

DOI:10.11686/cyxb2025315

http://cyxb.magtech.com.cn

林平冬, 缪伏荣, 刘景, 等. 不同添加剂对茶渣青贮品质和微生物多样性的影响. 草业学报, 2026, 35(8): 123—133.

LIN Ping-dong, MIAO Fu-rong, LIU Jing, *et al.* Effects of additives on the quality and microbial diversity of tea residue silage. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(8): 123—133.

不同添加剂对茶渣青贮品质和微生物多样性的影响

林平冬¹, 缪伏荣¹, 刘景¹, 岳稳¹, 陈鑫珠^{1,2*}

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建省畜禽遗传育种重点实验室, 福建 福州 350013; 2. 福建傲农生物科技集团股份有限公司, 福建省生猪营养与饲料重点实验室, 福建 漳州 363000)

摘要:为探究添加剂对茶渣青贮品质及微生物多样性的影响,本试验以茶渣作为基础原料,设置了6个添加剂处理组:乳酸菌单独处理组(T₁组)、红糖单独处理组(T₂组)、纤维素酶单独处理组(T₃组)、乳酸菌+红糖组合处理组(T₄组)、乳酸菌+纤维素酶组合处理组(T₅组)、乳酸菌+红糖+纤维素酶组合处理组(T₆组),以及无添加剂对照组(CK组)。每个处理组均设3个独立重复,青贮时间为30 d。青贮完成后,取样进行营养成分、发酵品质、抗营养因子等指标检测及微生物多样性分析。结果表明:1)添加剂处理显著提高了茶渣青贮的乳酸、可溶性蛋白、可溶性糖含量和植酸酶活性($P<0.05$),同时显著降低了pH值、丙酸和植酸含量($P<0.05$);与CK组相比,T₄和T₅组的干物质和总糖含量均显著增加($P<0.05$),T₁、T₂及T₅组的酸性洗涤纤维含量显著增加($P<0.05$),T₆组的总酚含量显著降低($P<0.05$),T₃组的单宁酶活性显著提高($P<0.05$),T₂、T₄及T₆组的挥发性脂肪酸含量均显著增加($P<0.05$)。2)在微生物群落分析中,各组在门水平上的优势菌群为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和放线菌门;在属水平上,优势菌群包括乳杆菌属(相对丰度20.0%~81.9%)、醋杆菌属(0.4%~24.7%)、双歧杆菌属(1.1%~16.7%)和芽孢杆菌属(7.0%~11.3%);与CK组相比,T₁、T₄及T₅组的韦荣氏球菌属相对丰度明显降低,而T₄组的Alpha多样性指数表现出显著差异($P<0.05$)。综上所述,添加剂处理能够明显改善茶渣青贮品质,有效调整青贮发酵微生物群落结构,且多种添加剂组合处理效果显著优于单个添加剂处理,为茶渣资源化利用提供了实用参考。

关键词:茶渣;添加剂;青贮品质;微生物多样性

Effects of additives on the quality and microbial diversity of tea residue silage

LIN Ping-dong¹, MIAO Fu-rong¹, LIU Jing¹, YUE Wen¹, CHEN Xin-zhu^{1,2*}

1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China; 2. Fujian Aonong Biotechnology Group Co., Ltd., Fujian Key Laboratory of Nutrition and Feed, Zhangzhou 363000, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of additives on the quality of tea (*Camellia sinensis*) residue silage and its associated microbial diversity. Tea residue was used as the primary raw material, and six additive treatment groups were established: a lactic acid bacteria (LAB)-only treatment group (T₁), a brown sugar-only treatment group (T₂), a cellulase-only treatment group (T₃), a combined treatment group of LAB and brown sugar (T₄), a combined treatment group of LAB and cellulase (T₅), and a combined treatment group of LAB, brown sugar, and cellulase (T₆). The experiment also included a control group with no additives (CK). Each treatment group was replicated three times independently, and ensiled for 30 days. Upon completion of the silage

收稿日期:2025-08-05;改回日期:2025-09-19

基金项目:国家自然科学基金(32302791),福建省自然科学基金(2024J01331)和福建省竞争性公益类项目(2023R1075)资助。

作者简介:林平冬(1990—),女,福建莆田人,博士。E-mail: lpd7911@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: 010622051@163.com

