

# 益生菌發酵物用於動物免疫調節、抗氧化及抗菌之機能性飼料添加物開發

撰文/莊文揚·李滋泰

## 肉雞飼養面臨的問題與趨勢

抗生素生長促進劑用於畜牧業以增加動物的飼料效率、降低發炎反應與抗病原菌已行之有年。然而，自西元 2000 年起，世界各國漸漸意識到濫用抗生素生長促進劑可能導致具有高度耐藥性的超級細菌產生，未免人類世界在不久的將來面臨無藥可用的窘境，歐盟自西元 2006 年始禁用抗生素作為動物生長促進劑。

隨著抗生素之禁用，人們必須尋找同時兼顧環境及動物生產的抗生素替代品以面對高度工業化的現代畜牧業需求。因此，找到一種新的、有效、便宜、安全且能促進動物生長和健康的功能的飼料添加物是當務之急。但是，就我們所知，這種成分尚未被科學家發現。幸運的是，自然界中仍存在許多對動物健康有正面效益的物質，包含益生菌、益生質、植物多酚或中藥草等。此外，植物來源的物質也含有多種天然的化合物，包含酚類、黃酮、皂苷及

烯類等。根據植物的種類不同，其可能包含不同種類及含量的化合物，但大多都具有良好的抗氧化及抗發炎活性。提高動物的抗炎及抗氧化能力能協助動物面對環境緊迫 (Chuang *et al.*, 2020)。

除上述問題外，隨著全球氣候變化，玉米和大豆等商品飼料原料的價格持續上漲。考慮到肉雞的飼養成本，尋找能夠維持動物生長和健康的低價替代品變得越來越重要。農業資源物（副產物）是農

業生產過程中必不可免的產出，包含麩皮、稻殼和稻草等，但它們通常沒有被有效利用。另一方面，飼料至少佔動物產品生產成本的一半。為了有效降低動物生產成本並增加農業副產物的價值，先前的研究表明，可以將農業副產物添加於動物飼料中，甚至作為部分取代的原料。但是，過去多半認為高纖維農業副產物可能會降低單胃動物的生產性能，因此此作法未受動物生產者的青睞。然而，越來越多的研究指出，合理使用農業副產物作為動物飼料不會降低動物的生產性能，甚至可能有助於改善動物健康，高纖維飼料成分還有助於增強動物的腸道屏障及抗氧化能力，並降低發炎反應，而提高動物的抗氧化能力可以協助動物應對突如其來的氧化壓力，無論其來自環境還是病原細菌。此外，使用益生菌或酶先行在體外降解農業副產物，將進一步提高其利用率。因此，必須找到新的農業副產物作為替代品。

每年全世界生產數百萬噸的小麥，麩皮是小麥加工後的主要副產物。麩皮中含有高量的多酚代謝產物，可以增強動物的抗氧化能力。但是，麩皮具高纖維、含約 1% 的植酸磷（占麩皮總磷約 84 %）等特性，以及具高度黴菌毒素污染的風險降低其可利用性。幸運的是，透過益生菌和植酸酶共同發酵可以克服利用麩皮的障礙，而酵母細胞壁富含  $\beta$ -葡聚糖和甘露聚糖，可以調節動物的免疫力並保護宿主

免受黴菌毒素的破壞。儘管過去的研究發現，添加釀酒酵母菌粉不會改善動物的生長表現，但可增加絨毛高度並減少腸道中的大腸桿菌數量。此外，釀酒酵母菌也能分泌多種酵素，包含蛋白酶、木聚醣酶和纖維素酶等。除釀酒酵母外，先前的研究亦指出，同樣作為通常被認為安全 (Generally recognized as safe, GRAS) 益生菌的米麴菌亦具有作為飼料發酵用益生菌之潛力，其亦具有良好的酵素分泌能力，且可以增加發酵物中粗蛋白的含量。此外，許多研究表明，經過液化澱粉芽孢桿菌、釀酒酵母菌或白腐真菌等多益生菌發酵麩皮後，其利用價值將會提高。此外，先前的研究指出，益生菌可以降低動物的炎症反應 (Chuang *et al.*, 2020)，而植酸 (肌醇六磷酸) 具有很高的磷含量，可以螯合鈉、鈣或胺基酸等營養素，進而影響動物對營養物質的吸收和利用。因此，添加植酸酶可以解決上述問題，並增加離胺酸、甲硫胺酸、胱胺酸和羥丁胺酸等胺基酸消化率、增加脛骨重量及磷蓄積比例。

