

DOI:10.11686/cyxb2024350

http://cyxb.magtech.com.cn

李荣荣, 蔡瑞, 徐曦, 等. 添加乳酸菌对柑桔劣果和玉米秸混合青贮发酵特性和气味特征的影响. 草业学报, 2025, 34(8): 191-198.

LI Rong-rong, CAI Rui, XU Xi, et al. Effects of lactic acid bacteria additives on citrus fruit and corn stalk fermentation characteristics and odor characteristics of mixed silage. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(8): 191-198.

添加乳酸菌对柑桔劣果和玉米秸混合青贮发酵特性和气味特征的影响

李荣荣¹, 蔡瑞^{2*}, 徐曦¹, 田蕊¹

(1. 渭南师范学院环境与生命科学学院, 陕西 渭南 714000; 2. 华中科技大学环境科学与工程学院, 湖北 武汉 430074)

摘要: 饲料气味在动物采食喜好、采食量以及生产性能方面起着重要作用, 然而目前关于饲料中气味特征的研究极为有限。本研究采用顶空-气相色谱-质谱法和高通量测序技术, 分析了添加(LPA组)和不添加(CK组)植物乳杆菌接种剂对柑桔劣果和玉米秸混合青贮饲料发酵品质、细菌菌群结构和挥发性化合物的影响。结果表明, 相较于CK组, LPA组显著降低了青贮pH、乙酸和氨态氮含量($P < 0.05$), 显著提高了乳酸含量($P < 0.05$)。乳杆菌属是青贮中的优势属, LPA组乳杆菌属相对丰度更高, 克雷伯菌属相对丰度更低。碳水化合物代谢是青贮中最主要的代谢类型, CK组较LPA组降低了果糖和甘露糖代谢以及淀粉和蔗糖代谢类基因的相对丰度。D-柠檬烯是青贮中含量最丰富的萜烯类化合物, CK组增加了酸类和醇类化合物含量, 降低了D-柠檬烯含量。克雷伯菌属的相对丰度与乙酸和乙醇的相对含量呈极显著正相关($P < 0.01$)。综上所述, 添加植物乳杆菌能够促进乳杆菌属繁殖, 保留更多D-柠檬烯, 改善柑桔青贮饲料的发酵品质与香味组成。

关键词: 柑桔劣果; 青贮; 发酵特性; 气味特征

Effects of lactic acid bacteria additives on citrus fruit and corn stalk fermentation characteristics and odor characteristics of mixed silage

LI Rong-rong¹, CAI Rui^{2*}, XU Xi¹, TIAN Rui¹

1. College of Environment and Life Science, Weinan Normal University, Weinan 714000, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

Abstract: Feed odor plays an important role in animal feed preference, feed intake and growth rate. However, currently, research on the odor characteristics of feed is extremely limited. In this study, headspace-gas chromatography-mass spectrometry and high-throughput sequencing technologies were used to analyze the effects of adding *Lactobacillus plantarum* (LPA group) or not adding LPA (CK group) inoculant on the fermentation quality, bacterial flora structure and volatile compounds of mixed silage of inferior citrus (*Citrus reticulata*) fruits and corn (*Zea mays*) stalks. It was found that, compared with the CK group, silages in the LPA group had significantly reduced pH, acetic acid and ammonia nitrogen content ($P < 0.05$), and significantly increased lactic acid content ($P < 0.05$). *Lactobacillus* was the dominant bacterial genus in both silage groups. However, the relative abundance of *Lactobacillus* in the LPA group was higher, and the relative abundance of *Klebsiella* was lower than in the CK group. Carbohydrate metabolism was the most important metabolic activity in silage. Compared with the LPA-group

收稿日期: 2024-09-09; 改回日期: 2024-10-21

基金项目: 陕西省教育厅项目(23JK0438)和渭南师范学院横向项目(2024HX191; 2024HX050)资助。

作者简介: 李荣荣(1992-), 女, 河南汝州人, 博士。E-mail: lrr@wnu.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: cairui0104@163.com

silages, the relative abundance of genes related to fructose and mannose metabolism, and starch and sucrose metabolism were decreased in CK silage. D-limonene was the most abundant terpene compound in the silages. The CK-group silages had increased content of acid and alcohol compounds and reduced the content of D-limonene, compared to the LPA-group silages. The relative abundance of *Klebsiella* was extremely significantly positively correlated with the relative content of acetic acid and ethanol ($P < 0.01$). In conclusion, adding *L. plantarum* increased the relative abundance of *Lactobacillus*, facilitated retention of D-limonene, and improved the fermentation quality and flavor composition of mixed silage feed incorporating citrus fruit.

