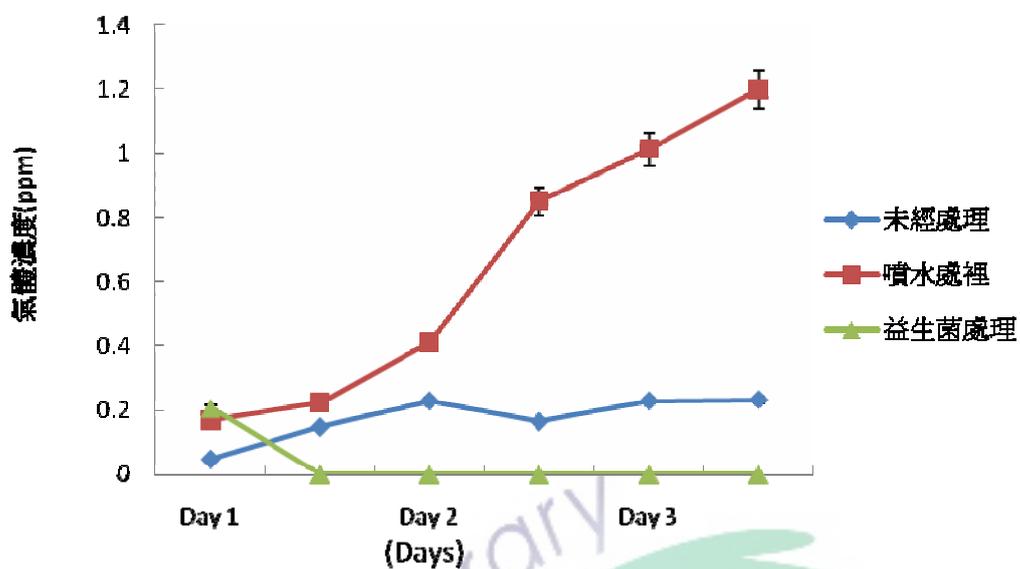
組別	實驗方式					
空白組	不加以處理，保育舍背景氣體					
對照組	灑水處理					
實驗組	噴灑益生菌處理					
保育舍未經處理氣體濃度變化情形 (平均)ppm						
空白組	Day 1	Day 2		Day 3		
Ammonia	—	1.366	3.777	3.866	4.144	4.7
Amines	—	1.533	4.488	4.822	5.177	6.044
Acetic acid	—	0.033	0.052	0.119	0.131	0.14
Butyric acid	—	0.046	0.072	0.158	0.246	0.177
Hydrogen sulfide	—	0.016	0.022	0.05	0.053	0.055
Phenol	—	—	—	—	—	—
噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (平均)						
對照組	Day 1	Day 2		Day 3		
Ammonia	1.3667	4.0111	3.9222	4.1444	4.6889	4.1556
Amines	1.5	5.3556	5.1667	5.5556	7.0444	7.2556
Acetic acid	0.0417	0.125	0.1583	0.35	0.6556	0.8
Butyric acid	0.0533	0.1656	0.2044	0.4633	0.8833	1.0511
Hydrogen sulfide	0.0167	0.0667	0.0778	0.0778	0.16	0.18
Phenol	—	—	—	—	—	—
噴灑益生菌前後指標氣體濃度差異 (平均)						
實驗組	Day 1	Day 2		Day 3		
Ammonia	—	1	2.833	3.825	4.2	4.248
Amines	—	1.233	3.433	4.751	5.485	5.370
Acetic acid	—	—	0.055	0.093	0.124	0.137
Butyric acid	—	—	0.077	0.183	0.179	0.203
Hydrogen sulfide	—	—	0.027	0.040	0.05	0.053
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



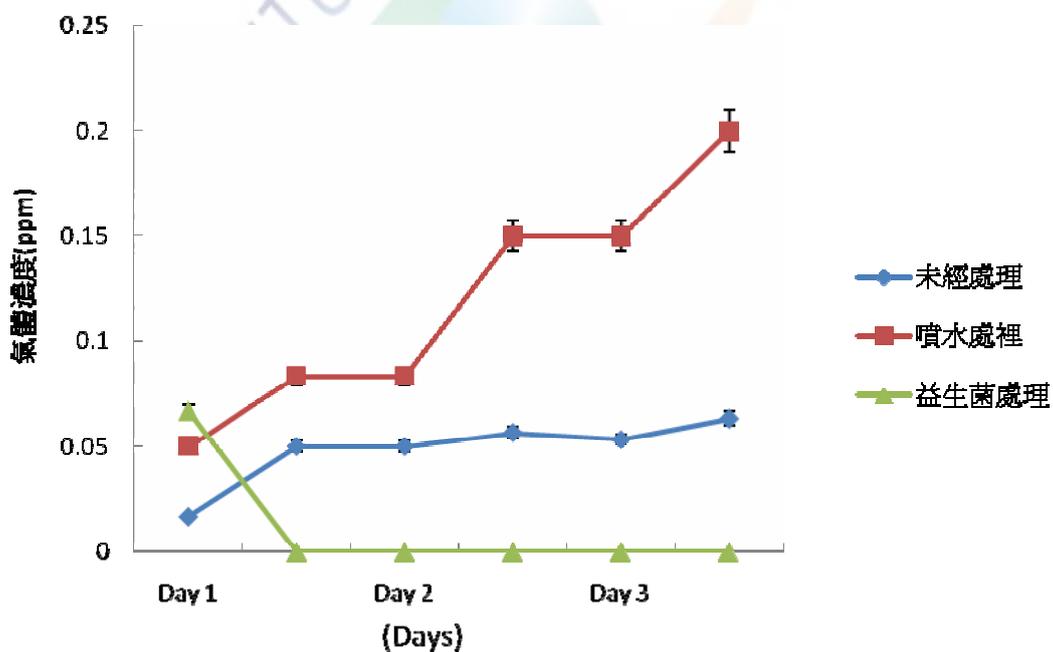
(D)