近年來，益生菌發酵物 (Postbiotic) 新概念出現，與益生菌、益生質或合生元不同，益生菌發酵物中除了益生菌及降解後的益生質外，也富含發酵後所產生的代謝物。總而言之，為了降低農業副產物的利用限制，益生菌及植酸酶共同發酵農業副產物可以解決高植酸及高纖維的問題 (Chuang *et al.*, 2020)。

### 肉雞飼養時所面臨的緊迫

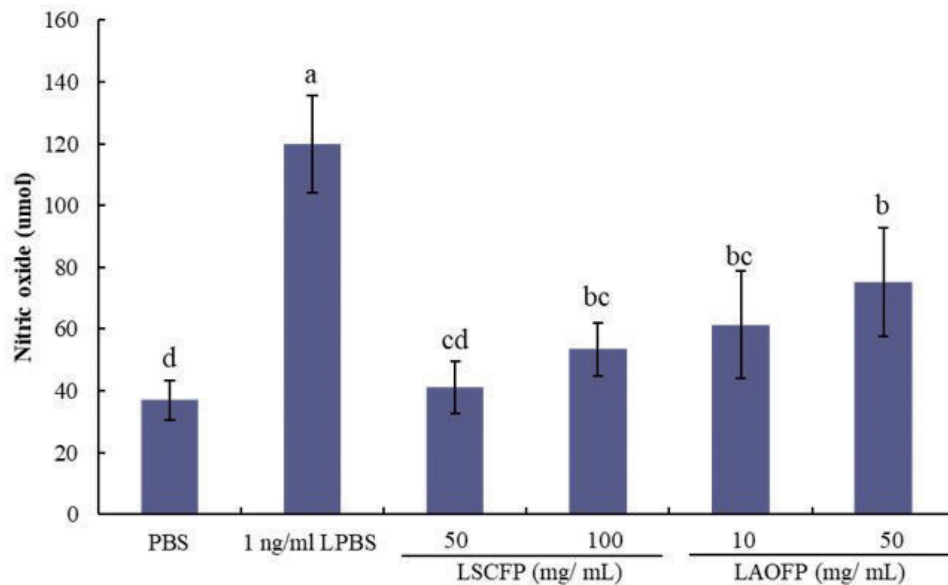
經濟動物之飼養過程會面臨高密度、熱緊迫及環境中存在的病原體 (原蟲、寄生蟲、病原菌或病毒等) 引起的氧化壓力。無論動物面臨慢性或急性緊迫，動物都將透過上調 Nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) 與 Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 等發炎因子並促進 Reactive oxygen species (ROS) 及 Reactive nitrogen species (RNS) 產生。雖然 ROS 及 RNS 的產生旨在協助動物面對病原微生物，但也可能破壞動物細胞。此外，面對病原體，免疫細胞 (T 細胞、B 細胞或自然殺手細胞等) 也將過度增殖並造成不必要的

能量浪費，這些都對經濟動物的生產產生負面影響。

面對過度的氧化壓力，動物也有抗氧化系統來降低氧化壓力對健康細胞的影響。依照作用機制進行分類，動物的抗氧化系統可以被歸類為酵素類或非酵素類的。前者包含 Superoxide dismutase (SOD) 及 Glutathione peroxidase 1 (GPx) 等，透過還原被氧化的電子載體或將 ROS 水解完成抗氧化的作用；後者包含 Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf-2) 及其下游因子，透過轉移自由基的電子以達成抗氧化的作用。而多酚和類黃酮可直接與帶有自由基的過氧化物結合，也能改善宿主的 SOD、Gpx 和 Nrf2 的表達來顯著提高宿主的抗氧化能力 (Chuang *et al.*, 2019)。