process, silages were sampled to analyze their nutritional composition, fermentation quality, anti-nutritional factors, and microbial diversity. The main results were: 1) Additive treatments significantly increased the contents of lactic acid, soluble protein, and soluble sugar, as well as phytase activity in the tea residue silage ($P<0.05$), while significantly reducing pH, propionic acid content, and phytic acid content ($P<0.05$). Compared with the CK group, the T_4 and T_5 groups exhibited significantly higher dry matter and total sugar contents ($P<0.05$); and the T_1 , T_2 , and T_5 groups exhibited significantly higher acid detergent fiber content ($P<0.05$). The total phenol content in the T_6 group was significantly decreased ($P<0.05$) and tannase activity was significantly increased in the T_3 group ($P<0.05$) compared with the CK group. Additionally, the volatile fatty acid content was significantly higher in the T_2 , T_4 , and T_6 groups than in the CK group ($P<0.05$). 2) In the microbial community analysis, the dominant phyla across all groups were Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, and Actinobacteria. At the genus level, the dominant bacteria included *Lactobacillus* (relative abundance range: 20.0%–81.9%), *Acetobacter* (0.4%–24.7%), *Bifidobacterium* (1.1%–16.7%), and *Bacillus* (7.0%–11.3%). The relative abundance of *Veillonella* was lower in the T_1 , T_4 , and T_5 groups than in the CK group. Additionally, the Alpha diversity index of the T_4 group was significantly different from that of the other groups ($P<0.05$). In summary, the use of additives significantly enhanced the quality of tea residue silage and effectively modulate microbial community structure during silage fermentation. Moreover, the combined use of multiple additives demonstrated superior performance compared with single additive treatments. These findings offer a practical reference for the resource-efficient utilization of tea residue.

Key words: tea residue; additives; silage quality; microbial diversity

茶是世界三大饮料之一,我国是世界上主要的茶叶(*Camellia sinensis*)生产和消费国。随着现制茶饮行业的不断发展,茶叶年消费量逐渐增加,茶渣作为茶叶加工过程中的主要废弃物,其数量日益增多。这些茶渣若不及时处理,不仅会造成资源浪费,还可能对环境产生负面影响。研究显示,干茶渣中含有蛋白质、氨基酸、矿物质等营养成分以及茶多酚、皂苷、生物碱、多糖等生物活性成分^[1-4],这些成分使其具有潜在的饲料价值^[5]。

茶渣可以作为饲料添加剂,也可以作为饲料原料应用于畜禽养殖。为了提高茶渣的利用率,通常需要对茶渣进行发酵处理。青贮发酵是一种有效的生物转化技术,可以将茶渣转化为优质的饲料。这不仅可以解决茶渣处理问题,还能为畜禽提供丰富的营养来源,实现茶渣的资源化利用。由于茶渣中单宁等抗营养因子的含量较高,高浓度单宁可能会抑制发酵微生物的活性,导致青贮饲料乳酸及乙酸减少,降低青贮饲料的缓冲能力,从而抑制青贮饲料正常发酵^[6-7];此外,茶渣物理结构致密,在青贮过程中易形成厌氧环境不佳的区域,为有害微生物的繁殖创造了条件,增加了青贮失败的风险。为优化茶渣青贮,提高发酵效率,适当使用添加剂是有必要的^[8]。如朱飞等^[9]研究表明,添加不同含量的麦(*Triticum aestivum*)麸和乳酸菌制剂可以明显提高茶渣的适口性、青贮品质和养分含量。陈奕业等^[10]研究显示,采用尿素、纤维素酶、蔗糖等添加剂对凉茶渣进行厌氧发酵可明显增加凉茶渣中的粗蛋白和粗脂肪含量,降低中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量,改善凉茶渣的发酵品质。

青贮料中的微生物是青贮过程中至关重要的因素,它们不仅参与了青贮饲料的发酵过程,还决定了青贮饲料的最终品质。在青贮发酵过程中,添加剂的种类及其施用量是影响微生物活动的关键因素,通过合理调控这些因素,可以有效控制青贮物料中的微生物群落结构,优化发酵过程,进而提升青贮物料的品质和营养价值^[11-12]。例如,在蚕豆(*Vicia faba*)秸秆青贮过程中,通过采用蔗糖、食盐、乳酸菌、柠檬酸、维生素等添加剂进行单独或联合处理,可以显著改善蚕豆秸秆青贮物料的感官品质和青贮效果,调整青贮发酵微生物的群落结构^[13]。王昊然等^[14]的研究表明,不同的乳酸菌剂不仅对燕麦(*Avena sativa*)青贮的营养成分和发酵品质有显著影响,还改变了燕麦青贮物料的微生物群落结构。由此可见,添加剂的恰当应用对改善青贮料的品质、提升青贮饲料的价值具有重要的意义。

由于茶渣的化学成分特性以及发酵过程中微生物活动的复杂性,不同添加剂对茶渣青贮过程及其结果的影响可能产生差异。然而,目前针对添加剂对茶渣青贮影响的研究尚显不足。本试验开展于 2023 年,旨在探究不同添加剂对茶渣青贮品质及微生物多样性的影响,以期筛选出最优添加剂组合,帮助提升茶渣青贮料的品质与利用率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用茶渣原料来自福建仙洋洋食品科技有限公司,其主要营养成分见表 1。

