

添加乙醇对象草青贮发酵品质的影响

张磊, 邵涛*

(南京农业大学动物科技学院 南方草业工程系, 江苏 南京 210095)

摘要: 本试验研究了不同添加水平的乙醇对象草青贮发酵品质的影响。乙醇的添加比例分别为 0, 1.5%, 2.5%, 3.5% 和 4.5% (占鲜重的比例)。在青贮后的第 1, 3, 5, 7, 14 和 30 天打开青贮罐, 测定青贮饲料发酵品质的动态变化。试验结果表明, 乙醇抑制了好氧性微生物对蛋白质的分解, 在青贮过程中, 各添加处理青贮饲料的氨态氮/总氮低于 ($P > 0.05$) 或显著低于 ($P < 0.05$) 对照处理。最初 3 d 乙醇处理的 pH 值下降速度较对照慢, 3 d 后 pH 值下降幅度较大。随着青贮发酵的进行青贮饲料的乳酸含量呈增加趋势, 第 7 天左右达到最大值, 而且 30 d 后乙醇处理的乳酸含量均高于对照。在发酵的开始阶段, 青贮饲料的水溶性碳水化合物含量下降较快, 添加乙醇后青贮饲料的水溶性碳水化合物利用效率比对照高, 发酵 30 d 后各添加处理的水溶性碳水化合物含量均高于对照。在第 1 和 14 天乙醇添加处理的青贮饲料乙酸含量显著 ($P < 0.05$) 低于对照, 但各处理间含量差异不显著 ($P > 0.05$)。在象草青贮中添加乙醇能抑制发酵初期好氧性微生物对蛋白质和水溶性碳水化合物的利用, 减少发酵过程中的损失, 为乳酸菌发酵提供更多的发酵底物, 产生更多的乳酸, 从而提高象草的青贮发酵品质。

关键词: 乙醇; 象草; 青贮; 发酵品质

中图分类号: S816.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5759(2009)02-0052-08

* 象草 (*Pennisetum purpureum*) 又名紫狼尾草, 是热带和亚热带地区广泛栽培的一种多年生高产牧草, 20 世纪 80 年代已推广到广东、广西、湖南、湖北、四川、贵州、云南、福建、江西、台湾等省(自治区)栽培, 生长良好, 是我国南方饲养畜禽重要的青绿饲料, 产量高, 每公顷年产鲜草 75~150 t, 高者可达 450 t。每年可刈割 6~8 次。不仅产量高, 而且利用年限长, 一般为 4~6 年。象草不但是优质的青饲料, 而且也是一种重要的生物质能源作物, 具有广阔的应用开发前景^[1]。象草的营养价值高, 适时刈割, 适口性好, 利用率高, 牛尤其喜食。目前象草在生长季节既可为家畜提供优质青饲料, 也可调制干草或青贮饲料, 但干草调制受天气的影响较大, 特别是在南方夏季多雨, 潮湿, 而象草茎秆又较粗, 不易晒制干草, 但青贮几乎不受天气变化的影响, 所以通过青贮是保存和生产优质多汁反刍动物饲料的途径。

象草属暖季型牧草, 表现为多茎, 多空, 粗糙的物理结构, 与冷季型牧草相比, 青贮过程中造成压实困难, 具有较高的空气浸透性, 在青贮填充时, 有更多的空气包含在青贮窖中, 这样将导致青贮初期延长了呼吸作用和好氧性微生物活动的时间, 造成营养物质及发酵基质(水溶性碳水化合物)的损耗, 使发酵过程中发酵基质不足, 乳酸菌生长受到抑制, pH 值不能快速降到 4.2 以下, 从而不能抑制其他有害微生物(如酪酸菌等)的活性^[2~4]。添加好氧性微生物抑制剂能够抑制青贮初期好氧性微生物的活动, 减少它们对蛋白质和碳水化合物的利用, 促进乳酸发酵, 进一步抑制有害微生物的活性, 从而减少发酵过程中营养物质的损失^[5~8], 因此象草青贮中添加好氧性微生物抑制剂具有重要的实际意义。糖蜜、葡萄糖、乳酸菌制剂等青贮发酵促进剂在牧草青贮中已有一定的研究, 它们能够降低青贮饲料的 pH 值, 提高乳酸含量^[9~11]。Ohba 等^[12]研究了添加不同比例的乙醇对大黍 (*Panicum maximum*) 青贮发酵品质的影响, 结果表明, 添加 5% 的乙醇显著降低了青贮饲料的 pH 值, 提高了乳酸和水溶性碳水化合物的含量。目前添加不同比例的乙醇对象草青贮发酵品质影响的研究未见报道。