Key words: over-ripe citrus fruit; ensiling; fermentation characteristics; odor characteristics

柑桔(*Citrus reticulata*)作为陕西省南部丘陵地区农民脱贫致富、实现乡村振兴的特色产业,近年来已成为当地农民增收致富的主导产业之一。根据陕西省统计局的数据,2022年陕西省柑桔种植面积2.32万 hm^2 ,总产量达55.46万t,较2021年增长了2.4%。在柑桔生产加工过程中,会产生大量的早落果、次品果和果渣等废弃物,这些废弃物约占总产量的20%^[1]。由于缺乏深加工技术和较高的运输成本,导致产业链较短,绝大多数劣果被丢弃在田间,腐烂变质,进而污染环境。柑桔富含可溶性碳水化合物(water soluble carbohydrate, WSC)、维生素、矿物质,氨基酸种类齐全,是理想的动物饲料来源。由于柑桔劣果含水量高,易腐烂变质,将其与玉米(*Zea mays*)秸混合青贮发酵,不仅能有效调节含水量,而且能改善玉米秸质地粗硬、适口性较差的问题。

饲料中的挥发性化合物是气味的主要组成部分,而气味是影响动物采食量的重要因素,与苦味相比,香甜味能够吸引动物采食,增加饲料摄入量,提高动物生产性能^[2]。在青贮发酵过程中,尤其在好氧呼吸和乳酸发酵阶段,微生物菌群剧烈活动会导致有机酸、醛类、醇类和酯类等多种挥发性化合物的产生,使得饲料气味不断发生变化^[3]。柑桔因富含柠檬烯和 β -月桂烯等多种香气挥发物,具有独特的清香味,深受广大消费者的喜爱^[4]。目前关于柑桔及其副产物在饲料领域的研究主要集中在对青贮饲料营养价值^[5-6]或替代部分日粮对猪^[7-8]、家禽^[9-10]和反刍动物^[11-12]生长和生产性能的影响,而对其挥发性化合物缺乏研究。

顶空-气相色谱-质谱法(headspace-gas chromatography-mass spectrometry, HS-GC-MS)能够实现待测样品挥发性成分的定性和定量分析,具有无需溶剂提取、快速简便等优点,可将具有主观特征的气味量化,已广泛应用于中药和食品的气味等挥发性成分检测^[13-14]。因此,本研究采用HS-GC-MS技术分析植物乳杆菌对柑桔劣果和玉米秸混合饲料的发酵品质、细菌菌群结构和挥发性化合物的影响,为柑桔劣果的资源化利用和改善青贮气味提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2023年9月在陕西省渭南市渭南师范学院试验站进行。玉米秸取自陕西省渭南市周边农田,秸秆收获后室温存放约半年。柑桔劣果取自陕西省汉中市,主要是早落果、特小果、外观缺陷等果子。植物乳杆菌为实验室分离保存菌种。

1.2 青贮制作

用铡刀将玉米秸秆切碎至1~2 cm的小段,用破壁机(ANS-998,中国)将柑桔劣果破碎,柑桔劣果和玉米秸按照鲜重比3:2充分混匀。试验设置空白对照(CK)和植物乳杆菌接种剂组(*Lactobacillus plantarum*, LPA),其中,植物乳杆菌的接种量为 10^6 cfu \cdot g⁻¹鲜重(fresh matter, FM),溶于15 mL蒸馏水中,空白对照(CK)添加等量蒸馏水。将LPA组和CK组分别混匀后,各分为3份装入聚乙烯袋中作为3个重复,每袋约400 g,然后用真空包装机(420C型,中国)抽真空密封,在室温下发酵45 d后开封,测定发酵品质、细菌菌群结构和气味组成。青贮前原料(raw materials before ensiling, ML)的水分含量为67.33%,粗蛋白含量为66.58 g \cdot kg⁻¹干重(dry matter, DM),WSC含量为66.79 g \cdot kg⁻¹ DM,中性洗涤纤维含量为512.62 g \cdot kg⁻¹ DM,酸性洗涤纤维含量为291.45 g \cdot kg⁻¹ DM。