除了氧化壓力外，在飼養端，動物容易因為環境緊迫或微生物感染而處在慢性發炎的狀態。動物發炎表示動物必須耗費額外的能量來產生發炎因子，同時因發炎所帶來的不適將使動物精神萎靡及食慾不振。發炎同時也是一把雙面刃，在協助動物抵抗外來病原菌的同時，也可能造成動物猝死。常見的上游發炎因子包含 NF $\kappa$ B 及 interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ )，其將導致動物耗費能量產生大量的一氧化氮 (NO) 並形成 reactive nitrogen species (RNS) 來對抗外來因子。普遍認為，避免動物產生過度的發炎反應可以降低動物的能量浪費，並降低動物猝死的機率。然而，單單降低動物的發炎反應卻不解決造成發炎的原因仍具有風險。因此當動物因緊迫或環境因子造成發炎反應時，應首先降低其發炎反應的產生並予以合適的治療或去除緊迫源以協助動物維持健康的狀態。不僅如此，飼養動物時，面對病原菌之概念應為防病優於治病。換句話說，若能適當提升動物的免疫力，使動物即使面臨緊迫時也能及時地面對，並與此同時降低環境緊迫源，使動物不致於面對過高的環境壓力或病原菌的侵擾，雙管齊下的結果將使動物免於處於慢性緊迫的壓力之下。

NF- $\kappa$ B 是調節發炎的主要途徑之一，可由外部刺激如細菌感染、病毒性疾病和發炎誘導 (圖一)。



註：Phosphate buffer solution (PBS, control), 1 ng/mL lipopolysaccharide (LPBS, negative control), 50 mg/mL *Saccharomyces cerevisiae* fermented products extraction, and 1 ng/mL LPS include (50 mg/mL LSCFP), 100 mg/mL *Saccharomyces cerevisiae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS include (100 mg/mL LSCFP), 10 mg/mL *Aspergillus oryzae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS include (10 mg/mL LAOFP), and 25 mg/mL *Aspergillus oryzae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS include (25 mg/mL LAOFP). <sup>a,b,c,d</sup> Means within the same rows without the same superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). (Chuang *et al.*, 2019)。

圖一 肉雞周邊單核球細胞之一氧化氮釋出量

I $\kappa$ Bs 是一調節蛋白質家族，與 NF- $\kappa$ B 亞基 (p50 和 p65) 形成複合物，並將 NF- $\kappa$ B 留在細胞質中。當 I $\kappa$ Bs 被磷酸化時，NF- $\kappa$ B 被釋放並轉移到細胞核中，激活促發炎細胞因子的表達。因此，透過改善飼料組成以維持動物體組成與健康是相當重要的 (Chuang *et al.*, 2020)。

### 益生菌發酵菌粉

麩皮由 15 % 粗蛋白、4 % 粗脂肪、28 % 可溶碳水化合物及 42 % 不可溶纖維組成，另外包含約 1 % 的植酸鹽。而高纖維及高植酸含量都會造成動物對於養分的利用下降。因此將麩皮經過釀酒酵母菌及米麴菌發酵後產生的酵素可以對麩皮產生預消化的效果，並產出具有活性的酵素。過去的研究也有類似的結果，但過去只有定性，而沒有進行定量分析，因此透過本研究更能知道經過益生菌發酵後酵

素產生的多寡。

藉由釀酒酵母及米麴菌發酵後所產生的酵素可以降解纖維素及半纖維素 (包含木聚醣, xylan 及  $\beta$ -葡聚醣,  $\beta$ -glucan)，促進纖維的分解並提供動物能量或改善動物腸道健康。此外，經過釀酒酵母及米麴菌發酵後，其粗蛋白都有提高的效果，尤其在米麴菌中粗蛋白提高較多。在過去的文獻指出，經由米麴菌發酵木薯會有類似的結果，不僅如此，其還可以促進真蛋白質的產生。粗蛋白提高的原因可能是因為在發酵過程中將澱粉及纖維類的營養成分降解，並將營養分進一步濃縮，因此提高了粗蛋白的含量 (Huang *et al.*, 2020; Chuang *et al.*, 2019)。

