

苜蓿青贮品质评定指标体系及测定方法的概述

李改英, 陈玉霞, 廉红霞, 高腾云

(河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要:苜蓿(*Medicago sativa*)青贮技术成为当前苜蓿草研究的热点,而苜蓿青贮评定指标体系及其测定方法的完善和规范直接影响苜蓿青贮品质,因此适应苜蓿青贮评定的标准急需建立。目前苜蓿品质评定基本是参照青贮饲料的通用标准,由于苜蓿豆科牧草自身的特性和青贮方法的特殊性,传统的评定基准如有机酸、铵态氮、pH 值等并不完全适应苜蓿青贮;同样随着青贮技术的发展,有关指标的测定新方法也不断出现,传统的测定方法亟待改进。通过对不同的评定标准和测定方法的分析,V-Score 和 Kaiser 法较适合苜蓿青贮,但评定指标较少,可以将 pH 值、铵态氮、乳酸等指标加入,进一步细化评定范围;铵态氮可以用比色法测定,有机酸的测定采用离子色谱法和高效液相色谱法测定更准确。

关键词:青贮苜蓿;品质;评定指标;测定方法

中图分类号:S551⁺.703.7

文献标识码:A

文章编号:1001-0629(2010)08-0151-04

*¹ 紫花苜蓿(*Medicago sativa*)属于豆科牧草,富含多种营养物质,添加到畜禽日粮中能显著提高生产性能,改善畜产品品质,是畜牧业生产中不可缺少的优质牧草资源^[1],尤其对于奶牛养殖业,苜蓿适口性好,瘤胃降解率高,粗蛋白含量高,可以显著地提高奶产量和乳品质,备受广大养殖者的青睐^[2-6]。青贮饲料由于具有鲜嫩多汁、营养价值高、适口性好和长期贮存的特性,已经成为反刍动物不可缺少的基础饲料,所以苜蓿青贮逐渐成为近几年人们研究的热点。青贮过程中产生大量的有机酸,从而形成一个较低的 pH 值环境,抑制有害微生物的繁殖,确保蛋白质等营养物质不分解,因此 pH 值及铵态氮、乳酸、乙酸、丙酸、丁酸含量等成为衡量青贮品质的指标。此外,传统指标体系的测定方法由于比较费时费力且具有一定的不准确性,受到质疑,特别是不同的青贮方式和牧草品种也不能套用同一个标准,而评价标准和测定方法的完善与规范直接反映青贮品质的好坏。针对适应苜蓿青贮的评定指标、测定方法的研究现状及存在的问题作一阐述,以期对理论研究和现实生产有一定的指导意义。

1 苜蓿青贮饲料品质评定指标体系

1.1 青贮饲料感官评定 青贮饲料的品质评

定包括现场评定和实验室评定。现场评定是一种快速简单评定牧草品质的方法,主要对牧草的感官评定。比较常用和规定比较详细的是德国农业协会(DLG)评分法,它是根据嗅觉、结构、色泽进行评分,将青贮饲料分为优、可、中、下 4 等,可以看出评定标准比较笼统,不同的原料没有针对性,但是评定不需要任何仪器设备,具有一定的实用价值^[7]。在 1996 年,我国农业部畜牧兽医司委托浙江大学起草了紫云英(*Astragalus sinicus*)、苜蓿、红薯(*Ipomoea batatas*)藤和玉米(*Zea mays*)秸青贮饲料质量评定标准^[8],从现场 pH 值、水分、气味、色泽和质地对青贮饲料评分,然后分为优、良、一般和差 4 个等级。另外中国农科院畜牧研究所也从颜色、气味、嗅觉和质地提出了青贮饲料的感官标准^[9]。从中可以看出我国现行标准的制定不断细化,但是感官评定仍受主观影响较大,需要评定人员具备丰富的实践经验。

1.2 青贮饲料实验室评定标准进展 常规

收稿日期:2009-08-23
基金项目:荷兰王国国际合作项目(2002-02-02);国家农业科技跨越计划项目(2003-22)
作者简介:李改英(1979-),女,河南浙川人,实验师,硕士,主要从事奶牛集约化饲养方面的研究。
通信作者:高腾云 E-mail:tygaoty@yahoo.com