保育舍丙酸氣體濃度變化圖



(E)

保育舍硫化氫氣體濃度變化圖



圖三十九、保育舍指標氣體濃度變化圖

伍、結果與討論

以益生菌來控制養豬場臭味研究，實驗分為試驗室測試以及野外測試兩部份。

實驗室部分，尿液添加益生菌之後，益生菌本身不會產生臭味指標氣體，也可以抑制其他雜菌產生臭味氣體。在糞便添加益生菌處理方面，益生菌本身也會產生少量的臭味氣體。而將益生菌添加在不經由滅菌處理的糞便當中，與對照組相較，所產生的氣體濃度也遠低於對照組，因此具有抑制臭味產生的功能。此外，將益生菌添加在糞尿混合液當中，除了對於氨以及胺氣的產生抑制能力較不明顯之外，對於乙酸、丙酸以及硫化氫的產生都有顯著的抑制作用，依照(Jun, 2000)文獻而言，添加鹼性物質由於可以使 VFAs 轉化成鹽類，沉降且不會還原，因此可以降低臭味產生，而本實驗精油添加益生菌處理之後也可降低 VFAs 產生。本實驗其中一項指標氣體“酚”，由於始終低於偵測下限 0.2 ppm，因此沒有辦法討論添加益生菌對於該氣體的影響。酚類氣體由於在儲存過程中容易降解，所以不適合做為臭度指標 (Jun, 2000)。

益生菌對於大腸菌生長的影響，益生菌的濃度越高，大腸菌的生長速率就越慢，依照實驗結果而言，可以減緩大腸菌生長速率，但是無法使大腸菌數量減少。

相較於實驗室測試，野外測試的變因較多，較難掌控所有變因。將益生菌噴灑於堆肥舍當中，噴灑第二天開始，乙酸、丙酸以及硫化氫濃度開始下降，最後降至偵測極限以下，而另外兩種指標氣體氨氣以及胺氣，變動程度則不明顯，與堆肥舍原本氣體濃度相差不遠。

保育舍以噴灑益生菌處理，氨氣以及胺氣濃度相較於未處理前的保育舍氣體濃度，有稍微降低的情形，乙酸、丙酸以及硫化氫濃度則在噴灑益生菌處理後，濃度開始下降，最後降至偵測極限以下。

綜合以上結果，噴灑益生菌可以使指標氣體的下陷，代表整體養豬場臭味的濃度跟著減低，因此以益生菌噴灑於養豬場具有正面的效益。



陸、參考文獻

- 行政院環保署(1988), 臭氣及臭味官能測定法。環署檢字第 07395 號公告, pp. NIEA A201.10A。
- 馬孟德 (1993), 豬舍臭氣之探討. 科學農業 82(04), pp. 88-90。
- 作業環境空氣中有害物容許濃度標準(1995), 行政院勞工委員會九十二年十二月三十一日勞安三字第零九二零零七三二九四號令第三次修正。
- Ewing, W. N., and Cole, D. J. A., (1996), 腸道微生物, 台灣養豬科學研究所, pp. 38-61, 109-209。
- 馬孟德(1996), 養豬場臭氣公害之防治之探討。中華農學會報, 184: 67-79。
- 梁宏明(1997), 豬糞尿中揮發性有機臭氣動態行為研析。台灣大學農業工程學研究所碩士論文, pp. 12-107。
- 蘇忠禎、劉忠罵、吳繼芳(1998), 豬舍主要臭氣成分之生物處理研究。中華農學會報, 184: 67 - 79。
- 鄒佳蓉(1999), 養豬場除臭技術之研究開發。台灣大學環境工程學研究所碩士論文, pp. 3-7, 16 - 19。
- 傅慰孤(1999)廢棄火炸藥處理最佳化研究元智大學機械工程研究所碩士論文, pp. 16-19。
- 賀長富(2001), 台北市北投區溫泉業維修作業人員硫化氫暴露之研究。中國文化大學勞工研究所碩士論文, pp. 4-58。
- 蔡文城(2002), 臨床微生物診斷學。台北, 九州圖書文物有限公司, pp. 1257-1316, 1395-1470。
- 張吉龍(2004), 以活性污泥池曝氣洗滌法處理含豬糞堆肥排氣臭味之研究。國立中山大學環境工程研究所碩士論文, pp. 4-65。
- 周家德(2004), 飼料乾燥排氣化學洗滌除臭。國立中山大學環境工程研究所碩士論文, pp. 8-24。
- 翁豪燦(2006), 以電子鼻檢測養豬場及堆肥場臭味研究。東華大學生