1.3 指标测定及方法

1.3.1 青贮指标分析 称取 10.0 g 青贮样品于无菌自封袋中,加入 90.0 mL 灭菌的去离子水,在振荡器上充分摇匀过滤,制得浸提液。采用 pH 计(PHS-2F 型,中国)测定青贮 pH 后,将浸提液置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,采用高效液相色谱仪(GC-2010Plus,日本)测定有机酸含量,根据 Broderick 等^[15]的方法测定氨态氮含量。另外准确称取 150.0 g 原料或青贮样品于托盘中, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下烘干 48 h,测定干物质含量。采用凯氏定氮仪(KDY-9830,中国)测定总氮含量,然后总氮含量乘以 6.25 换算为粗蛋白含量。

1.3.2 细菌菌群结构分析 准确称取 10.0 g 原料和青贮样品于自封袋中,加入 90 mL 灭菌去离子水,振荡 30 min 后过 4 层纱布,在 $10000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min,收集菌体沉淀。采用 CTAB(十六烷基三甲基溴化铵 hexadecyl trimethyl ammonium bromide)方法对样品的基因组 DNA 进行提取,用琼脂糖凝胶电泳检测提取出的 DNA 纯度和浓度;随后取适量 DNA 于离心管中,并用无菌水稀释至 $1\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 。用 2% 浓度的琼脂糖凝胶电泳进行 PCR 产物检测;待文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行上机测序。使用 FLASH 软件对样本的 reads 进行拼接,得到 Raw Tags。使用 QIIME 2 软件中的 DADA 2 模块,获得最终的扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs)以及特征表,使用 QIIME 2 软件中得到的 ASVs 与数据库比对从而得到物种信息。

1.3.3 挥发性化合物分析 取适量样品置于 20 mL 进样瓶中, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵化 30 min。色谱条件:高纯氮气为载气,进口温度为 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,传输线温度为 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,色谱柱型号为 Agilent 122-5532DB-5ms,流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,初始温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 涨至 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$,初始温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 2 min。质谱条件:采用电子轰击离子源,全离子扫描模式,离子源温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$,四极杆温度为 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$,接口温度 $130\text{ }^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟 3 min。顶空条件:定量环温度、传输线温度和孵育温度分别是 130、130 和 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2021 对数据进行初步整理,采用 SPSS 软件的独立样本 *T* 检验对青贮发酵特性指标进行差异比较分析($P<0.05$)。采用 R 软件的相关性分析探究气味组成指标和发酵品质与优势细菌属的相关关系。

2 结果与分析

2.1 柑桔劣果混合发酵饲料的发酵特性

相比于 CK 组,LPA 组有更低的青贮 pH、乙酸、丙酸和氨态氮含量($P<0.05$),更高的乳酸和干物质含量($P<0.05$),两个组中未检测出丁酸(表 1)。粗蛋白含量与 CK 组差异不显著。

表 1 添加乳酸菌对柑桔劣果混合发酵饲料发酵特性的影响

Table 1 Effects of adding lactic acid bacteria on fermentation characteristics of mixed fermented feed of citrus bad fruit ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

处理 Treatment	青贮 pH Silage pH	乳酸 Lactic acid	乙酸 Acetic acid	丙酸 Propionic acid	丁酸 Butyrate acid	氨态氮 Ammonia nitrogen	干物质 Dry matter	粗蛋白 Crude protein
CK	4.23a	54.18b	27.54a	3.22a	ND	50.33a	301.73b	68.07
LPA	3.90b	63.10a	19.81b	1.09b	ND	37.97b	322.28a	66.81
<i>P</i> 值 <i>P</i> value	0.008	0.012	0.030	0.005	—	0.018	0.005	0.116

CK: 空白对照 Blank control; LPA: 植物乳杆菌处理组 *L. plantarum* additive group; ND: 未检测出 No detected; 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) The different small letters mean the significant differences at $P<0.05$.

2.2 柑桔劣果混合发酵饲料的细菌菌群结构

在属水平上,单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、泛菌属(*Pantoea*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)是 ML 组中的优势属(图 1),乳杆菌属(*Lactobacillus*)是 CK 组中最丰富的菌属,其次是克雷伯菌属(*Klebsiella*)和鞘氨醇单胞菌属。与 CK 组相比,LPA 组的乳杆菌属相对丰度更高,克雷伯菌属和鞘氨醇单胞菌属相对丰度更低。

2.3 柑桔劣果混合发酵饲料的细菌菌群功能预测

对于一级注释,代谢类是最丰富的,相比于ML组,CK组和LPA组增加了代谢类基因的相对丰度(表2)。对于二级注释,碳水化合物代谢和氨基酸代谢比较丰富,相比于CK组,LPA组增加了碳水化合物代谢类基因的相对丰度,降低了氨基酸代谢和抗生素抗性基因的相对丰度。对于三级注释,代谢路径类是最丰富的,相比于CK组,LPA组增加了果糖和甘露糖代谢、淀粉和蔗糖代谢类基因的相对丰度,降低了维生素B6代谢和抗生素的生物合成基因的相对丰度。

