

蔡观容,董臣飞,田吉鹏,等.混合青贮对西兰花尾菜青贮发酵品质的影响[J].江苏农业科学,2020,48(22):190-196.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.036

# 混合青贮对西兰花尾菜青贮发酵品质的影响

蔡观容<sup>1,2</sup>,董臣飞<sup>1,2</sup>,田吉鹏<sup>1,2</sup>,许能祥<sup>1,2</sup>,程云辉<sup>1,2</sup>,于怀华<sup>3</sup>,顾洪如<sup>1,2</sup>

(1.江苏省农业科学院畜牧研究所,江苏南京 210014;2.农业农村部种养殖结合重点实验室,江苏南京 210014;

3.徐州鑫华农业发展有限公司,江苏徐州 221600)

**摘要:**为了探究米粉、米糠与西兰花尾菜以不同比例混合以及不同添加剂对混合饲料青贮发酵品质、营养品质和微生物数量的影响,分别进行如下试验设计:3种辅料处理,米糠、米粉混合质量比分别为1:1、2:1、3:1;4种西兰花尾菜与辅料的混合处理,西兰花尾菜、辅料混合的质量比分别为60:40、65:35、70:30、75:25;3种添加剂处理,分别为 $5 \times 10^5$  CFU/g 乳酸菌、0.2%食盐、对照(等量蒸馏水)。结果表明,所有混合青贮饲料均取得了良好的发酵效果;在米粉、米糠及西兰花尾菜混合青贮饲料中添加乳酸菌后,与对照组相比,pH值、氨态氮含量、乙酸(AA)含量显著降低,粗蛋白(CP)含量显著提高;随着辅料中米糠占比的提高,乳酸(LA)、AA、氨态氮、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、可溶性碳水化合物(WSC)含量总体显著增加,pH值和体外干物质消化率(IVDMD)总体显著下降,好氧细菌、乳酸菌、真菌数量与淀粉、CP含量总体显著减少;随着西兰花尾菜在青贮原料中所占比例的上升,干物质、氨态氮、WSC、淀粉含量总体显著降低,NDF、ADF、CP含量总体显著上升。结合发酵品质、营养品质和微生物数量等指标综合评估,添加乳酸菌、辅料中米糠、米粉质量比为2:1,且尾菜、辅料质量比为75:25的处理组青贮品质最佳。

**关键词:**西兰花尾菜;添加剂;米糠;米粉;混合青贮;辅料

**中图分类号:**S816.5<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)22-0190-06

随着人们生活水平的提高,肉蛋奶类食物在人们日常食物中的占比日益提高<sup>[1]</sup>,而畜牧业的快速发展导致我国南方饲草料供不应求,给畜牧业的健康发展带来了重大挑战<sup>[2-3]</sup>。随着居民对蔬菜质量要求的提高,蔬菜种植规模越来越大,在生产加工过程中产生的大量尾菜因未被利用而成为固体废弃物<sup>[4]</sup>。西兰花(*Brassica oleracea* L. var. *italic Planch*)因营养价值高而成为一种优质的高档蔬菜。据估算,我国的西兰花种植面积已超过2.7万hm<sup>2</sup>,每年的西兰花产量超过100万t,其中约产生45%~50%的西兰花尾菜(包括废弃茎叶、发育不全的茎球、因病虫害而受损的植株等),直接丢弃尾菜会造成环境污染,危害蔬菜生产基地,影响下茬蔬菜生长,给农户造成严重损失<sup>[5-6]</sup>。西兰花茎叶是一种潜在的植物蛋白饲料资源,开发西兰花尾菜作为非常规饲料原料来代替部分常规饲料,不仅可

降低饲料成本、获得可观的经济价值,亦可缓解人畜争粮矛盾和粮食供给压力,促进我国饲料工业的可持续发展<sup>[7]</sup>。

新鲜西兰花尾菜的水分含量比较高,无法长期保存。将未腐烂变质的尾菜加工成青贮饲料,可以降低尾菜的营养物质损失,较长期保存尾菜的青鲜状态,提高尾菜的适口性、消化率和营养价值,解决尾菜造成的环境问题,并实现尾菜的资源化利用<sup>[8-9]</sup>。直接青贮不能保证尾菜青贮的品质,而将高水分含量的原材料与高干物质含量的材料如麸皮、米糠或秸秆进行混合青贮,是减少渗出液、避免营养损失的有效途径<sup>[10-11]</sup>。钱仲仓等将西兰花茎叶含水量控制在75%以内,并添加 $10^5$  CFU/g 乳酸菌进行青贮后饲喂土猪,结果表明,青贮料可较好地提供土猪生长所需营养,并能节省饲料成本<sup>[12]</sup>。食盐不仅可以促进乳酸发酵,而且可以改善饲料的适口性,提高动物食欲。李大鹏在研究添加剂对玉米秸秆青贮质量的影响时发现,加入一定量的食盐可改善青贮饲料的品质,并起到一定的防腐作用,且研究结果显示,食盐的添加量为0.3%时效果最佳<sup>[13]</sup>。由此可见,通过将西兰花尾菜与干物质含量较高的辅料进行混合青贮,并添加一定量的添加剂