本试验通过测定添加不同水平乙醇后象草青贮发酵过程中青贮饲料主要发酵品质指标值及水溶性碳水化合物含量的动态变化, 研究它们对象草青贮发酵品质的影响。

* 收稿日期: 2008-04-04; 改回日期: 2008-10-16

基金项目: 国家自然科学基金(30771530)和国家科技支撑计划重点项目(2006BAD16B08-06)资助。

作者简介: 张磊(1980-), 男, 山东临沂人, 在读博士。E-mail: zhangleinjau@163.com.cn

* 通讯作者。E-mail: taoshaolan@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 青贮原料 青贮材料选用江苏省农业科学院实验地栽培的象草,于 2006 年 7 月 8 日刈割进行青贮,属于第 1 茬刈割的象草,干物质含量为 14.86%(表 1)。

1.1.2 青贮添加剂 乙醇(无水乙醇),AR(分析纯)级,质量分数 $\geq 99.7\%$,南京化学试剂一厂生产。

1.1.3 青贮容器 采用实验室青贮罐,容积为 250 mL(内径 6 cm \times 高 11 cm)的塑料容器。

表 1 青贮前象草的特征

Table 1 Characteristics of elephant grass

| 干物质 Dry matter (g/kg FW) | 粗蛋白质 Crude protein (g/kg DM) | 水溶性碳水化合物 Water soluble carbohydrate (g/kg DM) | 酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (g/kg DM) | 中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (g/kg DM) |
|-----------------------------|---------------------------------|--|--|---|
| 148.59 | 56.63 | 134.03 | 430.20 | 606.67 |

1.2 试验设计

试验采用完全随机区组设计,考虑到添加剂的成本,乙醇分别按鲜重的 0(对照),1.5%,2.5%,3.5%和 4.5%添加,每个水平 3 个重复,在青贮后的第 1,3,5,7,14 和 30 天打开青贮罐,测定青贮饲料的各项指标。

1.3 试验方法

1.3.1 青贮饲料的调制 将青刈的象草用铡刀切割至 1~2 cm 左右,按试验设计量将乙醇喷洒在饲草上,充分混合均匀后,装填青贮罐中,同一处理水平 3 个重复。对照组喷洒等量的水,装填后盖上瓶盖,用胶带密封在常温条件下保存。试验用青贮罐容量为 250 mL,象草青贮装填密度 1×10^3 kg/m³。

1.3.2 样品预处理 在青贮的第 1,3,5,7,14 和 30 天分别打开青贮罐,取出青贮饲料充分混匀,从中取出约 35 g 样品,放入 200 mL 的广口三角瓶里,加入 70 mL 水后,置于冰箱内浸提 24 h。然后通过 2 层纱布和滤纸过滤,将滤液保存于 50 mL 的塑料瓶置于 -20℃ 冰箱中冷冻保存待测。滤液用来测定 pH 值、乳酸、氨态氮、挥发性脂肪酸。将剩余部分的青贮饲料收集起来烘干,称重,测定干物质、总氮以及水溶性碳水化合物。

1.4 青贮品质分析

干物质(dry matter, DM) 65℃ 烘干 72 h 测定^[13]。乳酸(lactic acid, LA)采用对羟基联苯法测定^[14]。氨态氮(ammonia nitrogen, AN)采用苯酚一次氯酸钠比色法测定^[15]。水溶性碳水化合物(water soluble carbohydrate, WSC)采用蒽酮-硫酸比色法^[16]。挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFAs)采用高效气相色谱仪(日本岛津 GC-14B)测定,包括乙酸(acetic acid, AA)、丙酸(propionic acid, PA)与丁酸(butyric acid, BA),测定条件:柱温 140℃,汽化室温度 180℃,氢气检测器温度 220℃。总氮含量(total nitrogen, TN)采用凯氏定氮法^[15]。

1.5 数据统计

试验数据均采用 SAS 统计软件进行单因素方差分析,并用 Fisher's (LSD)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同比例添加的乙醇对象草青贮过程中 pH 值,乳酸和 DM 含量的影响

添加不同比例乙醇的象草青贮饲料在发酵过程中 pH 值和乳酸的变化显示(表 2),在青贮发酵的第 1 天,乙醇添加组 pH 值显著低于对照($P < 0.05$),但随着添加水平的提高 pH 值有上升趋势($P > 0.05$),其中 4.5% 的处理显著高于其他处理($P < 0.05$)。到第 3 天,4.5% 处理的 pH 值显著高于其他各处理组($P < 0.05$),但对照与其他处理组间差异不显著($P > 0.05$)。对照的 pH 值第 3 天已急剧下降到 4.12(第 1 天 pH 值为 5.28),而其他处理组下降速度较缓慢。在第 5 天,1.5% 处理的 pH 值为 3.89,显著($P < 0.05$)低于对照和 4.5% 处理,但和其他处理间差异不显著($P > 0.05$)。从 7~30 d 各个处理的 pH 值都在 4.2 以下,添加乙醇的 pH 值除 4.5% 处理外均有低于对照组的趋势($P > 0.05$),但各处理间差异不显著($P > 0.05$)。

