

文章编号: 1001-411X(2002)01-0063-04

酸制剂对黑麦草青贮饲料发酵品质和微生物菌群的影响

管武太¹, F. DRIEHUIS², P. van WIKSELAAR²

(1 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642;

2 Department of Animal Nutrition, Institute for Animal Science and Health (ID-DLO), The Netherlands)

摘要: 以多年生黑麦草为试验材料, 通过添加甲酸或硫酸以检测酸制剂对青贮饲料发酵过程中干物质损失、酸度变化、微生物菌群变化及发酵品质的影响。青贮发酵试验用 1 L 魏氏(Weck)玻璃发酵罐进行, 青贮期为 106 d。结果表明, 添加甲酸或硫酸可明显抑制正常的乳酸发酵, 使发酵产物的浓度降低, 且随甲酸或硫酸添加量的增加抑制增强。酸制剂可明显减少青贮饲料发酵过程中干物质的损失。

关键词: 酸制剂; 黑麦草; 发酵品质

中图分类号: S816.53

文献标识码: A

由于青饲料水分含量高, 在正常情况下易腐烂造成营养物质的大量损失, 因此青贮成为保存青饲料营养价值的常用方法。为了减少青贮发酵过程中营养物质的损失, 酸制剂被广泛应用于青贮饲料的制作中^[1~4]。甲酸的作用机制相当复杂, 它不仅降低青贮时的 pH 而且具有特殊的抗微生物效果, 如在低浓度(添加 2 L/t)时可抑制梭状芽胞杆菌, 而且当浓度增加时可抑制乳酸菌的繁殖^[1]。本试验的目的是研究在萎蔫的黑麦草青贮时添加甲酸或硫酸对黑麦草青贮饲料发酵品质和微生物菌群变化的影响。

1 材料与方法

1.1 试验方法

以萎蔫后的多年生黑麦草(*Lolium perenne*)为试验材料, 用 1 L 魏氏(Weck)玻璃发酵罐按照 Driehuis 等法^[9]进行青贮试验。

1.2 试验设计

多年生黑麦草萎蔫后均匀喷洒不同溶液组成不同处理, 共分 5 个处理, 每处理 12 个罐, 每个发酵罐为 1 个重复单位。即 1)对照: 去离子水添加量为 25 g/kg; 2)处理 1: 甲酸溶液添加量为 25 g/kg, 其中含甲酸 3.0 g; 3)处理 2: 甲酸溶液添加量为 25 g/kg, 其中含甲酸 6.0 g; 4)处理 3: 硫酸溶液添加量为 25 g/kg, 其中含硫酸 3.0 g; 5)处理 4: 硫酸溶液添加量为

25 g/kg, 其中含硫酸 6.0 g。

1.3 样品制备与分析

(1)试草样品制备及测定指标: 试草样品制备按照 Driehuis 等^[9]法进行。测定指标包括 pH, 干物质(DM), 灰分, 中性洗涤纤维(NDF), 酸性洗涤纤维(ADF), 可溶性碳水化合物, 粗蛋白, 乳酸菌总量, 乳酸杆菌, 酵母和霉菌。

(2)青贮料样品制备及测定指标: 样品制备按照 Spoelstra^[7]法进行。测定指标包括 pH, 干物质, 乙醇, 挥发性脂肪酸(VFA), 乳酸, 可溶性碳水化合物、乳酸菌总量, 乳酸杆菌, 酵母和霉菌。

(3)分析方法: pH、干物质、灰分、NDF、ADF、粗蛋白按照 van Vuuren 等^[5]法测定。可溶性碳水化合物含量、乳酸、VFA、乙醇浓度的测定按照 Driehuis 等^[9]法测定。氨态氮浓度按照 Robinson 等^[8]法测定。乳酸杆菌、乳酸菌总量、酵母和霉菌的计数按照 Reuter^[9]法进行。

1.4 数据处理与统计分析

数据用 STASTIXS 程序分析, 处理间差异用 LSD 法进行。

2 结果与分析

2.1 青贮时试草的化学组成

试草的组成见表 1。另外乳酸菌总量、乳酸杆菌、酵母和霉菌的对数值分别为 4.48、4.48、3.34 和 3.2。

收稿日期: 2001-05-10

作者简介: 管武太(1963-), 男, 副教授, 博士。

基金项目: 荷兰农业部资助课题的部分研究内容

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

表 1 试草的化学分析结果
Tab. 1 Chemical analysis of the fresh grass

指标 items	风干基础	绝干基础
	on the basis of air-dried matter	on the basis of absolute dried matter
w(干物质 dry matter)/ (g°kg ⁻¹)	459. 6	432. 2
w(粗蛋白 crude protein)/ (g°kg ⁻¹)	224. 4	238. 8
w(可溶性碳水化合物 water soluble carbohydrate)/ (g°kg ⁻¹)	85. 3	90. 7
w(粗灰分 crude ash)/ (g°kg ⁻¹)	93. 5	99. 4
w(中性洗涤纤维 neutral detergent fiber, NDF)/ (g°kg ⁻¹)	426	453
w(酸性洗涤纤维 acid detergent fiber, ADF)/ (g°kg ⁻¹)	224. 0	238. 2