表 1 茶渣原料的主要营养成分

Table 1 Main nutritional components of tea residue raw materials

项目 Item	含量 Content (%)	项目 Item	含量 Content (%)	项目 Item	含量 Content
氨基酸 Amino acid	13.36	干物质 Dry matter	97.40	钙 Ca (%)	0.53
粗蛋白质 Crude protein	16.64	粗灰分 Crude ash	3.80	铅 Pb (mg·kg ⁻¹)	1.64
粗纤维 Crude fiber	36.40	总磷 Total phosphorus	0.14	砷 As (mg·kg ⁻¹)	0.07
粗脂肪 Crude fat	2.90	氯化物 Chloride	0.61	汞 Hg (mg·kg ⁻¹)	未检测到 No detected

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB),由福建省农业科学院畜牧兽医研究所动物营养研究中心实验室从花生(*Arachis hypogaea*)秸秆青贮料中分离所得,经中国工业微生物菌种保存中心鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),并命名为 *Lactobacillus plantarum* 37 L1。将该菌株接种于 MRS 肉汤培养基(蛋白胨 10.0 g、牛肉膏 10.0 g、酵母提取物 5.0 g、葡萄糖 20.0 g、吐温 1.0 mL、硫酸镁 0.1 g、柠檬酸铵 2.0 g、乙酸钠 5.0 g、硫酸锰 0.05 g、磷酸氢二钾 2.0 g),添加时为接种 18 h 的新鲜菌液,划板活菌数为 10¹⁰ CFU·mL⁻¹ 以上。红糖(粉末状)购自北京科奥科技有限公司。纤维素酶,粉末状,酶活力≥5000 U·g⁻¹,购自广东溢多利生物科技股份有限公司。

1.2 试验设计

试验设 6 个处理组,分别为乳酸菌单独处理(T₁)组、红糖单独处理(T₂)组、纤维素酶单独处理(T₃)组、乳酸菌+红糖组合处理(T₄)组、乳酸菌+纤维素酶组合处理(T₅)组、乳酸菌+红糖+纤维素酶组合处理(T₆)组,以及无添加剂对照(CK)组,每组 3 个重复。添加剂的添加量以茶渣鲜重计算:各组 LAB 的添加量为活菌数 5×10⁸ CFU·g⁻¹,红糖的添加量为 1%,纤维素酶的添加量为 0.5%。

1.3 青贮料调制

称取 7 份茶渣,每份 1.5 kg,按照试验分组,使用喷雾瓶将蒸馏水和各添加剂按茶渣鲜重计算用量均匀喷洒至每份原料中,充分混匀后称重装入聚乙烯青贮袋(30 cm×20 cm),每袋 0.5 kg,每组 3 个重复,抽真空密封后,置于室温下贮存发酵 30 d 后开袋取样(一式 3 份)分析。

1.4 指标测定

1.4.1 常规营养成分含量测定 青贮料开封后充分混匀样品,从每袋中精确称取 150 g 试样置于 105 ℃烘箱中进行杀青处理 30 min,随后转入 65 ℃烘箱持续烘干 48 h 至恒重,测定其干物质(dry matter, DM)含量^[15]。将干燥样品经粉碎机精细粉碎后过 0.425 mm 孔径标准筛,所得粉末状样品密封保存于阴凉干燥环境中备用。参考《饲料分析及饲料质量检测技术》^[16]测定中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)、酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF)及半纤维素(hemicellulose, HC)含量;氨基酸含量测定参照 GB/T 18246—2019 标准。

1.4.2 发酵品质检测 精确称取 20.00 g 样品于无菌锥形瓶中,按 1:4 料液比加入 80 mL 预冷蒸馏水,于 4 ℃冷藏箱(BPR-5V298,济南鑫贝西生物技术有限公司)中低温浸提 24 h。经双层滤纸过滤结合 12000 r·min⁻¹ 高速离心处理,收集澄清上清液作为待测液。使用 PHS-3C 型 pH 计(杭州奥立龙仪器有限公司)精密测定浸提液酸碱度;使用 FOSS Kjeltac™ 8400 全自动凯氏定氮仪(丹麦福斯)测定氨态氮(ammonia nitrogen, AN)含量;利用依利特 EClassical 3200 高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司)同步检测乳酸(lactic acid, LA)、乙酸(acetic

acid, AA)、丙酸(propionic acid, PA)、丁酸(butyric acid, BA)的含量;利用气相色谱仪(美国安捷伦)检测挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFA)含量。