表 2 添加乙醇对象草青贮饲料 pH 值, 乳酸和 DM 含量的影响

Table 2 Effect of adding ethanol on pH, LA and DM contents of elephant grass silage

| 测定项目 Items | 青贮天数 Storage period (d) | 乙醇处理 Ethanol treatments | | | | |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | 0 | 1.5% | 2.5% | 3.5% | 4.5% |
| pH 值 pH value | 1 | 5.28±0.17 cB | 4.24±0.01 aD | 4.31±0.08 aE | 4.35±0.05 aB | 4.70±0.01 bD |
| | 3 | 4.12±0.04 aA | 4.02±0.05 aC | 4.07±0.01 aD | 4.13±0.18 aAB | 4.51±0.07 bD |
| | 5 | 4.04±0.06 bA | 3.89±0.03 aBC | 3.94±0.02 abC | 4.01±0.06 abAB | 4.07±0.14 bBC |
| | 7 | 4.11±0.09 aA | 3.79±0.02 aA | 3.86±0.03 aBC | 4.07±0.34 aAB | 4.10±0.02 aC |
| | 14 | 4.10±0.36 aA | 3.87±0.04 aB | 3.80±0.06 aAB | 3.80±0.02 aA | 3.79±0.01 aA |
| | 30 | 3.98±0.22 aA | 3.95±0.05 aC | 3.74±0.02 aA | 3.91±0.01 aA | 3.85±0.20 aAB |
| 乳酸 LA (g/kg DM) | 1 | 15.01±6.79 aA | 31.93±12.79 aA | 22.56±11.64 aA | 21.29±1.93 aA | 16.49±5.35 aA |
| | 3 | 25.49±2.49 aA | 43.60±1.29 bA | 39.91±2.64 bB | 28.40±13.17 aA | 22.40±4.11 aA |
| | 5 | 43.55±3.70 aA | 42.00±6.09 aB | 67.03±5.67 cC | 54.08±2.86 bB | 41.01±6.02 aB |
| | 7 | 72.48±8.24 abB | 76.95±10.31 bB | 79.11±1.06 bC | 78.01±8.03 bC | 67.54±10.95 aB |
| | 14 | 58.23±26.97 aA | 76.68±15.74 bB | 77.89±7.35 bC | 84.92±10.38 bC | 61.54±5.96 abB |
| | 30 | 52.21±41.31 aA | 74.78±6.79 bB | 76.48±4.39 bC | 72.00±1.46 bC | 61.71±8.78 abB |
| 干物质 DM (g/kg) | 1 | 152.93±2.83 aB | 145.53±4.37 aA | 153.71±5.24 aB | 155.85±14.04 aC | 156.89±5.42 aAB |
| | 3 | 156.32±9.01 bcB | 141.28±7.88 aA | 145.07±0.88 abB | 160.23±3.18 bcC | 161.34±0.97 cB |
| | 5 | 158.34±2.15 bB | 148.69±4.81 aA | 142.34±3.93 aB | 158.76±4.89 bC | 167.90±4.04 bC |
| | 7 | 137.96±9.09 aA | 149.50±2.40 abA | 147.23±3.40 abB | 152.05±6.80 abBC | 160.42±10.27 bB |
| | 14 | 131.95±4.31 aA | 140.48±2.11 aA | 146.82±1.07 aB | 145.89±3.20 aAB | 151.65±3.51 bAB |
| | 30 | 131.69±3.29 aA | 139.84±3.32 aA | 140.47±11.85 aA | 142.33±4.74 aA | 144.64±7.93 aA |

同一列中不同大写字母表示同一处理不同天数差异显著;同一行中不同小写字母表示一天内不同处理差异显著; $P<0.05$ 。下同。

Values followed by different capital letters in the same column show significant differences between the same treatment; Values followed by different little letters in the same row show significant differences between the same day; $P<0.05$. The same below.

乳酸的变化可以看出(表 2),在最初的 3 d,乙醇处理的乳酸含量高于或显著($P<0.05$)高于对照(除 4.5% 处理),但随着乙醇添加量的增加,乳酸含量呈下降趋势。在发酵的第 5 天,2.5%,3.5% 添加处理的乳酸含量显著($P<0.05$)高于对照,1.5% 和 4.5% 处理,第 7 天添加乙醇处理和对照的乳酸含量无显著差异($P>0.05$),但 4.5% 处理明显低于其他乙醇处理。第 14 天,1.5%,2.5% 和 3.5% 处理的乳酸含量显著($P<0.05$)高于对照,但和 4.5% 处理无显著差异($P>0.05$)。在发酵的第 30 天各添加处理(除 4.5% 处理外)的乳酸含量均显著高于对照处理($P<0.05$)。3.5% 处理在第 14 天达到最大值(84.92 g/kg DM),且显著($P<0.05$)高于第 1,3 和 5 天的乳酸含量;4.5% 的处理在第 7 天达最大值(67.54 g/kg DM),与第 1 和 3 天的相比差异显著($P<0.05$);其余 3 个处理在第 7 天乳酸含量达到最大且分别显著($P<0.05$)高于 1 和 3 d 的乳酸含量。