的实验室评定常用 pH 值、有机酸含量、铵态氮含量衡量青贮饲料发酵品质的好坏。最早弗氏评分法 (Fileg) 根据青贮饲料中乳酸、乙酸、丁酸所占的比例分别进行评分,最后得到总分,分为优、良、可、中、劣 5 个等级,此法只适合常规青贮饲料,不适合劣质青贮饲料和二次发酵青贮饲料,因为对于劣质的青贮饲料由于高温等造成饲料品质严重下降,但有可能 Fileg 得分较高。为了反映蛋白质的分解情况,McDonald 等又提出了铵态氮评分法,根据铵态氮和总氮的比值进行等级评定,排除了水分含量的影响。我国 1996 年颁布的标准则结合了有机酸和铵态氮两方面的综合得分对青贮饲料进行评定,另外还规定了 pH 值的得分。2001 年日本 V-Score 评分体系去除了乳酸,将铵态氮、乙酸、丙酸、丁酸作为评定指标,根据评分将青贮饲料品质分为良好、尚可、不良 3 个等级^[10]。Kaiser 和 Weipp^[11] 提出的青贮评定标准则将丁酸和乙酸作为评价标准,将饲料分为 5 个等级。

2 青贮品质指标测定方法

青贮饲料测定的常规指标包括 pH 值、有机酸、铵态氮等,均涉及到样品的前处理,如果处理方法不当或测定方法不准确均影响到结果的准确性。目前青贮指标的测定方法没有统一的标准,给后期工作带来很大的不便。pH 值最早用试纸测定,但是不够准确,便携式 pH 计的出现使得测定工作显得容易,我国 1996 年标准中采用 100 g 青贮料加水 100 mL 经 24 h 浸提后过滤,然后用酸度计测定。铵态氮含量国标采用凯氏定氮法测定,常用的还有比色法、分光光度法等,另外也出现了一些新方法,范志影等^[12] 采用流动注射法测定青贮饲料中的铵态氮,准确性好,范围宽,大大降低了色度的影响;陈鹏飞等^[13] 采用近红外光谱技术测定紫花苜蓿青贮鲜样的发酵品质,将青贮料用液氮冷冻后粉碎,然后用近红外光谱技术进行扫描测定苜蓿青贮饲料中的铵态氮、乳酸、乙酸、丁酸,结果预测值与化学分析值差异不显著,此方法测定指标多,比较简单。有机酸的测定,农业部标准采用提取液用偏磷酸处理后,在气相色

谱仪上直接测定乳酸、乙酸和丁酸,测定方法快捷简单,但是经验证农业部标准对铵态氮及有机酸的测定结果不够准确,因为青贮饲料中铵态氮含量很小,蒸馏过程中很容易损失,另外滴定时的空白对照,终点确定对结果影响也比较大;国标采用气象色谱仪测定有机酸,但是乳酸很难测准确,因为乳酸的中间产物很难保证完全转化为终产物。王洪丽和李成云^[14] 采用气相色谱法测定苜蓿青贮料中的有机酸,称取苜蓿青贮料(10±0.002)g,加入 2℃左右的去离子水 80 mL,放在 4℃的条件下浸提 48 h,过滤于 100 mL 容量瓶中,用冷却去离子水定容至刻度,摇匀,取 10 mL 置于 15 mL 具塞离心管中,加入 3~5 滴乙醇,在 3 000 r/min 的条件下离心 15 min,上清液用于酯化反应,结果回收率高,相关性好,但是对于模型的建立和参照物的选择不成熟,需要进一步验证。许庆方等^[15] 采用高效液相色谱仪对紫花苜蓿青贮浸提液的乳酸、乙酸、丙酸、丁酸含量同时测定,准确称取 20 g 新鲜紫花苜蓿青贮,加入 200 mL 蒸馏水,均质 1 min,4 层粗纱布过滤,滤液用新华试纸精滤,精滤后的滤液再用 0.45 μm 滤膜过滤,浸提液待机分析,有机酸分离效果理想,回收率好,运用该方法测定数据真实可靠,操作简单。傅彤等^[16] 应用离子色谱测定青贮饲料中有机酸,取新鲜的青贮饲料 25 g 于具塞三角瓶中,加入 225 mL 去离子水,4℃冰箱中浸提 24 h,用快速定量滤纸过滤于塑料样品瓶内,如果长期保存则需要添加硫酸调节 pH 值为 2~3 后冷冻,上机分析,上样前经过 0.45 μm 的合成纤维素酯膜过滤,过程简单,结果准确。