2.2 青贮过程中微生物群落、DM 损失和 pH 变化

青贮过程中微生物群落、DM 损失和 pH 变化见表 2。除了添加 6 g°kg⁻¹甲酸对乳酸菌总量和乳酸杆菌的生长有明显的抑制外，其他处理组仅在青贮的早期表现出轻微的抑制，随后抑制作用越来越小。酵母数量各处理间随采样时间(从开始到第 42 d)变化较大，从第 42~106 d 保持相对稳定。与对照相比，所有添加酸制剂的青贮料酵母菌数量较高，添加硫酸尤其添加量在 6 g°kg⁻¹时明显提高酵母菌数量。在用 6 g°kg⁻¹甲酸或

表 2 青贮过程中微生物数量、干物质损失和 pH 的变化
Tab. 2 Changes in microflora dry matter loss and pH during ensilage

指标 items	t/ d	对照 control	甲 酸		硫 酸	
			fomic acid		sulphuric acid	
			3 g	6 g	3 g	6 g
乳酸菌总量 ¹⁾ total lactic acid bacteria	0	4. 48	4. 48	4. 48	4. 48	4. 48
	7	8. 93	8. 46	8. 05	8. 51	8. 56
	42	8. 45	8. 05	7. 65	8. 30	8. 05
	106	7. 73	7. 87	6. 63	7. 80	7. 87
乳酸杆菌 ¹⁾ lactobacilli	0	4. 48	4. 48	4. 48	4. 48	4. 48
	7	8. 93	8. 43	8. 0	8. 43	8. 50
	42	8. 45	8. 05	7. 65	8. 30	8. 10
	106	7. 83	7. 87	6. 6	7. 93	7. 86
酵母 yeast ¹⁾	0	3. 34	3. 34	3. 34	3. 34	3. 34
	7	< 2	3. 15	3. 67	3. 58	< 2. 70
	42	2. 35	2. 95	2. 80	3. 05	3. 65
	106	< 2	2. 60	2. 53	3. 23	3. 63
霉菌 mould ¹⁾	0	3. 2	3. 2	3. 2	3. 2	3. 2
	7	< 2	3. 3	3	< 2	< 2
	42	2. 15	2. 15	2. 45	2. 75	2. 15
	106	< 2	< 2	2. 27	< 2	< 2
pH	0	6. 29	5. 23	4. 18	5. 97	5. 21
	7	5. 56	5. 51	5. 19	5. 34	5. 3
	42	4. 56	4. 72	4. 77	4. 65	4. 5
	106	4. 49	4. 62	4. 70	4. 51	4. 35
干物质损失 dry matter loss (g°kg ⁻¹)	0	0	0	0	0	0
	7	7. 52	4. 27	3. 54	6. 53	6. 24
	42	19. 36	10. 29	5. 90	14. 89	12. 78
	106	23. 26	13. 83	7. 73	19. 55	17. 49

1) 为每 g 青贮料中微生物菌群的对数值
©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

6 g·kg⁻¹硫酸处理的青贮料中霉菌数量呈现明显的下降趋势, 在相同的时间点后者比前者霉菌数量减少. 而用 3 g·kg⁻¹硫酸处理的青贮料中从开始到第 7 d 霉菌数量呈明显的下降趋势, 但从 7~42 d 又显著升高, 然后又趋于降低, 呈现无规律性.

添加甲酸或硫酸可降低青贮开始时的 pH, 且随添加水平增加 pH 下降幅度增大, 但所有处理组的最终 pH 均与对照相近. 添加甲酸或硫酸能显著降低整个贮存期 DM 损失, 酸添加量增加 DM 损失减少, 且甲酸的作用在两个添加水平的效果均强于硫酸.