收稿日期:2020-03-13

基金项目:江苏省苏北科技专项(编号:XZ-SZ201812)。

作者简介:蔡观容(1995—),女,湖南株洲人,硕士,主要从事饲草调制与加工研究。E-mail:643743808@qq.com。

通信作者:顾洪如,研究员,从事农区牧草育种与利用研究。  
E-mail:guhongrujs@163.com。

可以提高混合青贮饲料的质量,从而实现西兰花尾菜的长期保存。

为了提高混合西兰花尾菜青贮饲料的发酵品质及营养品质,本研究将米糠、米粉按不同比例混合后作为辅料,与西兰花尾菜按不同比例进行混合青贮,并添加乳酸菌、食盐 2 种添加剂,分析青贮饲料的发酵品质、营养品质和微生物数量的变化,从中选出物料类型、混合比例及添加剂的最佳组合,以期为西兰花尾菜的资源化利用提供技术支持。

表 1 青贮原料的基本理化性质

原料	干物质(DM)含量(%)	干物质体外消化率(IVDMD)(%)	粗蛋白(CP)含量(%)	中性洗涤纤维(NDF)含量(%)	酸性洗涤纤维(ADF)含量(%)	可溶性碳水化合物(WSC)含量(%)	淀粉含量(%)
尾菜	10.06	92.24	21.281	27.85	16.12	6.31	8.08
米粉	89.04	98.09	9.724	4.60	0.03	2.76	68.54
米糠	87.42	33.73	5.188	59.93	42.79	2.17	4.81

注:表中指标以干物质为基础测定获得。

食盐添加剂由分析纯 NaCl 加水配制而成;乳酸菌来自江苏省农业科学院畜牧研究所,活力单位为  $5 \times 10^5$  CFU/g,主要成分包括植物乳杆菌、布氏乳杆菌和副干酪乳杆菌。

## 1.2 试验设计与方法

采取 3 因素随机区组设计,设 3 次重复。添加剂处理(A,各组添加量均以青贮原料的鲜质量为基础)包括对照组(CK):添加 2% 蒸馏水的空白对照组,乳酸菌添加组(LAB):添加量为  $5 \times 10^5$  CFU/g,食盐添加组(NaCl):添加量为 0.2%;辅料设置 3 个处理(MT,以各自的鲜质量为基础),米糠:米粉 1:1,米糠:米粉 2:1,米糠:米粉 3:1;尾菜和辅料设置 4 个混合质量比(MR,以各原料的鲜质量为基础),尾菜:辅料分别为 60:40、65:35、70:30 和 75:25。

青贮加工方法:将西兰花尾菜用碎草机打成长度为 1~2 cm 的小段后,按照比例与米粉、米糠等物料混合均匀,将乳酸菌、NaCl 等添加剂稀释液喷洒加入,充分混匀后,快速装入青贮袋中并进行真空封口,每个青贮袋 200 g 左右,每个处理 3 袋,共 36 个处理,108 袋,在室温贮藏 60 d 后开袋取样。

## 1.3 测定内容及方法

1.3.1 样品前处理 将青贮后的混合青贮料充分混匀后,取 10 g 青贮样品置于三角瓶中,加入 90 mL 0.9% 无菌生理盐水,用封口膜封口,用于好氧细菌、乳酸菌和真菌(霉菌和酵母菌)的计数。同时称取 20 g 青贮样品于三角瓶中,加入 180 g 去离子水,搅拌均匀后于 4 ℃ 下浸提 24 h,之后用 4 层纱布和定

## 1 材料与方

### 1.1 试验材料

青贮原料:西兰花尾菜于 2018 年 10 月用镰刀收获于江苏省农业科学院试验基地,收获后摘掉腐烂变质的部分,取茎叶部分用粉碎机粉碎,备用。米粉、米糠于 2018 年在江苏省南京市农贸市场购得,其中米糠为纯糠。青贮原料的基本理化性质见表 1。

性滤纸过滤,得到浸提液,将浸提液置于 -20 ℃ 冷冻冰箱中保存待测。称取 100 g 左右青贮料,于 75 ℃ 烘箱中烘 48 h 以上至恒质量,测定并计算干物质(dry matter,简称 DM)含量,并将烘干的样品用高速万能粉碎机粉碎,过 1 mm 筛后放入聚乙烯自封袋中,排尽空气,密封保存,用于青贮饲料饲用品质的测定。