- 物技術研究所碩士論文, pp 4-95。
- 洪宗羽(2006), 益生菌特性研究及其對豬知生長性能、腸道生理、脂質代謝與免疫反應之影響。國立嘉義大學動物科學系碩士論文, pp 1-29。
- Abee T., Krocke L., and Hill C., (1995). Bacterocin: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Journal of Food Microbiol.* Vol.28: 169-185.
- Axelsson L., Chung T.C., Dobrogosz W. J., and Lindgren S., (1989). Discovery of a broad-spectrum antimicrobial substance provided by *L. reutri*. *Microbiol. Ecology in Health and Disease.* Vol.2: 131-136
- Bibel D. J., (1982). Centennial of the rise of cellular immunology: Metchnikoff's discovery at Messina. *American Society for Microbiology.* Vol.48: 558-560.
- Cato E. P., Geroge W. L., Finegold S. M., (1986). Genus *Clostridium*. In: Sneath, P. H. A. *et al.* (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney: Williams & Wilkins. Vol.2: 1141-1200.
- CIGR-Commission Internationale de Génie Rural., (1994). Aerial environment in animal housing : concentrations in and emissions from farm building. Working group report series No. 94. Vol.1: 25-82.
- Condon S. (1987). Response of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiol.* Vol. 46: 269-280.
- Dahiya, R. S., and Speck. L., (1968). Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science.* Vol.51: 1568-1572
- Denis B., Jean-Guy B., Rejean B., Sylvestre M., Muhammad I., and Andre M., (1987). Microbiological degradation of malodorous substance of swine waste under aerobic conditions.

- Applied and Environmental Microbiology. Vol.53: 137-141.
- Fuller R., and Brooker B.E., (1973). Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. American Journal of Clinic. Nutrition Vol.27: 1305-1312.
- Fuller R., (1989). Probiotics in man and animals. The Journal of applied bacteriology. Vol.66: 365-378.
- Fuller R., (1992). Probiotics: The scientific basis. Champan & Hall, London. UK. Vol. : 11-8.
- Ganzle M.G., Holtzel A., Walter J., Jung G., and Hammes W.P., (2000). Charactenization of retericylin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. Applied of Environmental Microbiology. Vol.66: 4325-4333.
- Guarner F. and Schaafsma G. J., (1998). Probiotics. International journal of food microbiology. Vol.39: 237-238.
- Holtzel A., Ganzle M.G., Nicholson G. J., Hammes W. P., and Jung G., (2000). The first low-molecular-weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid. Angeqandte Chemical. International Edition. Vol.39: 2766-2768.
- James K., (1994). Impact of control on rural economic development. International round table on swin odor control. International Round Table on Swine Odor Control. 58-64.
- Jay J.M., (1983). Antimicrobial properties of diacetyl. Applied and environmental microbiology. Vol.44: 525.
- John D. C., Kimberly A. C., Urania M., Jennifer P., Michael J. M., and Lauria A. A., (2005). Biological control of hog waste odor through stimulated microbial Fe(III) reduction. Applied and

- Environmental Microbiology. Vol. 71: 4728-4735.
- Jun Z. and Larry D. J., (1999). Correlating microbes to major odorous compounds in swine manure. Journal of Environmental Quality. Vol. 28: 737-744.
- Jun Z., (2000). A review of microbiology in swine manure odor control. Agriculture Ecosystems & Environment. Vol. 78: 93-106.
- Kang D. K., and Fung D. Y. C., (1999). Effect of diacetyl on controlling *Escherichia coli* 015:7H7 and *Salmonella typhimurium* in the presence of starter culture in a laboratory medium and during meat fermentation. Journal of food protection. Vol. 62: 975-979.
- Kenneth L. C., Edward T. and George L., (2007). Factors influencing the concentration of volatile fatty acids, ammonia, and other nutrients in stored liquid pig manure. Journal of Environmental Quality. Vol. 36: 441-447.
- Lilly D. M. and Stillwell R. H., (1965). Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Sciences. Vol. 147: 747-748.
- McCrary D. F. and Hobbs P. J. (2001). Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review. Journal of Environmental Quality. Vol. 30: 345-355.
- Merkel J. A., Hazen T. E., and Miner J. R., (1969). Identification of gases in a confinement swine building atmosphere. Transactions of the ASAE. American Society of Agricultural Engineers. Vol. 12 : 310-315.
- Miner J. R., and Hazen T. E., (1969). Ammonia and amines : components of swine building odor. Transactions of the ASAE. American Society of Agricultural Engineers. Vol. 12:

- 772 – 774.
- Misra A.K., and Kuila. R.K., (1992). Use of *Bifidobacterium bifidum*. In the manufacture of bifidus milk and its antibacterial activity. *Le Lait*. Vol. 72: 221-220.
- Moore W.E.C., Holdeman L.V., (1986). Genus *Eubacteria*. In: Sneath, P.H.A. *et al.* *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney: Williams & Wilkins. Vol. 2: 1353-1373.
- Paul R.R., Morgan S., and Hill.C., (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*. Vol. 79: 3-16.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (1996). *Microbiology*, Chicago: Wm. C. Brown Publishers.
- Russell E.G., (1979). Types and distribution of anaerobic bacteria in the large intestine of pigs. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 37: 187-193.
- Salanitro J.P., Blake I.G., Muirhead P.A., (1977). Isolation and identification of fecal bacteria from adult swine. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 33: 187-193.
- Susan S.S., Elizabeth A.S., MARK S.S., and Brevick G.G., (1995). The effect of environmental odors emanating from commercial swine operations on the mood of nearby resistance. *Brain Research Bulletin*. Vol. 37: 369-375.
- Susan S.S., Jeanette L., and James H.R., (2001). Quantification of odorants from swine operations in North Carolina. *Agricultural and Forest Meteorology*. Vol. 108: 213-240
- Tannock G.W., (2001). Molecular assessment of intestinal microflora. *The American journal of clinical nutrition*. Vol. 73: 410-414.

- Yasuhara A.K. and Jimbu, M.J.,(1984). Identification of odorous compounds in fresh and rotten swine manure. *Agricultural Biology and Chemistry*.Vol.48: 3000 - 3010.
- Yu J.C.,(1989). Odorous compounds in the gas phase of treated pig manure. *Canadian Agricultural Engineering*.Vol.33: 3-25.
- Zhu J., Bundy D.S., Li X., Rashid N.,(1996). Controlling odor and volatile substances in liquid hog manure by amendment. *Journal of Environmental Quality*.Vol.26: 740-743



附錄

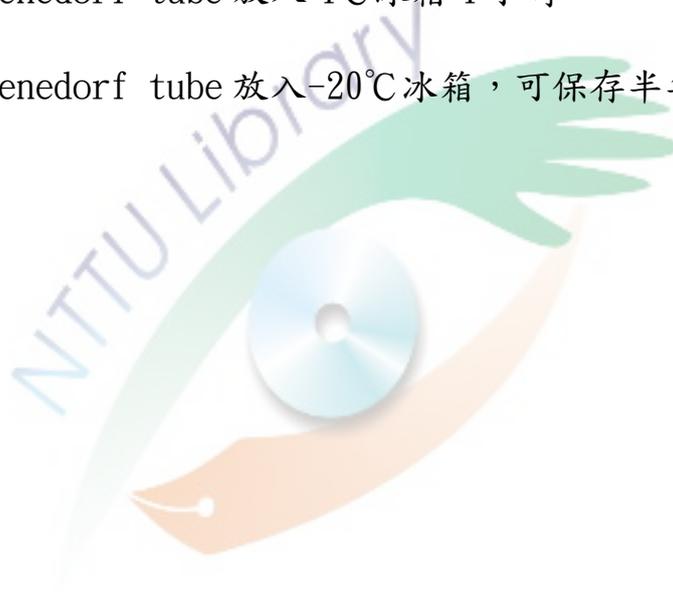
- A. 菌株冷凍保存流程
- B. 各別菌種專用培養基以及發酵工作液
- C. 益生菌生長曲線圖
- D. 益生菌在糖蜜醱酵液生長曲線圖
- E. 實驗數據



Appendix - A

益生菌株冷凍保存流程

1. 檢測所要保存的菌種是否為純菌
2. 將菌株培養至 log-phase
3. 取純菌液 1mL 放入無菌處理過的 epenedorf tube 當中
4. 取 1mL 的甘油保存液，與菌液充份混合
5. 將 Epenedorf tube 放入 4°C 冰箱 4 小時
6. 將 Epenedorf tube 放入 -20°C 冰箱，可保存半年