2.3 青贮过程中发酵产物的变化

试验结束时青贮料的发酵产物和化学组成见表 3. 结果表明青贮料的 DM 含量在 412.7~427.1 g·kg⁻¹, 各处理间无明显差异($P>0.05$). 对照组是正常的乳酸发酵, 有较高的乳酸($P<0.05$)、氨态氮($P<0.05$)和乙酸含量($P<0.05$). 甲酸处理组(3 和

6 g·kg⁻¹两个添加水平)能很好地贮存, 其乳酸($P<0.05$)、乙酸($P<0.05$)、氨态氮($P<0.05$)、乙醇($P<0.05$)和丙酸($P>0.05$)含量低于对照组. 添加 6 与 3 g·kg⁻¹甲酸相比, 前者发酵产物浓度更低($P<0.05$), 表明添加量增加对乳酸发酵的抑制效果增强. 与甲酸处理组相似, 硫酸处理组(3 和 6 g·kg⁻¹两个添加水平)能很好地贮存, 青贮料中乳酸($P<0.05$)、乙酸($P<0.05$)和丙酸($P>0.05$)浓度均低于对照组. 添加 6 与 3 g·kg⁻¹硫酸相比, 发酵产物中乙醇浓度明显降低($P<0.05$). 硫酸处理组与对照相比, 氨态氮无明显差异($P>0.05$). 所有青贮料中未发现丁酸. 以上结果显示, 在萎蔫后的多年生黑麦草青贮发酵中添加甲酸或硫酸能显著降低整个贮存期 DM 损失, 随着酸添加量增加 DM 损失进一步减少, 发酵完成后发酵产物浓度较低可能是因为抑制了乳酸菌发酵.

表 3 青贮 106 d 后青贮料发酵产物的化学组成¹⁾
Tab. 3 Chemical composition of fermentation products in silage on 106 d after ensilage

指标 items	对照 control	甲 酸		硫 酸		SED
		fomic acid		sulphuric acid		
		3 g	6 g	3 g	6 g	
w(干物质 dry matter)/(g°kg ⁻¹)	412.70 ^a	414.30 ^a	418.20 ^a	427.10 ^a	420.90 ^a	6.96
pH	4.49 ^c	4.62 ^{ab}	4.70 ^a	4.51 ^{bc}	4.35 ^d	0.05
w(乙醇 ethanol)/(g°kg ⁻¹)	6.31 ^{ab}	4.40 ^c	3.12 ^d	6.85 ^a	5.46 ^{bc}	0.50
w(乙酸 acetic acid)/(g°kg ⁻¹)	13.08 ^a	8.05 ^b	3.96 ^c	9.28 ^b	9.04 ^b	0.82
w(丙酸 propionic acid)/(g°kg ⁻¹)	0.23 ^a	0.16 ^a	0.00 ^b	0.12 ^a	0.10 ^a	0.11
w(乳酸 lactic acid)/(g°kg ⁻¹)	75.4 ^a	45.1 ^b	11.8 ^c	44.6 ^b	34.6 ^b	5.4
w 氨态氮(ammonia-N)/(g°kg ⁻¹)	3.02 ^a	2.24 ^b	1.58 ^d	2.05 ^{bc}	1.79 ^{cd}	0.13
w(丁酸 butyric acid)/(g°kg ⁻¹)	—	—	—	—	—	—

1) 表中同行不同字母示差异显著($P<0.05$), 相同字母示差异不显著($P>0.05$)

3 讨论

青贮是保存饲料作物及牧草采后营养成分的一种常用方法, 其基本原理是利用好气性微生物和植物细胞本身的呼吸作用使青贮窖内尽快形成厌氧环境从而抑制有害微生物的生长使饲料的营养成分得以保存. 多年生黑麦草由于对酸的缓冲力(buffering capacity)较高而可溶性糖含量较低, 因此用黑麦草青贮时需要使用添加剂才能保证有良好的发酵质量^[3]. 成功制作黑麦草青贮料的另一条途径是先将新鲜的黑麦草萎蔫到 DM 含量在 400~500 g·kg⁻¹ 范围内再青贮, 这种方法在荷兰广泛应用^[9]. 但 1994~1998 年在荷兰 ID-DLO 所做的大量青贮试验发现, 用萎蔫到 DM 含量在 400~500 g·kg⁻¹ 范围内的黑麦草青贮时发酵的主产物是乙醇而非乳酸, 显示发酵过程是酒精发酵而非乳酸发酵^[6,10], 因此如何成功制作黑麦草青贮