1.3.2 分析方法 采用平板培养法进行微生物计数。将装有样品、生理盐水的三角瓶置于摇床上,于 120 r/min 下摇 2 h。用 1 层无菌纱布过滤青贮草渣,然后逐级稀释,选择 3 个合适的稀释梯度,每个稀释梯度设 3 个重复。将 100  $\mu$ L 细菌、500  $\mu$ L 真菌和乳酸菌不同稀释梯度的悬浮液置于无菌培养皿中,倾注乳酸细菌(MRS)培养基,直至盖满培养皿底部,混合均匀并凝固后置于 37 ℃ 厌氧培养箱中培养 48 h,计算乳酸菌数量。将悬浮液涂布于盛有孟加拉红培养基的培养皿中,于 30 ℃ 培养 5~7 d,计算霉菌、酵母菌数量。将悬浮液涂布于盛有牛肉膏琼脂(NB)培养基的培养皿中,于 37 ℃ 下培养 24 h,计算好氧细菌数量<sup>[14]</sup>。

青贮浸提液用来测定 pH 值、氨态氮(ammonia nitrogen,简称 AN)含量、乳酸(lactic acid,简称 LA)含量、乙酸(acetic acid,简称 AA)含量、丙酸(propionic acid,简称 PA)含量和丁酸(butyric acid,简称 BA)含量等。使用 Micro-Bench 型 pH 计测定青贮饲料的 pH 值。使用安捷伦 1260 型高效液相色谱仪测定分析有机酸含量<sup>[15]</sup>。氨态氮含量的测

定采用苯酚－次氯酸钠比色法<sup>[15]</sup>。

烘干、粉碎后的样品用来测定原料和混合青贮饲料的饲用品质。水溶性碳水化合物(WSC)、淀粉含量的测定采用高氯酸水解－蒽酮－硫酸比色法<sup>[16]</sup>。粗蛋白(CP)含量的测定采用凯氏定氮法,测定仪器为丹麦 FOSS 公司的 Kjeltec™ 2300 型凯氏定氮仪<sup>[15]</sup>。中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)含量采用 Ankom 公司的 Ankom 200i 型半自动纤维测定仪利用 Van－Soest 法<sup>[15]</sup>进行测定。干物质体外消化率(IVDMD)的测定采用胃蛋白酶－纤维素酶 2 步法<sup>[17]</sup>。

1.4 数据统计

用 Excel 对数据进行基本处理分析后,采用 SPSS 软件中的多因素方差对试验数据进行分析,并用最小显著性差异法(LSD)进行多重比较,数据采用平均值。

2 结果与分析

2.1 米粉米糠及添加剂对混合青贮饲料发酵品质的影响

试验中各处理均没有检测到丙酸(PA)、丁酸(BA)。由表 2 可以看出,不同添加剂(A)对青贮饲料 pH 值、氨态氮含量、乙酸含量有极显著影响( $P < 0.01$ );辅料类型(MT)对青贮饲料 pH 值、氨态氮含

量、LA 含量、AA 含量均有极显著影响( $P < 0.01$ );辅料、尾菜的混合比例(MR)对青贮饲料 pH 值、DM 含量、氨态氮含量有极显著影响( $P < 0.01$ );MT、MR、A 对青贮饲料 pH 值、氨态氮含量、LA 含量、AA 含量等指标均存在显著或极显著互作效应。

由表 2 还可以看出,添加乳酸菌处理组的 pH 值、氨态氮含量、AA 含量显著低于 CK、0.2% 食盐处理组( $P < 0.05$ ),添加 0.2% 食盐处理组的 pH 值亦显著低于 CK( $P < 0.05$ )。随着米糠所占比例的提高,混合青贮饲料的氨态氮、LA、AA 含量均表现出显著增加的趋势( $P < 0.05$ ),pH 值则有显著下降的趋势( $P < 0.05$ ),辅料米糠、米粉质量比为 3 : 1 的处理氨态氮、LA、AA 含量最高,分别为 0.92 mmol/L、2.80%、0.15%,pH 值最低为 3.26。随着尾菜在混合青贮饲料中所占比例的提高,青贮饲料的 DM、氨态氮含量有显著下降趋势( $P < 0.05$ ),pH 值有显著上升趋势( $P < 0.05$ );尾菜、辅料的质量比为 75 : 25 处理的 DM、氨态氮含量最低,分别为 30.14%、0.39 mmol/L,尾菜、辅料的质量比为 70 : 30 时,混合青贮饲料的 pH 值最高,达到 3.47。