在发酵的前 5 d 对照处理青贮饲料的 DM 含量高于低浓度处理(1.5%,2.5% 处理),随着乙醇添加量的增加,DM 含量也逐渐增加,第 5 天 4.5% 处理的 DM 显著($P<0.05$)高于其他处理。第 7 天添加处理的 DM 含量均高于对照,且 4.5% 处理显著($P<0.05$)高于其余处理,第 14 天,添加处理的 DM 高于对照($P>0.05$),其中 4.5% 处理 DM 含量最高($P<0.05$),30 d 乙醇添加处理的 DM 均有高于对照的趋势 ($P>0.05$)。

2.2 不同比例添加的乙醇对象草青贮过程中挥发性脂肪酸含量的影响

象草各个处理的乙酸含量在发酵过程中除个别有波动外,总体上呈逐渐升高趋势。在第 1 天添加处理的乙酸含量显著($P<0.05$)低于对照,但各添加处理间差异不显著($P>0.05$)(表 3)。在第 3~7 天发酵期间各处理组间乙酸含量无显著($P>0.05$)差异。对照的乙酸含量在第 14 天达到最大值,显著($P<0.05$)高于添加乙醇的各个处理组。在发酵的第 30 天,对照的乙酸含量高于乙醇各处理,与 4.5% 处理差异显著($P<0.05$),且随着乙

醇添加量的增加,乙酸含量呈下降趋势。在发酵过程中,所有处理的丙酸和丁酸含量极少或没有。第 1 天乙醇处理总 VFAs 含量显著($P<0.05$)低于对照,3~7 d 发酵期间乙醇处理与对照差异不显著($P>0.05$),但有降低趋势。对照总 VFAs 含量第 14 天达到最大值,显著($P<0.05$)高于其他各处理的值。各处理发酵过程中 VFAs 的变化与乙酸的变化趋势相似。

青贮发酵第 1 天,1.5%,2.5%和 3.5%处理的 LA/AA 显著($P<0.05$)高于对照,且 1.5%处理的 LA/AA 值最大($P<0.05$)。第 3,5 和 7 天各处理组的 LA/AA 无显著差异($P>0.05$)。第 14 天 2.5%和 3.5%处理的 LA/AA 值显著($P<0.05$)高于对照,对照显示最低的 LA/AA 值。第 30 天对照的 LA/AA 值低于乙醇各处理,且与 4.5%处理差异显著($P<0.05$)。

表 3 添加乙醇对象草青贮饲料挥发性脂肪酸含量的影响

Table 3 Effect of adding ethanol on volatile fatty acids content of elephant grass silage