Appendix - B

各別菌種專用培養基以及發酵工作液

E. coli: YPD Agar or YPD Broth

Bacillus subtilis var. *Natto* (BCRC 14716): Nutrient Agar or
Nutrient Broth

Bacillus subtilis var. *Natto* (BCRC 17435): Nutrient Agar or
Nutrient Broth

Lactobacillus acidophilus (BCRC 14065): MRS Agar or Mrs Broth

Lactobacillus Casei. Subsp. *Rhamonus* (BCRC 12249): MRS Agar or
Mrs broth

Entrococcus Faecium (BCRC 12302): BHI Agar or BHI Broth

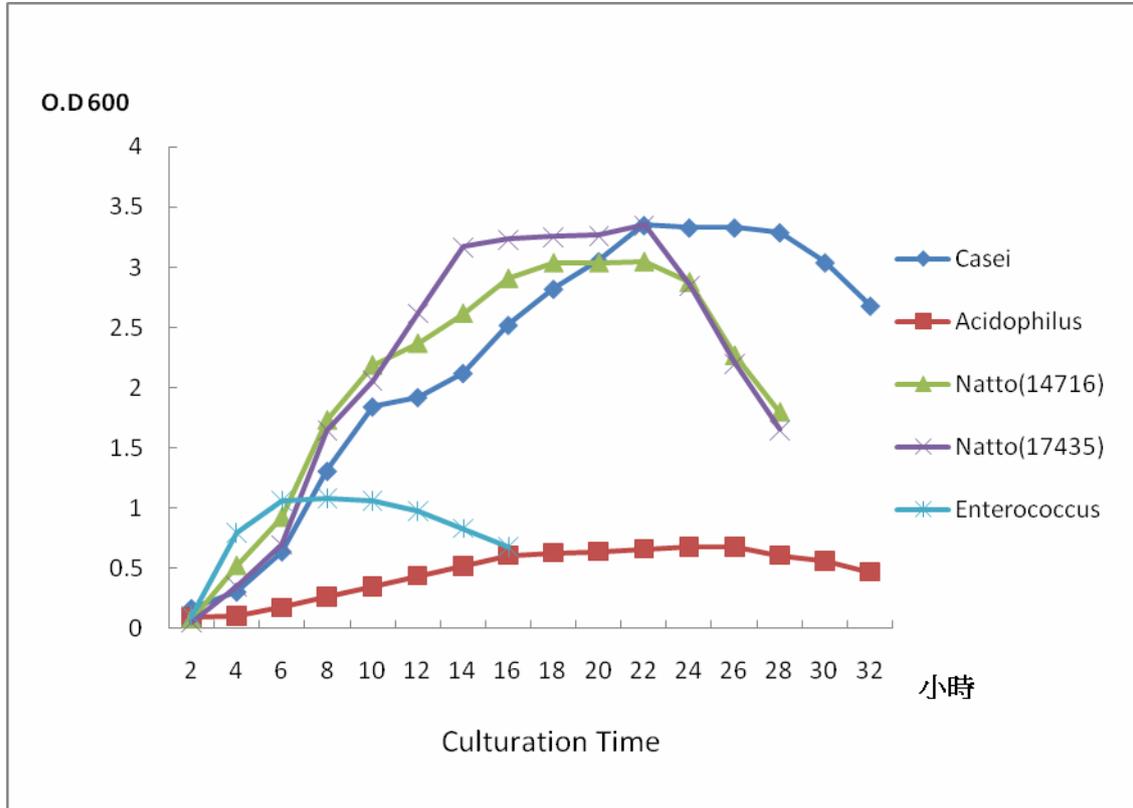
50 公升發酵工作液: 45 Litter Molasses culture solution + 5