3 适用于苜蓿青贮的评定标准和测定方法解析

从现行的青贮饲料评定体系中看出青贮饲料的评定主要分为感官评定和实验室评定。感官评定只是一个经验和感觉的初步评定,可以作为参考的依据,国内外的评定标准没有大的差异。实验室评定方面主要根据青贮发酵过程的产酸情况和蛋白质的分解情况进行品质评定。常规的青

贮是乳酸菌发酵产生大量的有机酸,从而形成一个较低的 pH 值环境,达到优质青贮的目地。而青贮饲料 pH 值受不同牧草和不同化学成分的影响^[17],还与青贮时牧草的含水量和植物的缓冲度有关,苜蓿属于豆科牧草,可溶性糖分低,缓冲度大,青贮时不利于 pH 值的下降,1996 年的标准也考虑到了不同牧草的区别,但是仍需要进一步的细分。早期的青贮标准中都将有机酸和铵态氮含量作为评价标准,其中又将同型乳酸菌发酵产生的乳酸作为青贮发酵品质评价的主导酸。对于可溶性碳水化合物含量少的苜蓿,青贮时酸的产生量较少,目前有研究报道异型发酵产生的乙酸更有利于青贮牧草的保存^[18],因为乙酸对提高青贮的有氧稳定性和氧化变质有重要作用,Kung 等^[19]研究认为高浓度的乙酸可以保证苜蓿青贮全混日粮长时间保鲜;丁酸是梭菌等有害微生物分解青贮料中的糖分所产生,同时伴随能量损失和蛋白质的分解,产生不良气味,严重影响饲料品质,可以作为苜蓿等豆科牧草评价指标,Kaiser 等^[20]研究表明,青贮乙酸和丁酸能反映饲料厌氧稳定性和青贮饲料发酵品质,将其作为苜蓿等青贮品质指标免除了牧草化学成分的影响。同样铵态氮含量作为统一的评价指标也不客观,青贮饲料铵态氮含量不仅与青贮过程有关还与牧草种类和化学成分有关^[17],苜蓿属于含蛋白质高的豆科牧草,试验也表明豆科牧草青贮过程中蛋白质降解远高于禾本科牧草,特别是苜蓿的蛋白质降解率最高^[21],所以青贮后铵态氮的含量比较高,并不能套用统一的标准作为判定青贮品质的依据。

pH 值的测定可以用精密酸度计直接测定提取液。铵态氮最简单的方法是凯氏蒸馏法,但是青贮饲料中铵态氮含量很小,蒸馏过程中很容易损失,另外滴定时空白对照,终点确定均容易造成测定误差;比色法和分光光度法其实为同一种方法,应用时应注意提取液颜色造成的误差,流动注射法和远红外法均需要专门的仪器,方法和技术还需要验证。黄森和安晓宁^[22]以及农业部 1996 年标准都用气象色谱法测定有机酸,它的原理是

用高碘酸氧化乳酸为乙醛,然后同时测定乙酸、丙酸、丁酸,此法容易出现氧化不彻底,另外前处理比较繁琐,经试验容易出现测不准情况。考虑到结果的准确性,可以利用离子色谱法和液相色谱测定有机酸含量,但是需要专业人员和昂贵的仪器设备。

4 小结

对于苜蓿等难青贮的豆科牧草急需制定一套适应性的新标准和规范的测定方法。综合现有的评定指标,V-Score 法和 Kaiser 法可能受影响更小,但评定指标比较单一,针对苜蓿青贮可以考虑将 pH 值、铵态氮、乳酸等指标加进去,但是应该结合苜蓿等豆科牧草的特性,将评定范围再进一步细化和量化。在测定方法上,pH 值的测定比较简单,可以直接对提取液进行测定,铵态氮可以用比色法进行,有机酸的测定考虑到稳定性和准确性可以采用离子色谱法和高效液相色谱法测定。