2.2 米粉米糠及添加剂对混合青贮营养品质的影响

由表 3 可以看出,A 对混合青贮饲料的 WSC 含量有极显著影响( $P < 0.01$ ),对 CP 含量有显著影响

表 2 米粉米糠及添加剂对混合青贮饲料发酵品质的影响

处理	项目	干物质含量 (%)	pH 值	氨态氮含量 (mmol/L)	乳酸含量 (%)	乙酸含量 (%)
A	CK	35.94	3.52a	0.64a	1.80	0.12a
	乳酸菌	36.67	3.34c	0.30b	1.85	0.09b
	0.2% 食盐	35.58	3.50b	0.57a	1.77	0.12a
MT	米糠 : 米粉 = 1 : 1	35.13	3.81a	0.23c	0.96c	0.08c
	米糠 : 米粉 = 2 : 1	36.26	3.27b	0.36b	1.67b	0.10b
	米糠 : 米粉 = 3 : 1	36.82	3.26b	0.92a	2.80a	0.15a
MR	尾菜 : 辅料 = 60 : 40	41.95a	3.44b	0.56a	1.77	0.108
	尾菜 : 辅料 = 65 : 35	38.43b	3.43b	0.55a	1.87	0.112
	尾菜 : 辅料 = 70 : 30	33.67c	3.47a	0.50a	1.76	0.111
	尾菜 : 辅料 = 75 : 25	30.14d	3.46a	0.39b	1.84	0.108
显著性	A	NS	**	**	NS	**
	MT	NS	**	**	**	**
	MR	**	**	**	NS	NS
	A × MT	NS	**	**	*	NS
	A × MR	NS	**	NS	**	**
	MT × MR	NS	**	**	**	**
	A × MT × MR	NS	**	*	*	**

注:同列数据后标有的不同小写字母表示相同处理不同项目间差异显著( $P < 0.05$ )。\* 表示影响显著( $P < 0.05$ ),\*\* 表示影响极显著( $P < 0.01$ ),NS 表示影响不显著( $P > 0.05$ )。以上指标测定以干物质为基础。下表同。

( $P < 0.05$ ); MT 对混合青贮饲料的 IVDMD 以及 NDF、ADF、WSC、淀粉、CP 含量均有极显著影响 ( $P < 0.01$ ); MR 对混合青贮饲料的 NDF、ADF、淀粉、WSC 含量的影响极显著 ( $P < 0.01$ ), 对 CP 含量有显著影响 ( $P < 0.05$ ); MR、MT、A 仅对混合青贮饲料的 NDF 含量存在显著的互作效应 ( $P < 0.05$ ); MR、A 对混合青贮饲料的 IVDMD 和淀粉含量有极显著的互作效应 ( $P < 0.01$ ); MT、MR 对混合青贮的 IVDMD 和 NDF、CP 含量存在极显著的互作效应 ( $P < 0.01$ ), 对 ADF 含量有显著的互作效应 ( $P < 0.05$ )。

由表 3 还可以看出, 相比于 CK 组和 0.2% 食盐处理组, 添加乳酸菌能显著降低混合青贮饲料的 WSC 含量, 增加 CP 含量 ( $P < 0.05$ ), 与 CK 组相比,

添加 0.2% 食盐的处理组能显著降低 WSC 的含量 ( $P < 0.05$ )。随着米糠所占比例的提高, 混合青贮饲料的 IVDMD 和淀粉、CP 含量均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 在米糠、米粉的质量比为 3 : 1 时最低, 分别为 55.73%、12.01%、7.26%; NDF、ADF、WSC 含量有显著增加趋势 ( $P < 0.05$ ), 米糠、米粉质量比为 3 : 1 时最高, 分别达到 45.13%、30.86%、2.53%。随着西兰花尾菜所占比例的提高, 混合青贮饲料的 NDF、ADF、CP 含量呈显著上升的趋势 ( $P < 0.05$ ), 当尾菜、辅料质量比为 75 : 25 时最高, 分别为 60.10%、42.65%、29.49%、7.88%; WSC、淀粉含量呈显著下降趋势 ( $P < 0.05$ ), 当尾菜、辅料质量比为 75 : 25 时最低, 分别为 1.57%、16.50%。

表 3 米粉米糠及添加剂对混合青贮饲料营养品质的影响

处理	项目	IVDMD (%)	NDF 含量 (%)	ADF 含量 (%)	WSC 含量 (%)	淀粉含量 (%)	CP 含量 (%)
A	CK	59.03	41.95	28.95	2.58a	17.18	7.64b
	乳酸菌	59.76	41.56	28.36	1.67c	18.42	7.83a
	0.2% 食盐	59.68	41.47	28.51	2.08b	17.89	7.59b
MT	米糠 : 米粉 = 1 : 1	65.00a	36.00c	24.27b	1.77b	25.26a	8.03a
	米糠 : 米粉 = 2 : 1	57.75b	43.85b	30.67a	2.00b	16.25b	7.78b
	米糠 : 米粉 = 3 : 1	55.73c	45.13a	30.86a	2.53a	12.01c	7.26c
MR	尾菜 : 辅料 = 60 : 40	58.91	40.85b	28.00b	2.67a	18.76a	7.64b
	尾菜 : 辅料 = 65 : 35	59.29	40.95b	27.85b	2.20b	18.44a	7.58b
	尾菜 : 辅料 = 70 : 30	59.68	42.19a	29.09a	1.96bc	17.68a	7.65b
	尾菜 : 辅料 = 75 : 25	60.10	42.65a	29.49a	1.57c	16.50b	7.88a
显著性	A	NS	NS	NS	**	NS	*
	MT	**	**	**	**	**	**
	MR	NS	**	**	**	**	*
	A × MT	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	A × MR	**	NS	NS	NS	**	NS
	MT × MR	**	**	*	NS	NS	**
	A × MT × MR	NS	*	NS	NS	NS	NS