Litter 各菌種專用培養液

300 公升發酵工作液: 300 Litter Molasses culture solution

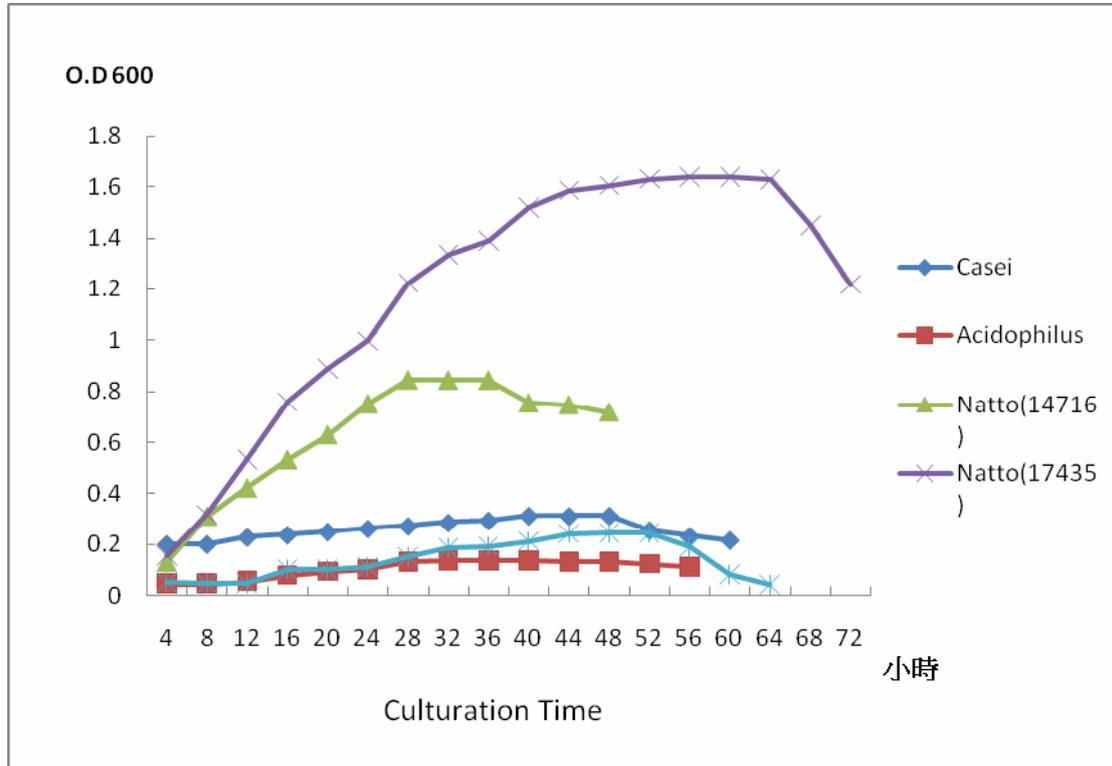
Appendix - C

益生菌生長曲線圖



Appendix - D

益生菌在糖蜜發酵液生長曲線圖



Appendix - E

益生菌在尿液中所產生臭味之分析 (1)

Urine(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌放在 37 度培養箱	(ppm)	(ppm)
Ammonia	20	8
Amines	79	32
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Urine(autoclave) + probiotics(1 ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌再添加益生菌放在 37 度培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	19	2
Amines	80	2
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌在尿液中所產生臭味之分析 (2)

Urine(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌放在 37 度培養箱	(ppm)	(ppm)
Ammonia	16	10
Amines	67	37
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Urine(autoclave) + probiotics(1 ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌再添加益生菌放在 37 度培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	16	—
Amines	64	—
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌在尿液中所產生臭味之分析 (3)

Urine(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌放在 37 度培養箱	(ppm)	(ppm)
Ammonia	18	11
Amines	77	48
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Urine(autoclave) + probiotics(1 ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液經由高壓滅菌再添加益生菌放在 37 度培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	20	—
Amines	81	—
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌對於抑制尿液產生臭味分析 (1)

Urine without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液不經由滅菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2.5	—
Amines	4	—
Acetic acid	—	0.25
Butyric acid	—	0.33
Hydrogen sulfide	—	0.8
Phenol	—	—
Urine + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液添加益生菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2	—
Amines	3	—
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

益生菌對於抑制尿液產生臭味分析 (2)

Urine without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液不經由滅菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2	—
Amines	5	—
Acetic acid	—	0.3
Butyric acid	—	0.45
Hydrogen sulfide	—	0.6
Phenol	—	0
Urine + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液添加益生菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2	—
Amines	4.8	—
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌對於抑制尿液產生臭味分析 (3)

Urine without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液不經由滅菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2.5	—
Amines	5	—
Acetic acid	—	0.25
Butyric acid	—	0.33
Hydrogen sulfide	—	0.8
Phenol	—	0
Urine + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
尿液添加益生菌放置在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2	—
Amines	2.5	—
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌在糞便中所產生臭味之分析 (1)

Manure(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便經由高壓滅菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	1	—
Amines	1	—
Acetic acid	0.3	0.35
Butyric acid	0.4	0.5
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
滅菌糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	0.8	—
Amines	1	—
Acetic acid	0.25	0.4
Butyric acid	0.325	0.6
Hydrogen sulfide	—	1.3
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌在糞便中所產生臭味之分析 (2)

Manure(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便經由高壓滅菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	1	—
Amines	1.6	—
Acetic acid	0.3	0.3
Butyric acid	0.45	0.45
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
滅菌糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	0.8	—
Amines	1.4	—
Acetic acid	0.25	2
Butyric acid	0.325	3
Hydrogen sulfide	—	1.8
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌在糞便中所產生臭味之分析 (3)

Manure(autoclave) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便經由高壓滅菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	3	—
Amines	3.7	—
Acetic acid	0.125	0.15
Butyric acid	0.15	0.2
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
滅菌糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	3.3	—
Amines	3.8	—
Acetic acid	0.3	1.3
Butyric acid	0.45	2
Hydrogen sulfide	—	1.1
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析 (1)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	3	—
Amines	1	—
Acetic acid	—	1.5
Butyric acid	—	2.25
Hydrogen sulfide	0.15	396
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	5	0.8
Amines	4	1
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	0.2	8
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析 (2)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	2.5	—
Amines	1	—
Acetic acid	—	1.1
Butyric acid	—	1.43
Hydrogen sulfide	0.1	430
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	3	0.5
Amines	1	0.7
Acetic acid	—	0.1
Butyric acid	—	0.1
Hydrogen sulfide	0.2	9
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞便產生臭味分析 (3)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)