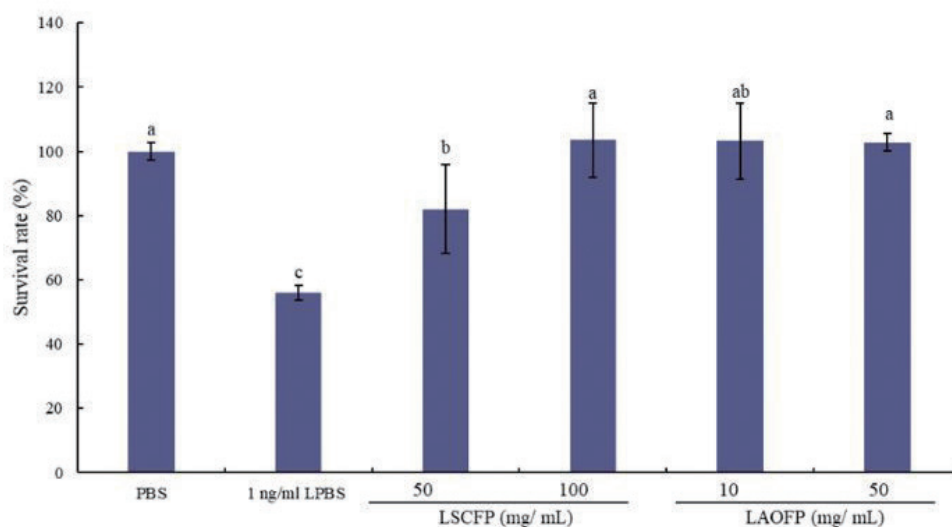
此外，將過酵母菌發酵後相對提高較多的酸洗纖維並減少了中洗纖維。中洗纖維含量下降是因為釀酒酵母菌或米麴菌分泌的木聚醣酶及  $\beta$ -glucanase 等酵素降解半纖維素所導致。而酸洗纖維的含量提

高則可能是因為纖維素與木質素相對其他營養成分降解的較少，因此在組成上產生了濃縮的效果。此外，釀酒酵母菌細胞壁中的 $\beta$ -葡聚糖以及甘露聚糖(mannan)以及米麴菌細胞壁中的 $\beta$ -葡聚糖及幾丁質都可能是酸洗纖維提高的原因。過去的文獻指出，釀酒酵母菌及米麴菌細胞壁中的葡聚糖及甘露聚糖具有抵抗毒素的效果。而LPS是一種格蘭氏陰性菌的胞外脂多醣結構，其會刺激chPBMCs釋出一氧化氮釋出。因此，將酵母菌發酵物及米麴菌發酵物與LPS共同加入chPBMCs中可抵抗LPS造成的傷害(圖一)。這個結果也可以在MTT assay的結果發現(圖二)(Chuang *et al.*, 2019)。

動物試驗中，無論是酵母菌或是米麴菌發酵物對肉雞的生產表現沒有顯著影響，此與過去的文獻之結果雷同(表一)。但是絨毛高度、肌肉厚度及絨毛腺窩比(Villus: crypt ratio)在空腸的部分，在SAFP(0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented

products)及AOFP(0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products)之處理組皆有顯著的提高，顯示SAFP及AOFP之處理皆可改善腸道健康(表二)。此外，腺窩深度下降則顯示動物可以花較少的能量於線窩的生成，以此減少能量的損失。

在血液的分析中，添加SCFP(0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products)似乎具有降低血液中尿酸的效果，而AOFP的效果則較差。因為SCFP的處理可以顯著降低血液中尿酸的含量，但AOFP則與對照組沒有顯著差異，而SAFP之效果則介在SCFP及AOFP之間(表三)。而尿酸蛋白質的代謝產物具有抗氧化的功能，但在細胞或細胞質中則會轉化為促氧化劑，並可能與心血管疾病有關。此外，尿酸也會促進炎症的產生並與胰島素抵抗和代謝失調有關。因此，於飼料中添加SCFP或AOFP具有防止心血管疾病並降低動物細胞的氧化壓力的潛力(Chuang *et al.*, 2020; Chuang *et al.*, 2019)。



註：Phosphate buffer solution (PBS, control), PBS and 1 ng/mL lipopolysaccharide (LPBS, positive control), 50 mg/mL *Saccharomyces cerevisiae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS included (50 mg/mL LSCFP), 100 mg/mL *Saccharomyces cerevisiae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS included (100 mg/mL LSCFP), 10 mg/mL *Aspergillus oryzae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS include (10 mg/mL LAOFP), and 25 mg/mL *Aspergillus oryzae* fermented products extraction and 1 ng/mL LPS include (25 mg/mL LAOFP). <sup>a,b,c</sup> Means within the same rows without the same superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). (Chuang *et al.*, 2019)。