2.3 米粉米糠及添加剂对混合青贮中微生物数量的影响

由表 4 可以看出, A、MR 分别仅对混合青贮饲料的真菌数量有极显著、显著影响, 而 MT 对好氧细菌、乳酸菌、真菌数量均有极显著影响 ( $P < 0.01$ ); A 与 MT、MT 与 MR 对混合青贮饲料的真菌数量分别存在极显著、显著的互作效应, 而 A 与 MR 对乳酸菌数量存在极显著的互作效应 ( $P < 0.01$ )。

由表 4 还可以看出, 相比于 CK 组, 添加 0.2% 食盐处理组的真菌数量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 随着米糠在物料中所占比例的提高, 好氧细菌、乳酸菌、真菌数量均有显著下降的趋势 ( $P < 0.05$ ), 在米糠、

米粉比例为 3 : 1 时最低, 分别为 3.11、6.27、2.63 lg CFU/g (以鲜质量计)。

3 讨论

3.1 添加米糠能有效改善青贮效果

青贮原料的含水量和可溶性糖含量是影响青贮饲料品质的重要因素。西兰花尾菜的蛋白质含量较高, 而水分含量很高。一般情况下, 单独青贮很难成功, 容易发生丁酸发酵。米糠是常见的农业副产品, 按其中米粉含量的不同, 可分为纯糠和不同比例的油糠, 将米糠进行饲料化利用可提升其附加值。前期研究发现, 将米糠添加到禽、猪饲料中,

表 4 米粉米糠及添加剂对混合青贮饲料中微生物数量的影响

处理	项目	好氧细菌 数量 (lg CFU/g)	乳酸菌 数量 (lg CFU/g)	真菌数量 (lg CFU/g)
A	CK	3.26b	6.53	5.19b
	乳酸菌	3.55a	6.44	4.90b
	0.2% 食盐	3.27b	6.52	5.74a
MT	米糠:米粉=1:1	3.57a	6.81a	6.30a
	米糠:米粉=2:1	3.37a	6.40b	5.49b
	米糠:米粉=3:1	3.11b	6.27b	2.63c
MR	尾菜:辅料=60:40	3.30	6.47	5.45
	尾菜:辅料=65:35	3.22	6.56	5.13
	尾菜:辅料=70:30	3.58	6.54	5.31
	尾菜:辅料=75:25	3.34	6.41	5.26
显著性	A	NS	NS	**
	MT	**	**	**
	MR	NS	NS	*
	A×MT	NS	NS	**
	A×MR	NS	**	NS
	MT×MR	NS	NS	*
	A×MT×MR	NS	NS	NS

效果良好<sup>[18-19]</sup>。米糠干物质含量高,与西兰花尾菜进行混合能有效降低青贮原料的含水量;同时,由于米糠中含有米粉,其中的淀粉、可溶性糖含量较高,可补充发酵底物,促进乳酸菌增殖。在本研究中,为了方便明确米糠中纯糠、米粉含量,采用纯糠和米粉混合的方法开展试验。将米糠与尾菜混合,可以有效调节青贮原料的水分含量,增加发酵底物供应量,促进青贮发酵。

3.2 添加剂对混合青贮的影响

有机酸是青贮过程中乳酸菌等微生物的代谢产物,其中 LA、AA、BA 含量及其占比对青贮饲料质量评估具有重要意义。发酵后 LA 含量越高、BA 含量越低,表示青贮饲料保存效果越好,发酵品质越高<sup>[20]</sup>。pH 值、有机酸含量是青贮品质的关键性评价指标<sup>[21-23]</sup>,本试验中,各处理组在贮藏 60 d 后开袋,青贮料的 pH 值均小于 4.0,且未检测到丁酸,饲料品质均为优等,可能是因为在厌氧条件下,乳酸菌繁殖占主导,从而产生大量 LA,使得青贮料 pH 值迅速下降,厌氧条件和较低的 pH 值能够抑制梭菌等腐败菌发酵,从而减少丁酸产生,提高青贮发酵品质。添加乳酸菌可以降低青贮 pH 值、氨态氮含量、AA 含量,可能是由于添加乳酸菌后,乳酸菌迅速繁殖成为优势菌而产生 LA,使得青贮饲料的

pH 值迅速下降,从而抑制有害微生物对 CP 的分解,提高青贮营养成分含量<sup>[24]</sup>。添加 0.2% 食盐能降低青贮料的 pH 值,这与薛祝林等研究高丹草青贮时,食盐添加量为 0.2% 的结果<sup>[25]</sup>一致。本试验中使用 0.2% 食盐未能够有效降低青贮饲料中氨态氮的含量,这与冀旋等在研究添加剂对高丹草青贮效果的影响时得到的结果<sup>[26]</sup>相反。