2.4 柑桔劣果混合发酵饲料的挥发性化合物组成

9个样本中挥发性化合物的主成分累积贡献率分别为68.09%和26.92%,ML组、CK组和LPA组被分离成3部分,其中ML组中的3个样本分别距离CK组和LPA组的样本较远(图2a)。萜烯类化合物在ML组中占比最大,其次是醚类。萜烯类、酸类和醇类是CK组中主要的挥发性化合物,相比于CK组,LPA组有更高的萜烯类含量,更低的酸类和醇类化合物含量(图2b)。D-柠檬烯(86.43%)是ML组中最丰富的挥发性化合物,其次是二甲醚(2.93%),发酵结束后,D-柠檬烯、乙酸和乙醇是CK组的主要挥发性化合物。相比于CK组,LPA组有更高的D-柠檬烯和β-月桂烯含量,更低的乙酸、乙醇和二甲醚含量(图2c)。

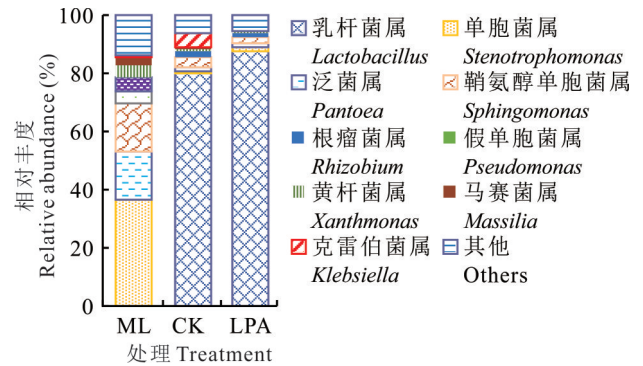


图1 添加植物乳杆菌对青贮饲料中细菌菌群结构的影响
Fig. 1 Effect of *L. plantarum* on the structure of bacterial flora in silage

表2 基于KEGG数据库的细菌菌群功能预测

Table 2 Prediction of bacterial flora function based on KEGG database (%)

功能注释 Function annotation	注释分类 Annotation classification	基因丰度 Gene abundance		
		ML	CK	LPA
一级注释 First level annotation	代谢类 Metabolic class	70.85	74.61	75.55
	细胞转化类 Cell transforming class	8.28	4.70	4.72
	基因信息处理类 Genetic information processing class	3.34	4.41	4.33
二级注释 Second level annotation	碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism	9.06	12.68	13.73
	辅助因子和维生素的代谢 Cofactors and vitamin metabolism	3.30	2.93	2.87
	核苷酸代谢 Nucleotide metabolism	1.89	2.55	2.51
	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	7.23	6.40	6.28
	能量代谢 Energetic metabolism	3.28	3.23	3.26
	抗生素抗性 Antibiotics resistance	1.43	1.12	0.74
三级注释 Third level annotation	碳代谢 Carbon metabolism	2.30	2.44	2.46
	代谢路径 Metabolic pathway	13.14	14.04	13.96
	次生代谢物生物合成 Biosynthesis of secondary metabolites	5.31	6.17	6.17
	果糖和甘露糖代谢 Fructose and mannose metabolism	0.53	1.02	1.27
	淀粉和蔗糖代谢 Starch and sucrose metabolism	0.56	2.12	2.24
	脂肪酸代谢 Fatty acid metabolism	1.15	0.95	0.97
	丙酮酸代谢 Pyruvate metabolism	1.07	1.62	1.63
	维生素B6代谢 Vitamin B6 metabolism	0.19	0.15	0.08
	氨基酸的生物合成 Biosynthesis of amino acids	2.06	2.85	2.76
	组氨酸代谢 Histidine metabolism	0.40	0.33	0.33
	磷酸转移酶系统 Phosphotransferase system	0.46	2.73	2.89
	抗生素的生物合成 Biosynthesis of antibiotics	3.33	2.06	1.64