圖二 肉雞周邊單核球細胞之細胞存活率試驗(MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay)

表一 飼糧中添加SCFP、SAFP及AOFP對肉雞生長性能之影響

Item	Treatments				SEM <sup>4</sup>	p Value
	Control <sup>1</sup>	SCFP <sup>1</sup>	SAFP <sup>2</sup>	AOFP <sup>3</sup>		
1–21 days						
Body weight, g/bird	837.3	868.1	867.3	844.3	10.31	0.15
Feed consumption, g/bird	964.9	945.8	970.0	907.5	63.68	0.89
Weight gain, g/bird	794.3	825.1	824.4	801.3	10.32	0.15
FCR <sup>5</sup>	1.15	1.09	1.12	1.07	0.08	0.88
22–35 days						
Body weight, g/bird	2163	2165	2229	2168	28.90	0.37
Feed consumption, g/bird	2267	1915	2079	1985	124.2	0.28
Weight gain, g/bird	1326	1297	1361	1324	28.10	0.49
FCR	1.71	1.48	1.53	1.50	0.11	0.48
1–35 days						
Feed consumption, g/bird	3232	2861	3049	2892	158.0	0.38
Weight gain, g/bird	2120	2122	2186	2125	28.90	0.37
FCR	1.49	1.32	1.37	1.33	0.08	0.45

<sup>1</sup>SCFP: 0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products group. <sup>2</sup>SAFP: 0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>3</sup>AOFP: 0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>4</sup>SEM: Standard error of the mean. <sup>5</sup>FCR: Feed conversion rate. (Chuang *et al.*, 2019)

表二 飼糧中添加SCFP、SAFP及AOFP對肉雞腸道型態之影響

Item	Treatments				SEM <sup>4</sup>	p Value
	Control <sup>1</sup>	SCFP <sup>1</sup>	SAFP <sup>2</sup>	AOFP <sup>3</sup>		
Jejunum						
Villus height (μm)	1163.95 <sup>b</sup>	1124.78 <sup>b</sup>	1508.93 <sup>a</sup>	1505.14 <sup>a</sup>	30.69	<0.0001
Crypt depth (μm)	237.37 <sup>a</sup>	182.37 <sup>c</sup>	203.43 <sup>bc</sup>	188.42 <sup>c</sup>	8.59	0.0002
<i>Tunica muscularis</i> (μm)	298.32 <sup>a</sup>	285.47 <sup>b</sup>	272.12 <sup>b</sup>	255.92 <sup>b</sup>	14.17	0.004
Villus: crypt	5.07 <sup>c</sup>	6.36 <sup>b</sup>	7.67 <sup>a</sup>	8.13 <sup>a</sup>	0.3	<0.0001
Ileum						
Villus height (μm)	1109.77	1055.33	1074	1050.13	19.04	0.1185
Crypt depth (μm)	209.25 <sup>a</sup>	173.25 <sup>b</sup>	201.29 <sup>a</sup>	157.32 <sup>b</sup>	6.82	<0.0001
<i>Tunica muscularis</i> (μm)	650.8	439.38	366.38	318.68	108.05	0.1453
Villus: crypt	5.52 <sup>b</sup>	6.25 <sup>ab</sup>	5.44 <sup>b</sup>	7.08 <sup>a</sup>	0.28	0.0005

<sup>1</sup>SCFP: 0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products group. <sup>2</sup>SAFP: 0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>3</sup>AOFP: 0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>4</sup>SEM: Standard error of the mean. <sup>a,b</sup> Means within the same rows without the same superscript letter are significantly different (p < 0.05). (Chuang *et al.*, 2019)