本试验中添加乳酸菌对混合青贮饲料的 IVDMD 和 NDF、ADF 含量的影响不明显,这与刘辉等在苜蓿青贮中的试验结果<sup>[27]</sup>一致,与覃方铨等在燕麦捆裹青贮中的试验结果<sup>[28]</sup>不一致。添加乳酸菌会降低青贮饲料 WSC 的含量,提高淀粉、CP 含量,这与刘辉等在苜蓿青贮中的试验结果<sup>[27]</sup>不一致,一方面可能是因为所用乳酸菌菌种不同,另一方面可能是因为本试验所用原料可溶性糖含量充足,发酵条件良好。

添加乳酸菌剂可以加快 LA 的发酵进程,改善青贮发酵品质,抑制有害微生物的生长。但在本试验中,添加乳酸菌对乳酸菌、真菌数量无明显影响,添加 0.2% 食盐增加了真菌的数量,这与郭海明等在芦笋青贮试验中得到的结果<sup>[29]</sup>不一致,可能是由于本试验中的最终 pH 值太低,造成有害微生物生长受到了显著抑制。

3.3 辅料类型对混合青贮的影响

纯糠在辅料中所占比例的增加可以提高混合青贮饲料 LA、AA 含量,降低 pH 值,这与李秀花等在杏渣、米糠混合青贮中得到的结果<sup>[30]</sup>一致,说明添加米糠对提高青贮发酵品质有促进效果。新鲜西兰花尾菜、米糠、米粉混贮后的 NDF、ADF、WSC 含量随着纯糠添加量的增加而增大,IVDMD 及淀粉、CP 含量随着纯糠添加量的增加而减少,这可能与纯糠 NDF、ADF 含量高,IVDMD 及淀粉、CP 含量低有关。青贮饲料中的好氧细菌、乳酸菌、真菌数量均随着米糠添加量的增加而减少,可能是由于随着米粉用量的增加,可溶性糖含量下降,淀粉含量增加,而青贮原料中的可溶性糖可作为发酵底物被乳酸菌直接利用,但是淀粉需要水解后才能被乳酸菌利用,可溶性糖含量不足时乳酸菌很难大量繁殖,因此产生的 LA 少,不能及时有效抑制有害微生物的活动,而部分有害微生物能够利用淀粉等多糖<sup>[31-32]</sup>。在西兰花茎叶、稻秸和苜蓿混合青贮中添加糖蜜促进了 LA 发酵,提高了青贮饲料的发酵品质<sup>[33]</sup>。

3.4 尾菜与辅料混合比例对混合青贮的影响

优质的青贮原料具有低的缓冲能值和适宜的

含水量,青贮饲料的水分含量过高时,细胞汁液流出,营养物质损失,容易腐败。在本试验中,西兰花尾菜比例的增加导致 DM、氨态氮含量下降,pH 值虽上升,但低于 4.0,含水量在合适范围内,说明控制好原料的含水量可有效提高发酵品质<sup>[34]</sup>。

随着西兰花尾菜比例的增加,青贮饲料的 IVDMD 和 NDF、ADF、CP 含量均升高,WSC、淀粉含量下降,可能是因为西兰花的 IVDMD 和 CP 含量比米糠、米粉混合物高;各混合比例的好氧细菌数量均较低,可能由于前期乳酸菌迅速繁殖,抑制了有害微生物的繁殖。

## 4 结论

本试验结果表明,在西兰花尾菜、米粉和米糠混合青贮中添加乳酸菌可以降低混合青贮饲料的 pH 值、氨态氮含量、AA 含量,提高 LA、CP 含量。新鲜西兰花茎叶含水量很高,添加米糠、米粉等物料可以降低青贮原料的含水量,提高 DM 含量。米糠、米粉比例为 1:1 的处理组 pH 值为 3.81,氨态氮含量最低,为 0.23 mmol/L,IVDMD、CP 含量最高,分别为 65.00%、8.03%;米糠、米粉比例为 3:1 的处理组 LA 含量最高,达到了 2.80%,但由于米糠营养物质含量低,且米粉价格贵,综合考虑后,选择米糠、米粉比例为 2:1。随着尾菜添加量的增加,氨态氮含量下降,IVDMD、CP 含量总体上升,尾菜、辅料比例为 75:25 的处理组氨态氮含量最低,为 0.39 mmol/L,LA 含量次高,为 1.84%,IVDMD、CP 含量最高,分别为 60.10%、7.88%,青贮饲料的发酵品质最好。综上所述,添加乳酸菌、辅料为米糠:米粉=2:1 且尾菜:辅料=75:25 的处理组青贮效果最佳。