参考文献

- [1] 樊文娜,王成章,史鹏飞,等.苜蓿在畜禽鱼饲料中的应用研究进展[J].草业科学,2009,26(1):81-86.
- [2] 刘大林,赵丹,周洋,等.不同牧草在奶牛瘤胃内的降解规律[J].草业科学,2008,25(2):128-130.
- [3] 晏荣,李志强,韩建国.苜蓿青贮对牛奶中共轭亚油酸含量的影响[J].饲料研究,2006(10):44-47.
- [4] 韩立英,玉柱.3种乳酸菌制剂对苜蓿和羊草的青贮效果[J].草业科学,2009,26(2):66-71.
- [5] 郭江泽,王成章,严学兵,等.压扁处理对苜蓿水分散失的影响[J].草业科学,2009,26(6):106-109.
- [6] 孙小龙,周禾,李平,等.苜蓿与玉米秸秆混贮研究[J].草业学报,2009,18(5):86-92.
- [7] 张子仪.中国饲料学[M].北京:中国农业出版社,2000:886-887.
- [8] 农业部畜牧兽医司.青贮饲料质量评定标准(试行)[J].中国饲料,1996(21):5-7.
- [9] 余伯良.发酵饲料生产与应用新技术[M].北京:中国农业出版社,1999:32.
- [10] 郭旭生,丁武蓉,玉柱.青贮饲料发酵品质评定体系及其新进展[J].中国草地学报,2008,30(4):

- 100-106.
- [11] Kaiser E, Weiß K. A new system for the evaluation of the fermentation quality of silages[A]. Park R S, Stronge M D. Proceedings of the XIV international silage conference, a satellite workshop of the XXth international grassland congress[C]. Bellast: Northern Ireland, 2005:275.
- [12] 范志影, 陈金辉, 肖靖泽, 等. 采用流动注射法测定青贮饲料中的铵态氮[J]. 中国农业科技导报, 2008, 10(2):98-100.
- [13] 陈鹏飞, 戎郁萍, 韩建国. 近红外光谱技术测定紫花苜蓿青贮鲜样的发酵品质[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(12):2799-2803.
- [14] 王洪丽, 李成云. 气相色谱法测定苜蓿青贮料中的有机酸[J]. 饲料工业, 2008, 29(16):57-58, 60.
- [15] 许庆方, 玉柱, 韩建国, 等. 高效液相色谱法测定紫花苜蓿青贮中的有机酸[J]. 草原与草坪, 2007(2):63-65, 67.
- [16] 傅彤, 刘庆生, 范志影, 等. 应用离子色谱测定青贮饲料中有机酸含量的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2005, 32(5):16-17.
- [17] Kaiser E, Weiß K, Krause R. Beurteilung skriterien für die Garqualität von grassilagen[J]. Proceedings of the Society for Nutritional Physiology, 2000(9):94.
- [18] 郭旭生, 周禾. 不同添加剂对青贮饲料有氧稳定性的影响[J]. 中国奶牛, 2006(9):18-20.
- [19] Kung L J, Taylor C C, Lynch M P, *et al.* The effect of trea-ting alfalfa with *Lactobacillus bunchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows[J]. Journal of Science, 2003, 86(1):336-343.
- [20] Kaiser E, Weiß K, Krause R. Vorschlag zur beurteilung der Garqualität von grassilagen proceedings[C]. VDLUFA-Kongreß, Halle, 1999:385-388.
- [21] Papadopoulos Y A, McKersie B D. A comparison of protein degradation during wilting and ensiling of six forage species [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1983, 63:903-912.
- [22] 黄森, 安晓宁, 李丽霞. 直接进样同时测定青贮饲料中挥发性脂肪酸与乳酸的气相色谱法研究[J]. 畜牧兽医杂志, 1989(4):1-4.

Review on quality evaluating index system and measuring methods for alfalfa silage

LI Gai-ying, CHEN Yu-xia, LIAN Hong-xia, GAO Teng-yun

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University,
Henan Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Alfalfa silage technology has become a hotspot in alfalfa research and the improvement and standardization of quality evaluating index system and measuring methods for alfalfa silage directly affected the alfalfa silage quality, so it was urgently necessary to establish the suitable evaluating standards for alfalfa silage. The current standards for alfalfa silage are from those for common silage and they are not suitable for alfalfa silage because of the its specific features and newly developed measuring methods. By analyzing the different evaluating standards and measuring methods, V-Score and Kaiser were suitable for alfalfa silage, but the evaluating index was not enough, the indices including pH value, ammonium nitrogen and lactic acid should be covered in order to improve the evaluation. The ammonium nitrogen could be assayed by spectrophotometer and for organic acid, methods of HPLC and Ion Chromatograph are better.

Key words: alfalfa silage; quality; evaluation index; measuring method