表三 飼糧中添加SCFP、SAFP及AOFP對肉雞血液生化值之影響

Items <sup>1</sup>	WBC	UA	CHOL	TG	HDL-C	LDL-C	Ca	P
Units	10 <sup>3</sup> /uL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Control	189.7 <sup>b</sup>	5.57 <sup>a</sup>	119.2	77.0	73.4	38.3	9.86	9.13
SCFP <sup>2</sup>	193.7 <sup>b</sup>	3.36 <sup>c</sup>	117.4	61.3	74.6	38.1	9.51	9.00
SAFP <sup>3</sup>	234.5 <sup>a</sup>	4.16 <sup>bc</sup>	133.2	89.1	81.3	41.8	9.99	8.94
AOFP <sup>4</sup>	185.4 <sup>b</sup>	4.69 <sup>ab</sup>	125.3	66.6	77.1	42.9	9.77	8.72
SEM <sup>5</sup>	4.35	0.35	5.84	8.19	3.67	2.95	0.12	0.34
<i>p</i> Value	0.001	0.001	0.236	0.102	0.448	0.576	0.064	0.860

<sup>1</sup>WBC: white blood cell; UA: uric acid; CHOL: cholesterol; TG: triglycerides; HDL: cholesterol-high-density lipoprotein; LDL-C: cholesterol-low-density lipoprotein; Ca: calcium; P: phosphorus. <sup>2</sup>SCFP: 0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products group. <sup>3</sup>SAFP: 0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>4</sup>AOFP: 0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>5</sup>SEM: standard error of the mean. <sup>a,b,c</sup> means within the same rows without the same superscript letter are significantly different (*p* < 0.05). (Chuang *et al.*, 2019)

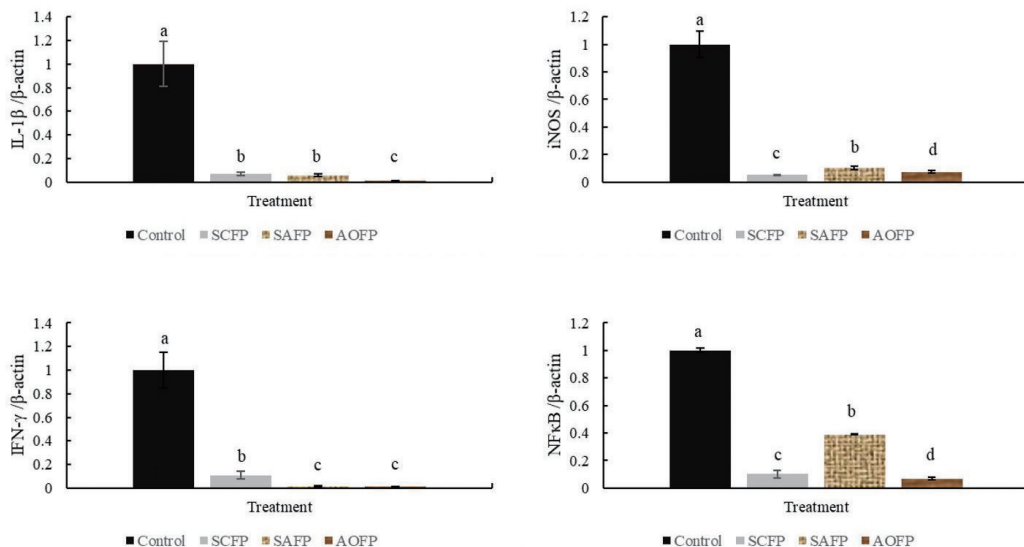
過去文獻指出，許多益生菌可以降低腸道中有害的微生物數量。添加 SCFP 或 AOFP 皆可以降低迴腸的產氣夾膜梭菌 (*Clostridium perfringens*) 濃度 (表四)。其中 SCFP 的效果在數值上較 AOFP 佳，而 SAFP 之效果則介在兩個處理組中間，惟數值並無顯著差異。抗菌的效果可能來自益生菌的生長競爭 *C. perfringens* 的生長資源，亦或是益生菌本身

產出的葡聚醣及甘露聚醣包裹了 *C. perfringens* 的毒素，並降低 *C. perfringens* 的競爭力 (Chuang *et al.*, 2020)。IL-1 $\beta$  作為一種細胞激素，其介導與細胞凋亡或促進發炎有關的路徑。其中包含激活 NF- $\kappa$ B 並促進一氧化氮產生的路徑，因此 IL-1 $\beta$  與 NF- $\kappa$ B 之表達呈正相關。而誘導型一氧化氮合酶 (iNOS) 的 mRNA 表達可以提高一氧化氮的產生，並與感染有