	處理前 (ppm)	處理後 (ppm)
將糞便放在培養箱培養		
Ammonia	3	—
Amines	4	—
Acetic acid	—	2.3
Butyric acid	—	3.5
Hydrogen sulfide	0.15	310
Phenol	—	—

Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)

	處理前 (ppm)	處理後 (ppm)
糞便添加益生菌放在培養箱培養		
Ammonia	3.2	1
Amines	4	1.5
Acetic acid	—	0.1
Butyric acid	—	0.15
Hydrogen sulfide	0.2	17
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌在糞尿混合液產生臭味分析 (1)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	26	5
Amines	79	5.7
Acetic acid	—	—
Butyric acid	—	—
Hydrogen sulfide	—	—
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	22	6
Amines	70	1
Acetic acid	—	0.5
Butyric acid	—	0.6
Hydrogen sulfide	—	0.35
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌在糞尿混合液產生臭味分析 (2)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	43	4.3
Amines	93	17
Acetic acid	0.1	0.1
Butyric acid	0.1	0.1
Hydrogen sulfide	0.05	0.05
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	18	3
Amines	64	5
Acetic acid	0.1	0.6
Butyric acid	0.15	0.7
Hydrogen sulfide	0.1	0.9
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌在糞尿混合液產生臭味分析 (3)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	25	6
Amines	77	6.3
Acetic acid	0.15	0.15
Butyric acid	0.2	0.2
Hydrogen sulfide	0.05	0.05
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	26	5.8
Amines	79	6.1
Acetic acid	0.1	0.4
Butyric acid	0.1	0.5
Hydrogen sulfide	—	0.45
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞尿混合液產生臭味分析 (1)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)

	處理前 (ppm)	處理後 (ppm)
將糞便放在培養箱培養		
Ammonia	61	54
Amines	97	94
Acetic acid	0.3	3.7
Butyric acid	0.5	5.2
Hydrogen sulfide	0.05	80
Phenol	—	—

Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)

	處理前 (ppm)	處理後 (ppm)
糞便添加益生菌放在培養箱培養		
Ammonia	58	43
Amines	89	77
Acetic acid	0.2	0.7
Butyric acid	0.3	0.95
Hydrogen sulfide	0.05	4
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞尿混合液產生臭味分析 (2)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	56	42
Amines	91	81
Acetic acid	0.25	4.1
Butyric acid	0.45	5.4
Hydrogen sulfide	0.5	270
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	61	41
Amines	98	73
Acetic acid	0.3	0.6
Butyric acid	0.4	0.7
Hydrogen sulfide	0.5	11
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

添加益生菌對於抑制糞尿混合液產生臭味分析 (3)

Manure without autoclave incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
將糞便放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	55	49
Amines	92	85
Acetic acid	0.5	5.7
Butyric acid	0.7	7.3
Hydrogen sulfide	5	620
Phenol	—	—
Manure(autoclave) + probiotics(1ml) incubate in incubator(37°C)		
	處理前	處理後
糞便添加益生菌放在培養箱培養	(ppm)	(ppm)
Ammonia	56	37
Amines	94	63
Acetic acid	0.55	1.1
Butyric acid	0.8	1.4
Hydrogen sulfide	7	64
Phenol	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

益生菌液對於大腸菌生長影響 (1)

以益生菌處理糞便對於糞便中大腸菌成長影響			
	處理前菌落數(CFU)	處理後菌落數(CFU)	E.coli 成長倍數
feces	2.74×10^7	6.095×10^8	22.075
feces + 0.1ml ddH ₂ O	2.74×10^7	9.775×10^8	38.207
feces + 0.1ml probiotics	2.74×10^7	2.721×10^8	11.006
feces + 1ml ddH ₂ O	2.74×10^7	1.742×10^9	74.218
feces + 1ml probiotics	2.74×10^7	6.417×10^7	2.031

益生菌液對於大腸菌生長影響 (2)

以益生菌處理糞便對於糞便中大腸菌成長影響			
	處理前菌落數(CFU)	處理後菌落數(CFU)	E.coli 成長倍數
feces	3.75×10^7	8.125×10^8	21.666
feces + 0.1ml ddH ₂ O	3.75×10^7	1.375×10^9	36.666
feces + 0.1ml probiotics	3.75×10^7	3.25×10^8	8.666
feces + 1ml ddH ₂ O	3.75×10^7	2.375×10^9	63.333
feces + 1ml probiotics	3.75×10^7	9.375×10^7	2.5

益生菌液對於大腸菌生長影響 (3)

以益生菌處理糞便對於糞便中大腸菌成長影響			
	處理前菌落數(CFU)	處理後菌落數(CFU)	E.coli 成長倍數
feces	2.875×10^7	6.625×10^8	23.043
feces + 0.1ml ddH ₂ O	2.875×10^7	9.500×10^8	33.043
feces + 0.1ml probiotics	2.875×10^7	3.1625×10^8	11
feces + 1ml ddH ₂ O	2.875×10^7	1.6625×10^9	57.826
feces + 1ml probiotics	2.875×10^7	6.625×10^7	2.304