饲料非常重要. 本试验结果显示用甲酸处理萎蔫到 DM 含量在 450 g·kg⁻¹ 的黑麦草明显抑制正常的乳酸发酵, 尤其甲酸添加量在 6 g·kg⁻¹ 时效果更为明显, 其特征是 DM 损失明显降低同时发酵产物的浓度减少. 发酵完成后甲酸处理的青贮料比对照 pH 较高的原因可能是由于抑制了正常的乳酸发酵, VFA 浓度较低所致, 这与发酵过程中乳酸菌总量和乳酸杆菌的变化相吻合. 本研究中甲酸的作用效果与前人的研究结果^[1,2] 较为一致. 添加硫酸同样也明显抑制正常的乳酸发酵, 但与添加相当量的甲酸组相比效果较弱, 发酵过程中 DM 损失、乳酸菌总量和乳酸杆菌的变化可证实这一点. 添加硫酸尤其是增大添加量造成酵母菌数量增加, 与前人的研究结果^[1] 一致. 本试验中只有硫酸添加量 3 g·kg⁻¹ 时乙醇的浓度略有升高, 然而前人^[1,2,10] 结果显示, 在玉米和低 DM 含量的黑麦草青贮料中由于酵母含量显著增加而造成乙醇含量浓度较

高. 添加酸制剂后酵母含量增加从而抑制乳酸菌的生长和繁殖. 因为在同一个生态体系中不同的菌群间存在对底物的竞争而相互抑制. 添加硫酸虽酵母数量增加但乙醇产量无明显变化的原因是酵母菌生长条件与其代谢条件不一致. 菌体含量高乙醇产量不一定高. 其次是发酵过程中乳酸菌仍是占绝对优势的发酵菌群的缘故. 总之, 添加甲酸或硫酸不仅是成功制作黑麦草青贮料的一种有效方法, 而且能明显减少发酵过程中 DM 损失.

参考文献:

[1] DAVIT G, CHAMBERLAIN J Q. The effects of the rate of addition of formic acid and sulphuric acid on the ensilage of perennial ryegrass in laboratory silos [J] . Journal of the Science of Food and Agriculture, 1987, 38: 217— 228.

[2] DRIEHUIS F, van WIKSELAAR P G. Effects of addition of formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability [A] . JONES D I H, JONES R DEWHURST R, et al. Proceedings 11th international silage conference[C] . Aberystwyth: [S. N.], 1996. 256— 257.

[3] WILKINSON J M. Silage U K [M] . Marlow: Chalcombe Publications, 1986. 1— 5.

[4] 郭金双, 赵广永, 冯仰廉 等. 甲酸对大麦青贮品质及中

性洗涤纤维瘤胃降解率的影响 [J] . 中国畜牧杂志, 2000, 36(6): 21— 22.

[5] van VUUREN A M, van DER K, VALK C J, et al. Effects of partial replacement of ryegrass by low protein feeds on rumen fermentation and nitrogen loss by dairy cows[J] . Journal of Dairy Science, 1993, 76, 2: 982— 2 993.

[6] DRIEHUIS F, van WIKSELAAR P G, van VUUREN A M, et al. Effects of a bacteria inoculant on rate of fermentation and chemical composition of high dry matter grass silage[J] . Journal of Agricultural Science, 1997, 128: 323— 329.

[7] SPOELSTRA S F. Inhibition of clostridia growth by nitrate during the early phase of silage fermentation[J] . Journal of the Science of Food and Agriculture, 1993, 34: 145— 152.

[8] ROBINSON P H, TAMMINGA S, van VUUREN A M. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on rumen fermentation in dairy cows [J] . Livestock Production Science, 1986, 15: 173— 189.

[9] REUTER G. Elective and selective media for lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 1985, 2: 55— 68.

[10] DRIEHUIS F, van WIKSELAAR P G. The composition of high dry matter grass silage in the Netherlands with special attention to fermentation products[M] . Lelystad: ID— DLO Publications, 1995. 1— 15.

Effect of Acidifiers on Microbial Flora and Fermentation Characteristics in High Dry Matter Grass Silages

GUAN Wu—tai¹, F. DRIEHUIS², P. van WIKSELAAR²

(1 College of Animal Science, South China Agric. Unive, Guangzhou 510642 China; 2 Department of Animal Nutrition, Institute for Animal Science and Health (ID— DIO), The Netherlands)

Abstract: Perennial ryegrass was ensiled in 1—L laboratory jars after adding formic acid or sulphuric acid to evaluate the effects of acidifiers on DM loss, acidification, microflora and fermentation characteristics. Jars were 1 L Weck glass jars with 106 days storage period. Results showed that addition of formic acid or sulphuric acid significantly suppressed normal lactic acid fermentation, reduced the yield of fermentation products and remarkably decreased nutrients loss during the ensiling.

Key words: acidifier; ryegrass; fermentation characteristics

【责任编辑 柴 焰】