| 测定项目 Items | 青贮天数 Storage period (d) | 乙醇处理 Ethanol treatments | | | | |
|---------------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------|----------------|-----------------|---------------|
| | | 0 | 1.5% | 2.5% | 3.5% | 4.5% |
| 乙酸 AA (g/kg DM) | 1 | 12.27±4.52 bA | 1.80±0.59 aA | 3.82±2.17 aA | 4.37±1.89 aA | 3.80±0.71 aA |
| | 3 | 9.39±5.94 aA | 7.04±4.13 aAB | 6.66±2.36 aAB | 7.37±0.72 aAB | 9.02±1.33 aBC |
| | 5 | 8.74±4.96 aA | 6.73±0.94 aAB | 10.62±1.79 aBC | 5.95±2.47 aAB | 8.96±1.77 aBC |
| | 7 | 13.42±9.51 aA | 9.13±6.38 aB | 8.62±1.02 aB | 13.84±4.93 aC | 7.91±0.58 aBC |
| | 14 | 26.30±16.74 bB | 9.39±2.56 aB | 10.56±4.51 aBC | 7.28±1.98 aAB | 10.08±1.59 aC |
| | 30 | 16.49±0.27 bA | 10.49±2.14 abB | 13.10±1.09 abC | 10.95±3.15 abBC | 6.05±4.07 aAB |
| 丙酸 PA (g/kg DM) | 1 | 0.13±0.22 a | 0.12±0.11 aB | 0.01±0.12 a | 0.03±0.05 a | 0.03±0.05 a |
| | 3 | 0.01±0.01 a | 0.01±0.02 aA | 0.03±0.05 a | 0.03±0.05 a | 0.03±0.05 a |
| | 5 | 0.04±0.04 a | 0.03±0.04 aA | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 a | 0.03±0.05 a |
| | 7 | 0.02±0.02 a | 0.00±0.00 aA | 0.19±0.32 a | 0.00±0.00 a | 0.02±0.04 a |
| | 14 | 0.00±0.00 a | 0.01±0.01 aA | 0.01±0.01 a | 0.03±0.05 a | 0.04±0.12 a |
| | 30 | 0.00±0.00 a | 0.01±0.01 aA | 0.00±0.00 a | 0.03±0.05 a | 0.00±0.00 a |
| 丁酸 BA (g/kg DM) | 1 | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 aA | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 a |
| | 3 | 0.00±0.00 a | 0.23±0.40 aAB | 0.24±0.41 a | 0.00±0.00 a | 0.01±0.01 a |
| | 5 | 0.02±0.04 a | 0.13±0.16 aAB | 0.08±0.13 a | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 a |
| | 7 | 0.13±0.23 a | 0.35±0.60 aAB | 0.04±0.07 a | 0.08±0.11 a | 0.00±0.00 a |
| | 14 | 0.09±0.16 a | 0.65±0.30 aB | 0.00±0.00 a | 0.00±0.00 a | 0.01±0.02 a |
| | 30 | 0.00±0.00 a | 0.09±0.12 aAB | 0.00±0.00 a | 0.06±0.10 a | 0.04±0.08 a |
| 乳酸/乙酸 LA/AA | 1 | 1.58±0.83 aA | 12.42±2.94 cB | 6.00±0.27 bA | 7.53±2.46 bA | 4.39±1.42 abA |
| | 3 | 5.11±4.19 aA | 4.29±0.68 aA | 6.50±2.11 aA | 4.14±2.43 aA | 2.51±0.51 aA |
| | 5 | 6.17±3.35 aA | 6.40±1.79 aA | 6.42±1.01 aA | 10.04±3.67 aBC | 8.04±0.89 aAB |
| | 7 | 7.89±5.65 aA | 10.96±5.43 aAB | 9.25±0.98 aA | 6.07±2.06 aAB | 8.59±1.17 aAB |
| | 14 | 2.00±2.92 aA | 5.26±2.09 abA | 8.40±3.70 bcA | 12.02±2.14 cC | 6.24±1.44 abA |
| | 30 | 4.18±6.71 aA | 5.37±7.22 aB | 5.89±0.83 aA | 7.03±2.42 abAB | 13.61±8.09 bB |
| 挥发性 脂肪酸 VFAs (g/kg DM) | 1 | 12.40±4.44 bA | 1.93±0.48 aA | 3.83±2.16 aA | 4.40±1.86 aA | 3.82±0.71 aA |
| | 3 | 9.39±5.94 aA | 7.29±1.05 aAB | 6.88±1.74 aAB | 7.41±0.67 aA | 9.06±1.38 aBC |
| | 5 | 8.80±4.90 aA | 6.89±0.82 aAB | 10.69±1.89 aB | 5.95±2.47 aAB | 8.99±1.73 aBC |
| | 7 | 13.57±3.45 aA | 9.47±6.97 aB | 8.85±1.31 aB | 13.93±4.88 aC | 7.93±0.62 aBC |
| | 14 | 26.43±12.54 bB | 10.05±2.26 aB | 10.57±4.52 aB | 7.31±1.94 aAB | 10.13±1.54 aC |
| | 30 | 16.62±0.22 bA | 10.59±2.27 abB | 13.10±1.09 abB | 11.03±3.01 abBC | 6.09±4.42 aAB |

2.3 不同比例添加的乙醇对象草青贮过程中氨态氮及水溶性碳水化合物含量的影响

在青贮发酵的前 5 d 内添加乙醇的各个处理 AN/TN 均低于对照组,其中第 1 天 3.5%和 4.5%处理明显低于对照组($P<0.05$),第 3 和 5 天 4.5%处理显著($P<0.05$) 低于对照组(表 4)。第 7 天各处理组间 AN/TN 差异不显著($P>0.05$),但乙醇处理有低于对照组的趋势($P>0.05$)。第 14 天乙醇添加处理的 AN/TN 显著($P<0.05$)低于对照,在发酵的第 30 天乙醇各处理的 AN/TN 仍保持低于对照($P>0.05$)的趋势。在发酵过程中添加处理的 AN/TN 随乙醇添加量的增加而下降。各处理的 AN/TN 从第 1 天开始,随着发酵的进程呈逐渐升高的趋势。

前 5 d 各个处理的 WSC 含量下降速度较快,第 5 天的 WSC 含量显著($P<0.05$)低于第 1 天的 WSC 含量,随后各处理的 WSC 含量下降较为缓慢,对照处理下降到 13.35 g/kg DM。添加处理中 4.5%的 WSC 含量下降幅度最小,其水溶性碳水化合物含量为 32.52 g/kg DM,在发酵的 3~14 d 期间乙醇添加处理的 WSC 含量均高于对照组,随着乙醇添加量的增加,WSC 含量也随之提高,其中第 3,5 和 7 天 3.5%,4.5%处理的 WSC 含量显著($P<0.05$)高于对照。第 30 天 4.5%处理的 WSC 含量为 15.26 g/kg DM,显著高于对照和 1.5%处理($P<0.05$)。