堆肥舍測試

堆肥舍原始指標氣體濃度(ppm)										
	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5	
Ammonia	8	9	8	7	8	8	7	9	8	8
Amines	22	23	23	18	23	22	19	22	21	22
Acetic acid	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12
Butyric acid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.19	0.2	0.2	0.2	0.19	0.2
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

經過灑水之後堆肥舍指標氣體濃度變化情形(ppm)										
	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5	
Ammonia	8	9.5	12.5	10	14.5	13	13	11	14	11
Amines	23	28	43	38	53	46	49	43	51	42
Acetic acid	0.13	0.25	0.2	0.25	0.22	0.3	0.25	0.22	0.4	0.3
Butyric acid	0.2	0.38	0.25	0.38	0.3	0.45	0.37	0.35	0.6	0.45
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.13	0.1	0.15	0.14	0.2	0.18	0.3	0.28
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

經由混合益生菌噴灑之後指標氣體變化情形(ppm)										
	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5	
Ammonia	8	7	9	8	8	8	9	7	11	9
Amines	22	16	23	22	23	21	23	16	31	23
Acetic acid	0.13	0.13	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	—
Butyric acid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.08	—	—	—	—	—	—	—
Phenol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限



保育舍測試 (1)

保育舍未經處理氣體濃度變化情形 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	5	5.2	5.5	5.3	5.1	4.8
Amines	5.4	6.4	7.1	5.9	5.5	5.3
Acetic acid	—	0.1	0.13	0.13	0.2	0.18
Butyric acid	—	0.13	0.17	0.16	0.27	0.24
Hydrogen sulfide	—	0.05	0.05	0.06	0.05	0.07
Phenol	—	—	—	—	—	—
噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	3.2	3.5	3	3.1	3.3	3.3
Amines	3.9	4.1	3.6	3.5	4	4.2
Acetic acid	0.15	—	—	—	—	—
Butyric acid	0.2	—	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	0.05	—	—	—	—	—
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—” 表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	5	5	5.5	4	4	4.5
Amines	5.5	6.2	7	6.5	5.3	5.3
Acetic acid	0.125	0.25	0.5	0.8	1	0.95
Butyric acid	0.17	0.32	0.7	1	1.3	1.25
Hydrogen sulfide	0.05	0.1	0.1	0.15	0.13	0.15
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

保育舍測試 (2)

保育舍未經處理氣體濃度變化情形 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	4.1	4.3	4.3	4.5	5.1	5.3
Amines	4.6	5.2	5	5.5	6.2	6.7
Acetic acid	0.1	0.125	0.15	0.14	0.17	0.2
Butyric acid	0.14	0.17	0.19	0.18	0.22	0.25
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05
Phenol	—	—	—	—	—	—

噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	4.1	5	4.3	4.5	5.5	5.3
Amines	4.5	7	5.1	5.7	8	8
Acetic acid	0.125	0.125	0.15	0.5	0.6	1
Butyric acid	0.16	0.16	0.2	0.65	0.9	1.3
Hydrogen sulfide	0.05	0.1	0.1	0.1	0.13	0.2
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

噴灑地下水前後指標氣體濃度差異(ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	3.8	3.8	4.2	4	4.1	3.9
Amines	4.5	4.1	4.9	4.7	4.9	4.2
Acetic acid	0.125	—	—	—	—	—
Butyric acid	0.17	—	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	0.05	—	—	—	—	—
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

保育舍測試 (3)

保育舍未經處理氣體濃度變化情形 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	3	3.1	3.5	4.3	3.9	4.1
Amines	3.7	4.2	4.5	6.1	5.1	5.5
Acetic acid	—	0.1	0.12	0.12	0.15	0.16
Butyric acid	—	0.14	0.33	0.15	0.2	0.21
Hydrogen sulfide	—	0.05	0.05	0.05	0.05	0.07
Phenol	—	—	—	—	—	—

噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	3	3.1	3.5	4.3	3	5
Amines	4.3	4.5	5.2	6.8	7	5.5
Acetic acid	0.125	0.15	0.25	0.7	0.65	0.8
Butyric acid	0.17	0.19	0.33	0.9	0.84	1.05
Hydrogen sulfide	0.05	0.05	0.05	0.2	0.19	0.25
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限

噴灑地下水前後指標氣體濃度差異 (ppm)						
	Day 1		Day 2		Day 3	
Ammonia	5	5.2	4	4.1	3.6	3.6
Amines	6.1	6.7	4.3	4.3	3.9	4.1
Acetic acid	0.2	—	—	—	—	—
Butyric acid	0.25	—	—	—	—	—
Hydrogen sulfide	0.1	—	—	—	—	—
Phenol	—	—	—	—	—	—

註：“—”表示所偵測氣體低於簡知管偵測極限