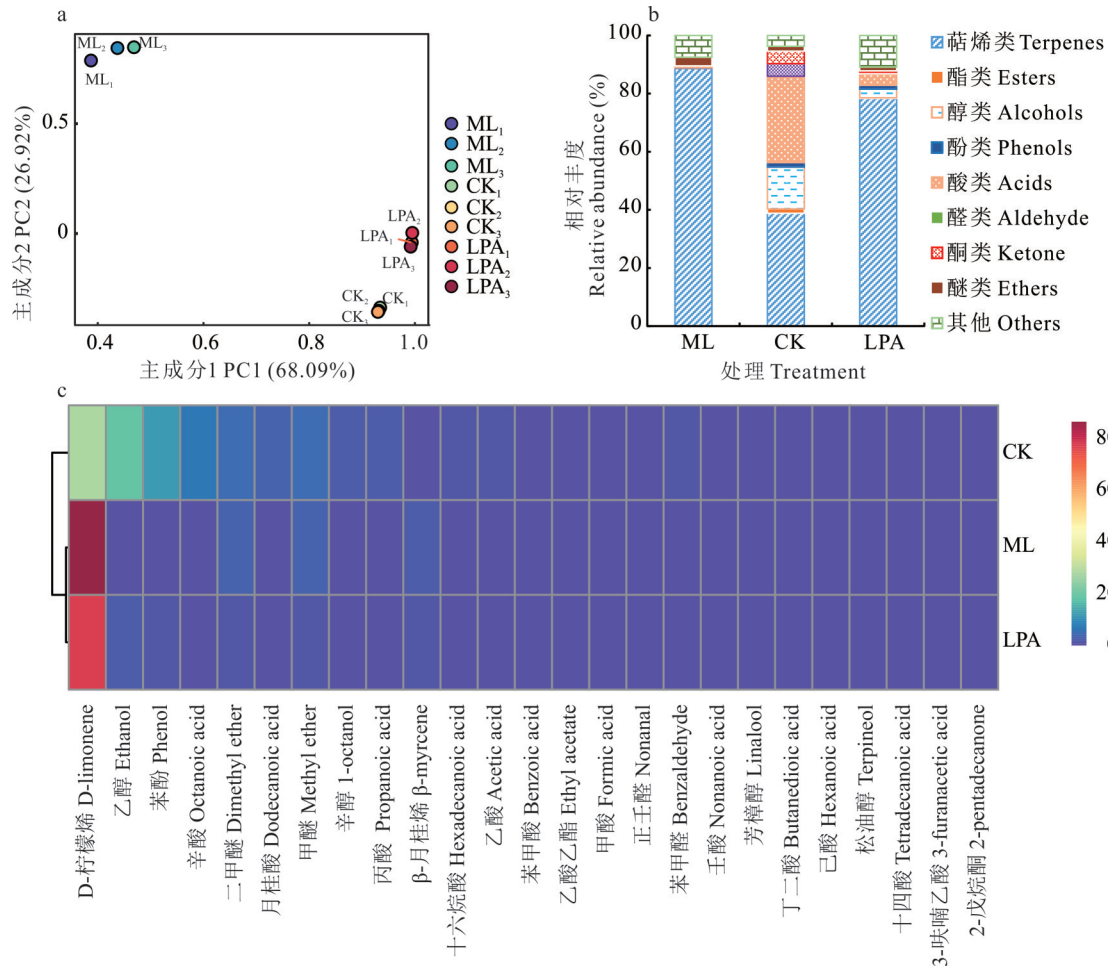


图 2 发酵饲料中主要挥发性化合物的主成分分析 (a)、种类 (b) 和组成 (c)

Fig.2 Principal component analysis (a), species (b) and composition (c) of main volatile compounds in fermented feed

2.5 发酵指标和挥发性化合物组成与细菌菌群的相关性分析

单胞菌属和假单胞菌属的相对丰度与月桂酸、2-戊烷酮、苯甲醛、辛酸、丙酸、十六烷酸的相对含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$, 图 3), 与干物质含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。乳杆菌属的相对丰度与乳酸含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 与青贮 pH 呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。克雷伯菌属的相对丰度与二甲醚、乙酸、乙醇和苯甲醛的相对含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

3 讨论

青贮是依赖乳酸菌发酵 WSC 成有机酸, 使 pH 下降, 实现饲料营养价值的保存, 其中青贮 pH 和氨态氮含量是评价发酵品质的重要指标。本研究中, 与 CK 组相比, LPA 组显著降低了青贮 pH 和氨态氮含量, 而且乳杆菌属的相对丰度与乳酸含量呈显著正相关, 与青贮 pH 呈显著负相关, 可能是因为接种植物乳杆菌增加了乳杆菌属的相对丰度, 提高了乳酸转化效率, 降低了青贮 pH, 保留了更多的干物质, 有效保存了残次柑桔饲料的营养价值。之前的研究也表明接种乳酸菌能够有效改善青贮饲料发酵品质, 保留营养价值^[16-17]。单胞菌属和鞘氨醇单胞菌属是青贮牧草原料中常见的不良优势属, 厌氧发酵结束后其相对丰度下降^[18-19], 本研究结果与其一致, 而且相比于 CK 组, LPA 组单胞菌属和鞘氨醇单胞菌属的相对丰度更低, 可能归因于酸性环境抑制了它们的生长^[19]。