## 参考文献:

- [1] 曹志宏,陈志超,郝晋珉. 中国城乡居民食品消费变化趋势分析[J]. 长江流域资源与环境,2012,21(10):1173-1178.
- [2] 杨满业,王丽焕. 草业在四川节粮型畜牧业中的作用及发展对策[J]. 草业与畜牧,2011(1):49-53.
- [3] 马有祥. 全力推进转型升级加快建设现代畜牧业[J]. 中国畜牧兽医文摘,2017,33(1):1-2.
- [4] 黄鼎曦,陆文静,王洪涛. 农业蔬菜废物处理方法研究进展和探讨[J]. 环境污染治理技术与设备,2002,3(11):38-42.
- [5] 田久东,陈达,于继英,等. 我国西兰花资源分布和饲用新模式[J]. 饲料广角,2017(7):48-51.
- [6] Thomas M, Badr A, Desjardins Y, et al. Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var. *italica*) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 1204-1211.
- [7] 郑卫兵,潘红英,王德刚,等. 西兰花茎叶粉对仙居三黄鸡蛋品质、受精率和孵化率的影响[J]. 草业科学,2010,27(3):148-152.
- [8] 任海伟,赵拓,李金平,等. 玉米秸秆与废弃白菜混贮料的发酵特性及其乳酸菌分离鉴定[J]. 草业科学,2015,32(9):1508-1517.
- [9] 杨道兰,汪建旭,冯炜弘,等. 花椰菜茎叶与玉米秸秆的混贮品质[J]. 草业科学,2014,31(3):551-557.
- [10] Denek N, Can A. Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep[J]. Small Ruminant Research, 2006, 65(3):260-265.
- [11] Cummins B, O'Kiely P, Keane M G, et al. Conversation characteristics of grass and dry sugar beet pulp coensiled after different degrees of mixing[J]. Irish Journal of Agricultural and food Research, 2007, 46(2):181-193.
- [12] 钱仲仓,杨子峰,杨泉灿. 西兰花茎叶青贮料对土猪生产性能的影响[J]. 上海畜牧兽医通讯,2016(5):26-27.
- [13] 李大鹏. 添加剂对玉米秸秆青贮质量影响的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2002,14(4):65-68.
- [14] 董志浩,原现军,闻爱友,等. 添加乳酸菌和发酵底物对桑叶青贮发酵品质的影响[J]. 草业学报,2016,25(6):167-174.
- [15] 田吉鹏. 全株玉米青贮饲料中黄曲霉毒素积累规律及调控技术研究[D]. 北京:中国农业大学,2017:110-114.
- [16] 原现军,余成群,夏坤,等. 添加青稞酒糟对西藏箭筈豌豆与苇状羊茅混合青贮发酵品质的影响[J]. 畜牧兽医学报,2012,43(9):1408-1414.
- [17] Goto I, Minson D J. Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a pepsin-cellulase assay[J]. Animal Feed Science and Technology, 1977, 2(3):247-253.
- [18] 许能祥,丁成龙,顾洪如,等. 添加乳酸菌和米糠对水稻秸秆青贮品质的影响[J]. 江苏农业学报,2010,26(6):1308-1312.
- [19] 雒瑞瑞,何玉鹏,郭艳丽,等. 玉米和米糠对两个马铃薯品种茎叶青贮品质的影响[J]. 草业科学,2018,35(9):2277-2284.
- [20] 余汝华,莫放,赵丽华,等. 不同玉米品种青贮饲料营养成分比较分析[J]. 中国农学通报,2007,23(8):17-20.
- [21] 吴端钦,朱四元,王延周,等. 几种青贮玉米青贮发酵特性及其营养成分的比较研究[J]. 饲料研究,2017(7):48-51.
- [22] 金莎,黄世章,钟毅,等. 香蕉茎叶与柱花草混贮饲料的品质[J]. 草业科学,2016,33(3):512-518.
- [23] 刘蓓一,丁成龙,许能祥,等. 不同比例稻草和多花黑麦草混合青贮对饲料 pH、微生物数量及有氧稳定性的影响[J]. 江苏农业学报,2018,34(1):99-105.
- [24] Kung L, Robinson J R, Ranjit N K, et al. Microbial populations, fermentation end products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(7):1479-1486.
- [25] 薛祝林,宋丽梅,黄必志. 添加尿素或食盐对高丹草青贮品质的影响[J]. 中国草地学报,2014,36(1):75-78.
- [26] 冀旋,玉柱,白春生,等. 添加剂对高丹草青贮效果的影响[J]. 草地学报,2012,20(3):571-575.