表 4 添加乙醇对象草青贮饲料氨态氮/总氮和水溶性碳水化合物的影响

Table 4 Effect of adding ethanol on AN/TN and WSC content of elephant grass silage

| 测定项目 Items | 青贮天数 Storage period (d) | 乙醇处理 Ethanol treatments | | | | |
|---|----------------------------|-------------------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|
| | | 0 | 1.5% | 2.5% | 3.5% | 4.5% |
| 氨态氮/ 总氮 AN/TN (g AN/ kg TN) | 1 | 68.49±14.86 bA | 47.21±7.28 abA | 43.48±2.24 abA | 21.28±2.86 aA | 17.75±8.62 aA |
| | 3 | 78.79±34.41 bA | 55.25±5.72 abA | 50.68±3.28 abA | 51.99±5.15 abB | 32.76±6.45 aB |
| | 5 | 80.76±6.34 bA | 77.09±12.41 abAB | 70.95±10.24 abAB | 64.44±7.24 abBC | 48.26±10.76 aB |
| | 7 | 80.53±33.49 aA | 79.25±5.23 aAB | 76.42±5.92 aAB | 61.43±3.35 aBC | 54.38±1.25 aBC |
| | 14 | 146.75±11.35 bB | 90.04±35.51 aB | 85.63±4.21 aB | 76.65±18.62 aC | 69.12±7.15 aC |
| | 30 | 82.70±25.05 aA | 79.38±1.51 aAB | 76.32±8.91 aAB | 76.79±43.22 aC | 70.74±5.01 aC |
| 水溶性碳 水化合物 WSC (g/kg DM) | 1 | 27.32±2.27 aC | 38.68±5.39 bD | 39.81±5.63 bB | 63.48±4.22 cC | 68.58±8.61 cC |
| | 3 | 17.24±4.30 aB | 26.32±14.39 abC | 27.45±11.66 abAB | 40.72±6.48 bB | 42.75±10.14 bB |
| | 5 | 13.35±1.94 aAB | 16.47±1.90 abB | 16.90±2.92 abA | 27.32±7.56 bAB | 32.52±2.38 bB |
| | 7 | 11.92±2.11 aAB | 12.37±2.96 abAB | 13.22±2.05 abA | 20.25±10.28 bAB | 21.27±4.89 bA |
| | 14 | 10.54±2.36 aAB | 12.08±1.73 aAB | 13.10±1.47 aA | 14.53±1.26 aA | 18.44±0.56 aA |
| | 30 | 6.51±1.73 aA | 6.44±1.17 aA | 10.09±2.62 abA | 11.70±4.75 abA | 15.26±2.78 bA |

3 讨论与结论

象草经过 30 d 的发酵,各个处理的青贮饲料 pH 值均降到 4.2 以下,从 pH 值以及产生的乳酸来看,均具有好的发酵品质。在青贮发酵的前 5 d,对照的 pH 值从 5.28 下降到 4.04,乙醇各处理从低添加量到高添加量 pH 值分别下降为 3.89,3.94,4.01 和 4.07。这主要是由于添加乙醇后,在抑制好氧性微生物的同时,对乳酸菌也有一定的抑制作用,导致高添加量处理的 pH 值高于低添加量处理。7 d 后,青贮发酵趋于稳定,pH 值下降缓慢,这可能是由于占发酵主导地位的乳酸菌种类发生了改变造成的。在发酵初期,一般以同质型的乳酸菌为主,它们将碳水化合物转化为乳酸的效率较高,而随着 pH 值的降低,异质型乳酸菌由于能够耐受乙酸和更低的 pH 值,其发酵逐渐占主导,而它们利用糖分的效率只有同质型乳酸菌的一半。Shao 等^[2,17]的试验结果也证实了这一结论。本试验中,青贮前草料被切成长 1~2 cm 的草段,并且在装填入青贮罐的挤压过程中有大量的植物汁液流出,这为乳酸发酵,特别是开始阶段同质型乳酸发酵提供了前提条件,Shao 等^[18]的研究结果与本研究的结论相似。

在青贮发酵前期各处理青贮饲料的乳酸含量增加较缓慢,随着发酵的进行,氧气被耗尽,植物细胞的呼吸作用逐渐停止,好氧性微生物的活动受到抑制,青贮罐内形成厌氧状态,乳酸发酵开始占主导,产生大量的乳酸,pH 值快速下降,进一步抑制了不利于青贮的微生物的生长。添加乙醇的青贮饲料乳酸含量在第 7 天左右达到最大值,并且含量高于对照处理,发酵过程中乙醇添加处理的 LA/AA 值与对照相比有升高的趋势,上述结果表明,在青贮发酵中,特别是发酵初期,乙醇抑制了好氧性微生物对碳水化合物的利用,促进了同质型乳酸发酵。其他好氧性微生物抑制剂的研究也得到了同样的结果,Kleinschmit 等^[5]在玉米(*Zea mays*)青贮中添加安息香酸钠,最终青贮饲料中的乳酸含量也显著高于对照处理。在玉米中添加甲酸也提高了青贮饲料的乳酸含量,而且提高了干物质消化率^[19]。