在青贮发酵中代谢类是一级注释中最丰富的类型, 与其密切相关的是碳水化合物、氨基酸、能量、辅助因子和维生素代谢^[20]。本研究中, 与 CK 组相比, LPA 组有更高的淀粉和蔗糖代谢、果糖和甘露糖代谢类基因的相对丰度, 可能是因为添加植物乳杆菌有力地促进了蔗糖、果糖和甘露糖等碳水化合物转化为乳酸等有机酸, 促进了乳

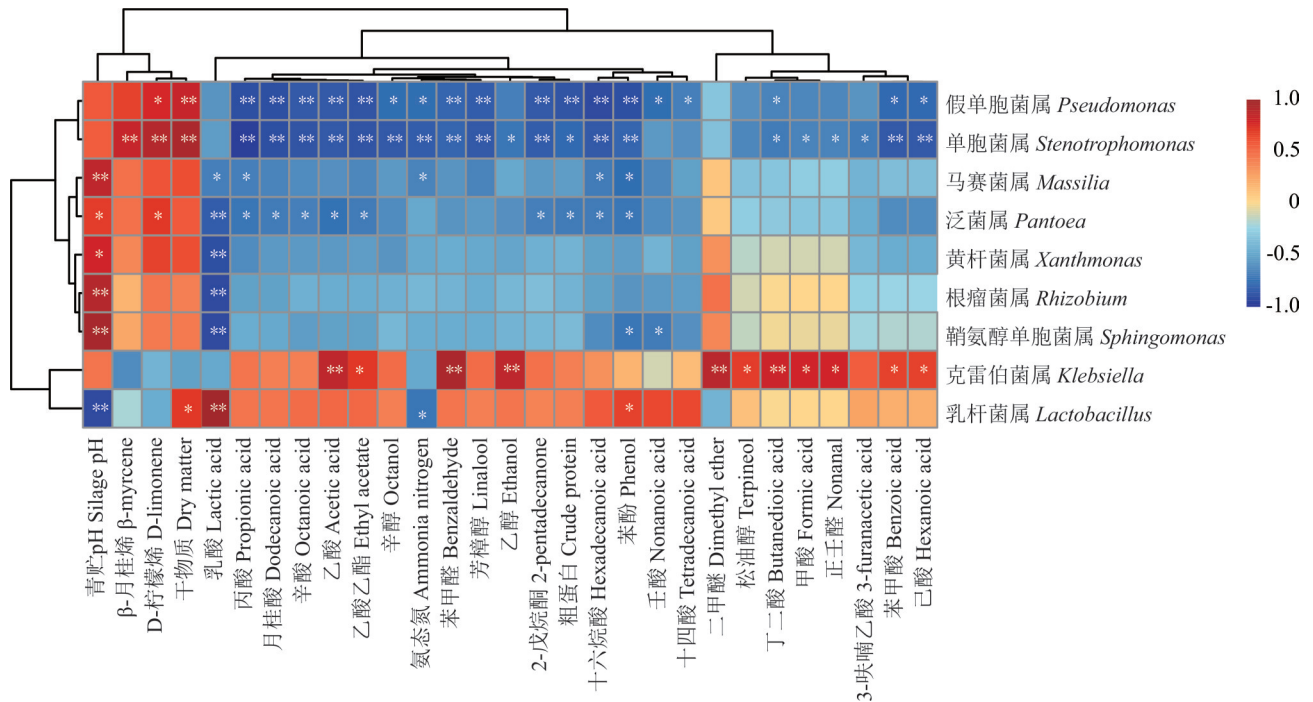


图3 发酵特性指标和挥发性化合物与优势细菌菌群的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of fermentation characteristics, volatile compounds and bacterial flora

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

酸的积累。酸性环境有助于抑制青贮中不良微生物活动,从而消除部分潜在的抗生素抗性基因宿主和耐药致病菌^[21]。本研究中,LPA组抗生素抗性和抗生素生物合成类型基因的相对丰度最低,其次是CK组,说明添加植物乳杆菌创造的低pH环境有利于抑制潜在的抗生素抗性基因宿主繁殖。