王立勇,黄佳滢,朱锐灵,等. 僵蚕醇溶蛋白质的优化提取及其指纹图谱研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(22):196-201.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.037

# 僵蚕醇溶蛋白质的优化提取及其指纹图谱研究

王立勇<sup>1</sup>,黄佳滢<sup>1</sup>,朱锐灵<sup>1</sup>,徐悦<sup>1</sup>,汤建<sup>2</sup>,闻崇炜<sup>1</sup>

(1. 江苏大学药学院,江苏镇江 212013; 2. 亳州学院中药学院,安徽亳州 236800)

**摘要:**为优化僵蚕醇溶蛋白质的提取工艺,并建立相应的 SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)、HPLC(高效液相色谱)、FTIR(傅里叶变换红外光谱)指纹图谱。在单因素试验的基础上,利用响应面法,以提取率为响应值建立数学模型,获得最佳工艺,用 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 建立僵蚕醇溶蛋白质指纹图谱。通过单因素试验考察乙醇浓度、料液比、温度、提取时间对僵蚕醇溶蛋白质提取率的影响,进而用 Box-Behnken 法设计 4 因素 3 水平试验,进行响应面回归分析。结果表明,僵蚕醇溶蛋白质的最佳提取工艺条件为料液比 1g:24.22mL,乙醇浓度 38.73%,温度 35℃,提取时间 3.94 h,此时的提取率为 0.540 2%。用 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 法建立僵蚕醇溶蛋白质指纹图谱,SDS-PAGE 分析结果表明,僵蚕醇溶蛋白质分子量集中在 16.7~36.2 ku;HPLC 分析结果表明,主要僵蚕醇溶蛋白质的保留时间为 2.048 min 与 3.354 min,其含量分别占总蛋白量的 31.23% 与 32.93%;FTIR 分析结果表明,僵蚕醇溶蛋白质在 2 927.71、1 631.71、1 457.24、1 310.71 cm<sup>-1</sup> 处有主要吸收峰。研究并建立了僵蚕醇溶蛋白质的优化提取条件,并获得了蛋白质的 SDS-PAGE、HPLC、FTIR 指纹图谱。

**关键词:**僵蚕;醇溶蛋白质;响应面法;FTIR 指纹图谱;SDS-PAGE;HPLC

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)22-0196-06

早在秦汉年间,《神农本草经》就记载僵蚕为祛风定惊、化痰散结的中品药材<sup>[1]</sup>。现代药理学研究发现,僵蚕具有抗癌、降血糖、抗菌、镇静催眠、抗凝血、神经营养及保护等多种作用<sup>[2-7]</sup>。目前研究认为,僵蚕富含的草酸铵是其抗惊厥、抗凝血的主要

药理成分,槲皮素是其祛痰、止咳的药理成分。程锁明等利用反复硅胶柱色谱、十八烷基硅键合硅胶填料柱、液相色谱等方法进一步从僵蚕中分离得到(3 $\alpha$ ,6 $\beta$ )-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮等 12 个化合物<sup>[8]</sup>。殷志琦等应用硅胶柱层析和重结晶方法首次从僵蚕中分离得到 6 个化合物<sup>[9]</sup>。郭晓恒等从僵蚕的三氯甲烷部位分离鉴定出 6,9-氧桥-麦角甾-7,22-双烯-3-醇、 $\beta$ -谷甾醇等多种化学成分<sup>[10]</sup>。但是,目前对僵蚕中含量最丰富的蛋白质还缺乏深入研究。

蛋白质具有重要的生物学功能,是生命活动的执行者。在稀盐、缓冲系统的水溶液作用下,蛋白质的溶解度大、稳定性好,因此它们是蛋白质提取的常用溶剂。乙醇溶液可用于提取植物中的醇溶

收稿日期:2020-03-11

基金项目:江苏省镇江市重点研发计划(社会发展)(编号:SH2018023);大学生实践创新训练计划(编号:201910299052Z);亳州学院内科研项目(编号:BYZ2018B02);江苏大学第十七批大学生科研项目(编号:17A446)。

作者简介:王立勇(1994—),男,福建福州人,硕士研究生,研究方向为分子生药学。E-mail:1395996384@qq.com。

通信作者:闻崇炜,博士,副教授,研究方向为分子生药学。E-mail:wenchw@ujs.edu.cn。

[27]刘辉,卜登攀,吕中旺,等. 凋萎和不同添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响[J]. 草业学报,2015,24(5):126-133.

[28]覃方铨,赵桂琴,焦婷,等. 含水量及添加剂对燕麦捆裹青贮品质的影响[J]. 草业学报,2014,23(6):119-125.

[29]郭海明,朱雯,张勇,等. 青贮添加剂对芦笋茎叶青贮品质的影响[J]. 草业学报,2016,25(5):134-140.

[30]李秀花,靳玲品,李文菊. 杏渣和米糠混合青贮发酵品质的测定[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018(2):144-146.

[31]刘将军,胡源胜. 优质青贮饲料制作技术[J]. 现代农业科技,

2008(1):180-181.

[32]陈国富,张文昌,江伟伟,等. 绿汁发酵液、纤维素酶和木聚糖酶对灵芝菌糟发酵饲料品质的影响[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(12):146-152.

[33]王坚,王亚琴,闻爱友,等. 糖蜜添加对西兰花茎叶稻秸苜蓿混合青贮发酵品质的影响[J]. 草业学报,2014,23(3):248-254.

[34]李友元,陈长华,陶萍. 高效液相色谱法测定螺旋霉素发酵液中的有机酸[J]. 色谱,2002,20(1):46-48.