在发酵的第 1 天对照的乙酸含量为 12.27 g/kg DM,显著($P < 0.05$)高于添加乙醇的各个处理,但各添加处理间乙酸含量没有明显差异。从第 3 天到第 14 天各处理的乙酸,VFAs 含量呈逐渐增加的趋势。第 3,5,7 天对照的乙酸含量和乙醇各个处理差异不显著($P > 0.05$)。在第 14 天对照的乙酸含量为 26.30 g/kg DM,显著($P < 0.05$)高于添加乙醇的处理。青贮饲料中的乙酸在发酵早期主要是好氧性微生物发酵产生的,而随着发酵的进行,异质型乳酸菌发酵逐渐占主导,也产生部分的乙酸。添加乙醇后抑制了青贮发酵早期好氧性微生物对 WSC 的利用,降低了青贮饲料中乙酸的含量。Ohba 等^[20]在大黍青贮中添加乙醇明显降低青贮饲料中乙酸的含量,而燕麦(*Avena sativa*)和意大利黑麦草(*Lolium multiflorum*)的青贮中添加乙醇发现添加处理青贮饲料的乙酸、丙酸含量与对照相比没有显著差异。

本试验中在青贮发酵的开始阶段,特别是前 3 d 各处理青贮饲料的 WSC 下降幅度最大,青贮发酵第 1 天对照处理的 WSC 含量下降幅度比各乙醇处理大,而且青贮饲料中乙酸的含量也显著($P < 0.05$)高于乙醇处理,这表明在发酵初期对照的 WSC 消耗主要是好氧性微生物的利用引起的,而添加乙醇抑制了好氧性微生物对 WSC 的利用,降低了青贮饲料的乙酸含量。研究表明,最初几天青贮饲料糖分下降除了好氧性微生物的利用外,还有开始阶段植物的呼吸作用造成的损失^[3,17]。本试验中象草青贮发酵 5 d 后对照组的 WSC 为 13.35 g/kg DM,与发酵 1 d 后相比下降了 51.1%,而 4.5%处理青贮饲料第 5 天的 WSC 与第 1 天相比下降了 52.6%,第 5 天对照及 4.5%处理的乳酸含量与第 1 天相比分别增加了 1.10 和 2.20 倍,表明在象草青贮中添加乙醇后,抑制了发酵过程中好氧性微生物对 WSC 的利用,提高了象草 WSC 的发酵效率。Ohba 等^[12]的研究表明,在大黍中添加 3% 的乙醇能够显著降低青贮饲料的 pH 值,提高青贮饲料糖分的含量,并且乙醇处理的青贮饲料乳酸含量显著高于对照,这也表明添加乙醇提高了大黍中 WSC 的利用效率,与本试验的结果相一致。Shao 等^[21]在意大利黑麦草的青贮中添加山梨酸显著的提高了乳酸菌对发酵底物的利用效率,减少了 WSC 的损失。甲酸和福尔马林混合添加到多年生黑麦草(*Lolium perenne*)中进行青贮,也能够显著提高青贮饲料的 WSC 含量^[22]。

象草各处理青贮发酵过程中的 AN/TN 随着发酵的进行逐渐升高,对照处理各天的 AN/TN 值均高于乙醇添加处理,且随着乙醇添加量的增加,AN/TN 随之降低。上述结果表明,在象草青贮发酵中添加乙醇抑制了好氧性微生物对蛋白质的分解利用,减少了发酵过程中蛋白质的损失。其他研究也表明,大黍和燕麦青贮中添加 3% 以上的乙醇也能够明显降低青贮饲料中 AN/TN 的值^[12,20]。

综上所述,通过在象草中添加不同比例的乙醇对青贮发酵过程进行调控,从 pH 值、氨态氮,乳酸及水溶性碳水化合物含量等指标的动态变化来看,乙醇各添加处理抑制了象草青贮发酵过程中好氧性微生物对水溶性碳水化合物和蛋白质的利用,提高了青贮饲料的发酵品质。综合考虑青贮饲料的发酵品质和乙醇在实际生产中的应用,2.5%的乙醇添加量较为适宜。

参考文献:

- [1] 程序. 能源牧草堪当未来生物能源之大任[J]. 草业学报,2008, 17(3): 1-5.
- [2] Shao T, Ohba N, Shimojo M, et al. Dynamics of early fermentation of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silage[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2002, 15(11):1606-1610.
- [3] Shao T, Wang T, Shimojo M, et al. Effect of ensiling density on fermentation quality of guineagrass (*Panicum maximum*