表四 飼糧中添加SCFP、SAFP及AOFP對肉雞腸道菌相之影響

Microbial Parameters	Treatments				SEM <sup>4</sup>	<i>p</i> Value
	Con	SCFP <sup>1</sup>	SAFP <sup>2</sup>	AOFP <sup>3</sup>		
log CFU/g						
Ileum						
<i>Clostridium perfringens</i>	7.84 <sup>a</sup>	7.02 <sup>b</sup>	7.05 <sup>b</sup>	7.22 <sup>b</sup>	0.12	0.0014
<i>Lactobacillus</i> spp.	8.35	8.84	8.25	8.91	0.39	0.1765
Caecum						
<i>Clostridium perfringens</i>	7.39	7.00	7.01	7.22	0.24	0.6770
<i>Lactobacillus</i> spp.	8.95	9.13	8.92	8.91	0.23	0.7039

<sup>1</sup>SCFP: 0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products group. <sup>2</sup>SAFP: 0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>3</sup>AOFP: 0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products group. <sup>4</sup>SEM: Standard error of the mean. <sup>a,b</sup> Means within the same rows without the same superscript letter are significantly different (*p* < 0.05). (Chuang *et al.*, 2019)



註：IL-1 $\beta$  (top left), iNOS (top right), IFN- $\gamma$  (bottom left), and NF $\kappa$ B (bottom right). The treatments are control, 0.1% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products group (SCFP), 0.05% *Saccharomyces cerevisiae* fermented products + 0.05% *Aspergillus oryzae* fermented products group (SAFP), 0.1% *Aspergillus oryzae* fermented products group (AOFP), respectively. Data is presented in mean  $\pm$  SE (n = 9). <sup>a,b,c,d</sup> Means within the same rows without the same superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). (Chuang *et al.*, 2019)。

圖三 添加益生菌發酵菌粉對肉雞周邊單核球細胞之發炎反應影響

關。IFN- $\gamma$  則與感染有關，當其濃度過高的時還可能促成自體免疫疾病。而 SCFP 及 AOFP 的添加都可以降低上述基因的表達，並減少發炎反應。炎症會導致許多慢性病，進而影響動物健康與壽命，當炎症反應下降時，可以降低動物的能量耗損，並增進細胞的存活，降低發炎反應的結果也跟細胞試驗的結果相似。文獻指出  $\beta$ -葡聚糖可以抑制 IL-1 $\beta$  的產生，並以此降低 NF- $\kappa$ B 介導的發炎反應。綜上所述，給予 SCFP 或 AOFP 皆可以透過抑制動物的發

炎相關的 mRNA 表達以降低動物的發炎反應，其中，以 AOFP 效果為佳 (圖三) (Chuang *et al.*, 2020)。

### 結論

使用益生菌發酵菌粉可改善肉雞之腸道型態並降低肉雞腸道中之產氣夾膜梭菌含量。此外，益生菌發酵菌粉亦可降低肉雞之發炎反應。綜上所述，使用益生菌發酵菌粉可改善肉雞之生產並增加農副產物之價值。

AgBIO

莊文揚 國立中興大學 動物科學系 碩士生  
李滋泰 國立中興大學 動物科學系 教授

### 參考文獻

1. Chuang, W. Y., W. C. Lin, Y. C. Hsieh, C. M. Huang, S. C. Chang, and T. T. Lee. 2019. *Evaluation of the combined use of Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus oryzae with phytase fermentation products on growth, inflammatory, and intestinal morphology in broilers. Animals. Animals.* 10(3): 445. doi: 10.3390/ani10030445.
2. Chuang, W. Y., Y. C. Hsieh and T. T. Lee. 2020. *The effects of fungal feed additives in animals: a review. Animals.* 10(5): 805. doi: 10.3390/ani10050805.
3. Huang C. M., W. Y. Chuang, W. C. Lin, L. J. Lin, S. C. Chang and T. T. Lee. 2020. *Production performances and antioxidant activities of laying hens fed Aspergillus oryzae and phytase co-fermented wheat bran. Asian-Aust. J. Anim. Sci. (accepted).*