酸类和醇类是青贮发酵过程中最重要和最丰富的微生物发酵产物,尤其是乙酸、丙酸和乙醇等,这些化合物的形成和干物质损失密切相关。肠杆菌科细菌属于兼性厌氧微生物,能够分解利用蛋白质产生氨、胺和二氧化碳等,与乳酸菌竞争有限的WSC产生乙酸、乙醇和二氧化碳等^[22]。本研究中,与LPA组相比,CK组的酸类和醇类化合物含量较高,包括乙酸(刺鼻酸味)、丁二酸(刺鼻酸味)、苯甲酸(苦杏仁味)、乙醇和松油醇等,而且乙酸、丁二酸、苯甲酸、乙醇和松油醇的相对含量与克雷伯菌属的相对丰度成正比。醇类和羧酸类化合物能够在酸性条件下通过酯化反应形成酯类,乙酸乙酯是青贮中常见的酯类化合物^[23]。本研究中,与LPA组相比,CK组有较高的乙酸乙酯含量,这可能是因为CK组中较高的乙醇和乙酸含量为酯化反应提供充足的反应底物,从而促进乙酸乙酯的生成。苯丙氨酸在苯丙氨酸脱氨酶作用下形成苯甲醛和氨,本研究中,LPA组降低了克雷伯菌属的相对丰度和苯甲醛含量,而且克雷伯菌属的相对丰度与苯甲醛含量呈极显著正相关,说明克雷伯菌属是潜在的产生苯甲醛的功能微生物。Li等^[24]发现肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)在纯培养过程中会产生苯甲醛挥发物。多数萜烯类化合物具有较强香气,它是植物的次生代谢物,D-柠檬烯(橙皮香气)和β-月桂烯广泛存在于柑桔皮中,易氧化,是天然的功能单萜烯和植物精油的重要成分,具有抑菌作用,常被用作食品添加剂和香水工业中的香料^[25]。本研究中,萜烯类是3个组中最丰富的香气物质,D-柠檬烯是3个组中最丰富的萜烯类化合物,青贮发酵过程降低了D-柠檬烯和β-月桂烯的相对含量,且与CK组相比,LPA组有更高的D-柠檬烯和β-月桂烯相对含量,说明添加植物乳杆菌有利于保留柑桔混合饲料中的D-柠檬烯和β-月桂烯,增加饲料果香味。

4 结论

添加植物乳杆菌显著提高了乳酸含量,降低了青贮pH、乙酸和氨态氮含量以及克雷伯菌属的相对丰度,改善了柑桔混合发酵饲料的青贮品质,碳水化合物代谢是最丰富的代谢类型,添加植物乳杆菌提高了果糖和甘露糖代

谢、淀粉和蔗糖代谢类基因的相对丰度。D-柠檬烯是原料和青贮中最丰富的萜烯类化合物,添加植物乳杆菌可减少挥发性有机酸和醇类化合物生成,但增加了乳酸含量和保留了更多的D-柠檬烯。

参考文献 References:

- [1] Che J X, Guo H Y, Chen K Q, *et al.* Research progress of citrus waste utilization. *Food and Fermentation Industry*, 2022, 48(20): 300—306.
车金鑫,郭虹雨,陈珂琴,等.柑橘废弃物利用的研究进展.食品与发酵工业,2022,48(20):300—306.
- [2] Scherer R, Gerlach K, Südekum K H. Decision-making of goats when exposed to choice feeding: triggered by taste or smell? *Applied Animal Behavior Science*, 2019, 210(3): 46—51.
- [3] Chen Y G, Zhang Y Q, Zheng N, *et al.* Research progress on odor characteristics and influencing factors of silage. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(8): 4835—4846.
陈银阁,张元庆,郑楠,等.青贮饲料气味特征及其影响因素研究进展.动物营养学报,2024,36(8):4835—4846.
- [4] Wang Y M, Yao Z L, Lin M, *et al.* Summary of research on citrus fruit aroma substances. *Zhejiang Citrus*, 2023, 40(4): 11—17.
王玥,姚周麟,林媚,等.柑橘果实香味物质研究概述.浙江柑橘,2023,40(4):11—17.
- [5] Zhou Y M, Liu W, Liu Y, *et al.* The promotion and inhibition of proteolysis in silages during ensiling of citrus waste. *Animal Feed Science and Technology*, 2024, 316(5): 116051.
- [6] Lee Y H, Ahmadi F, Kim Y I, *et al.* Co-ensiling garlic stalk with citrus pulp improves the fermentation quality and feed-nutritional value. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2020, 33(3): 436—445.
- [7] Feng C C, Chen C, Feng F, *et al.* Dietary citrus flavonoids improved growth performance and intestinal microbiota of weaned piglets via immune function mediated by TLR2/NF- κ B signaling pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(30): 16761—16776.
- [8] Belloumi D, Calvet S, Roca M I, *et al.* Effect of providing citrus pulp-integrated diet on fecal microbiota and serum and fecal metabolome shifts in crossbred pigs. *Scientific Reports*, 2023, 13(5): 17596.
- [9] Zhou X H, Zhang H D, Li S Y, *et al.* The effects of fermented feedstuff derived from *Citri Sarcodactylis Fructus* by-products on growth performance, intestinal digestive enzyme activity, nutrient utilization, meat quality, gut microbiota, and metabolites of broiler chicken. *Frontiers in Veterinary Science*, 2023, 10(5): 1231996.
- [10] Yi L, Zhang Z, Li Z, *et al.* Effects of citrus pulp on the composition and diversity of broiler cecal microbes. *Poultry Science*, 2023, 102(3): 102454.
- [11] Ding Q, Yin Z Y, Zheng X X, *et al.* Silage experiment of citrus peel residue and its application in feeding small-tailed Han sheep. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2020, 35(2): 262—268.
丁倩,殷钟意,郑旭煦,等.柑橘皮渣青贮试验及其在小尾寒羊饲喂中的应用研究.云南农业大学学报,2020,35(2):262—268.
- [12] Williams S R O, Chaves A V, Deighton M H, *et al.* Influence of feeding supplements of almond hulls and ensiled citrus pulp on the milk production, milk composition, and methane emissions of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(3): 2072—2083.
- [13] Dai L, Yang L, Li Y, *et al.* Origin differentiation based on volatile constituents of genuine medicinal materials *Quisqualis indica* L. via HS—GC—MS, response surface methodology, and chemometrics. *Phytochemical Analysis*, 2024, 35(6): 567—578.
- [14] Han J, Fu C, Wan Y, *et al.* Characterizing the volatile profile and flavor of four kinds of hotpot seasonings in China using HS—GC—MS, HS—GC—IMS, and sensory evaluation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2023, 125(8): 2200197.
- [15] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 1980, 63(1): 64—75.
- [16] Tahir M, Li J, Wang T, *et al.* Response of fermentation quality and microbial community of oat silage to homofermentative lactic acid bacteria inoculation. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13(2): 1091394.
- [17] Bao J, Ge G, Wang Z, *et al.* Effect of isolated lactic acid bacteria on the quality and bacterial diversity of native grass silage. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14(6): 1160369.
- [18] Shi J, Zhang G, Ke W, *et al.* Effect of endogenous sodium and potassium ions in plants on the quality of alfalfa silage and bacterial community stability during fermentation. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14(5): 1295114.

- [19] Mu L, Wang Q, Wang Y, *et al.* Effects of cellulase and xylanase on fermentative profile, bacterial diversity, and *in vitro* degradation of mixed silage of agro-residue and alfalfa. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2023, 40(10): 1–16.
- [20] Xu D, Wang N, Rinne M, *et al.* The bacterial community and metabolome dynamics and their interactions modulate fermentation process of whole crop corn silage prepared with or without inoculants. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(2): 561–576.
- [21] Li R R, Hu M, Wei R. Effect of sucrose addition on antibiotic resistance genes in high moisture alfalfa silage. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, 46(7): 144–150.
李荣荣, 胡明, 魏睿. 蔗糖添加剂对高水分苜蓿青贮中抗生素抗性基因的影响. *中国草地学报*, 2024, 46(7): 144–150.
- [22] Li R R, Hu M, Wei R, *et al.* Effects of sucrose addition on functional genes and microbial communities in the carbon cycle of alfalfa silage. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, 46(6): 144–150.
李荣荣, 胡明, 魏睿, 等. 添加蔗糖对苜蓿青贮碳循环中功能基因及菌群的影响. *中国草地学报*, 2024, 46(6): 144–150.
- [23] Weiss K, Kroschewski B, Auerbach H. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(10): 8053–8069.
- [24] Li F X, Zheng Y W, Zhao C W, *et al.* GC-IMS facilitates identification of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in simulated blood cultures. *AMB Express*, 2024, 40(14): 1–21.
- [25] Santiago B, Moreira M T, Feijoo G, *et al.* Identification of environmental aspects of citrus waste valorization into D-limonene from a biorefinery approach. *Biomass and Bioenergy*, 2020, 143(5): 105844.