- Jacq.) silage during the early stage of ensiling[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2005, 18(9):1273-1278.
- [4] Kim K H, Uchida S. Comparative studies of ensiling characteristics between temperate and tropical species 1. The effect of various ensiling conditions on the silage quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and rhodegrass (*Chloris gayana* Kunth.)[J]. *Journal of Japan Grassland Sciences*, 1990, 36: 292-299.
- [5] Kleinschmit D H, Schmidt R J, Kung L Jr. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage[J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88: 2130-2139.
- [6] Alli I, Pabari S, Fairbairn R, *et al.* The effect of sorbates on the ensilage of chopped whole-plant maize and lucerne[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1985, 36: 63-70.
- [7] Shao T, Shimojo M, Wang T, *et al.* Effect of additives on the fermentation quality and residual mono- and disaccharides compositions of forage oats (*Avena sativa* L.) and Italian ryegrass(*Lolium multiflorum* Lam.) silage[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2005, 18(11): 1582-1588.
- [8] 杨富裕, 周禾, 韩建国, 等. 添加甲酸+甲醛对草木樨青贮品质的影响[J]. *草业学报*, 2004, 13(1): 74-78.
- [9] Yunus M, Ohba N, Shimojo M, *et al.* Effects of adding urea and molasses on Napiergrass silage quality[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 2000, 13(11): 1542-1547.
- [10] Shao T, Ohba N, Shimojo M, *et al.* Effect of adding glucose, sorbic acid and pre-fermented juice on the fermentation quality of guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.) silage[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2004, 17(6): 808-813.
- [11] 张涛, 李蕾, 张燕忠, 等. 青贮菌剂在苜蓿裹包青贮中的应用效果[J]. *草业学报*, 2007, 16(1): 100-104.
- [12] Ohba N, Nakashima N, Tobisa M, *et al.* Effect of ethanol addition on ensiling[J]. *Science Bull of Faculty Agriculture*, 2001, 56: 67-72.
- [13] Filya I, Ashbell G, Hen Y, *et al.* The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, 88: 39-46.
- [14] Josefa M, Antonio M T. A comparative study on the determination of lactic acid in silage juice by colorimetric, high-performance liquid chromatography and enzymatic methods[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79: 1722-1726.
- [15] Salawu M B, Acamovica T, Stewart C S, *et al.* The use of tannins as silage additives: Effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1999, 82: 243-259.
- [16] Kim S C, Adesogan A T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage[J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89: 3122-3132.
- [17] Shao T, Zhang Z, Shimojo M, *et al.* Comparison of fermentation characteristics of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.) during the early stage of ensiling[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2005, 18(12): 1727-1734.
- [18] Shao T, Ohba N, Shimojo M, *et al.* Changes in mono- and disaccharides compositions of guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.) silage during early stages of ensiling[J]. *Journal of Faculty Agriculture of Kyushu University*, 2003, 47(2): 333-339.
- [19] Taylan A, Erol B, Akif Karsli M, *et al.* Effects of formic acid, molasses and inoculant additives on corn silage composition, organic matter digestibility and microbial protein synthesis in sheep[J]. *Small Ruminant Research*, 2006, 61: 29-33.
- [20] Ohba N, Tobisa M, Shimojo M, *et al.* Effect of ethanol addition on ensiling of forage Oats and Italian ryegrass[J]. *Science Bull of Faculty Agriculture*, 2002, 57: 11-15.
- [21] Shao T, Zhang L, Shimojo M, *et al.* Fermentation quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silages treated with encapsulated-glucose, glucose, sorbic acid and pre-fermented juices[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2007, 20(11): 1699-1704.
- [22] Haigh P M, Davies O D. Effect of formic acid with formalin or barley incorporation into grass silage on silage fermentation and the performance of dairy cows[J]. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 1998, 69: 261-265.

Effect of adding ethanol on fermentation quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) silage

ZHANG Lei, SHAO Tao

(Department of Grassland and Forage, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effect of adding ethanol on fermentation quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) silage was studied. Ethanol was added at 0, 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4.5% of fresh weight, and the silos were opened after 1, 3, 5, 7, 14, or 30 days of ensiling and the fermentation quality was analyzed. Ethanol addition inhibited protein break down and significantly ($P < 0.05$) reduced the ammonia nitrogen/total nitrogen as compared with the controls. The pH of silage with ethanol decreased slowly during initial 3 days of ensiling and then dropped faster. The lactic acid content tended to increase during ensiling and reached its highest value on about day 7. The lactic acid content of silage with ethanol addition was higher than that of the control on the 30th day of ensiling. At an early stage of fermentation the WSC (water soluble carbohydrate) content declined very quickly. The WSC utilization efficiency of silage with ethanol was higher than that of the control. Addition of ethanol significantly ($P < 0.05$) lowered the acetic acid content compared with the control on days 1 and 14 of ensiling, but there was no marked ($P > 0.05$) difference between the silages with ethanol added. The above experiments suggested that addition of ethanol inhibited the use of protein and WSC by aerobic bacteria and thereby reduced silage losses during the early stages of ensiling. This provided more fermentation substrate for lactic acid bacteria, which produced more lactic acid, and improved the fermentation quality of elephant grass.

Key words: ethanol; *Pennisetum purpureum*; ensilage; fermentation quality