1.4.3 水解酶活性检测 称取0.1 g样品,采用酶活性测定试剂盒(微量法100管/48样,苏州科铭生物技术有限公司)分别测定样品中的纤维素酶(cellulase, CLa)、单宁酶(tannase, TANA)和植酸酶(phytase, PAP)活性。测定步骤严格参照试剂盒说明书进行。

1.4.4 其他化合物含量检测 称取0.1 g样品,采用BCA法蛋白含量测定试剂盒测定可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量,采用植物总糖(total sugar, TS)、可溶性糖(soluble sugar, SS)、单宁(tannins, TAN)、总酚(total phenol, TP)及植酸(phytic acid, IP6)含量试剂盒分别测定样品的TS、SS、TAN、TP及IP6含量。上述检测试剂盒(微量法100管/96样)均购自苏州科铭生物技术有限公司,测定步骤严格参照试剂盒说明书进行。

1.4.5 微生物多样性检测 开启青贮样品包装后,首先对袋内样本实施充分混匀。准确称取0.1 g青贮样品进行基因组DNA提取与检测;以稀释后的基因组DNA为模板,使用带Barcode的特异引物,分别针对16S V4区引物(515F和806R)、18S V4区引物(528F和706R)及ITS1区引物(ITS5-1737F和ITS2-2043R)进行PCR;对PCR产物进行混样和纯化;使用Thermofisher公司的Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒进行文库的构建,构建好的文库经过Qubit定量和文库检测合格后,使用Thermofisher的Ion S5TMXL进行上机测序。

1.5 数据统计分析

利用Excel整理原始数据;采用SPSS 17.0软件进行单因素方差分析($P < 0.05$ 为差异显著),若差异显著则用Duncan法进行多重比较。微生物高通量测序数据处理:进行操作性分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类 and 物种注释,均一化样品数据;使用Qiime软件(Version 1.9.1)计算Chao1、ACE指数;使用R软件(Version 2.15.3)做组间Tukey、Wilcoxon检验并绘图。

2 结果与分析

2.1 不同添加剂对茶渣青贮营养成分的影响

与CK组相比, T_4 、 T_5 组的DM含量显著升高($P < 0.05$,表2),各处理组的SP含量均显著提高($P < 0.05$), T_4 、 T_5 、 T_6 组的SS和TS含量显著升高($P < 0.05$), T_1 、 T_2 及 T_5 组的NDF和ADF含量均显著升高($P < 0.05$), T_1 组的HC含量显著降低($P < 0.05$);各添加剂处理组的氨基酸总量均较CK组无显著差异($P > 0.05$)。该结果表明,乳酸菌与红糖或纤维素酶联合处理能够提高茶渣青贮常规营养成分的含量,但可能增加纤维含量。

2.2 不同添加剂对茶渣青贮发酵品质的影响

T_2 、 T_4 、 T_5 及 T_6 组的pH均显著低于CK组($P < 0.05$,表3),LA含量和LA/VFA均显著高于CK组($P < 0.05$),

表2 不同添加剂对茶渣青贮营养成分的影响

Table 2 Effects of various additive on nutritional composition of tea residue silage

组别 Group	干物质 DM (%)	可溶性蛋白 SP (mg·g ⁻¹)	可溶性糖 SS (mg·g ⁻¹)	总糖 TS (mg·g ⁻¹)	中性洗涤纤维 NDF (%DM)	酸性洗涤纤维 ADF (%DM)	半纤维素 HC (%DM)	氨基酸总量 TAAC (%)
CK	21.20±0.10b	29.60±1.57b	3.94±0.24c	25.05±1.62c	51.32±1.45d	29.33±1.58c	22.00±0.13a	20.92±1.30ab
T_1	21.27±0.21b	35.03±0.56a	4.56±0.20c	26.81±2.06bc	55.87±2.04abc	36.19±1.76ab	19.68±0.41b	18.17±3.96b
T_2	21.70±0.40bc	35.38±0.74a	5.32±0.29b	27.60±1.40bc	57.66±1.66a	36.99±1.28a	21.22±0.83ab	22.17±0.69ab
T_3	21.50±0.36bc	34.88±2.67a	4.46±0.43c	26.07±0.74bc	53.46±1.33bcd	32.24±1.81bc	20.66±1.44ab	19.42±3.70ab
T_4	22.25±0.35a	36.48±0.84a	6.03±1.02ab	32.42±2.50a	53.44±0.27bcd	32.57±1.46bc	20.88±1.20ab	22.78±0.24a
T_5	22.30±0.10a	34.70±0.60a	5.56±0.43b	34.11±2.16a	56.67±3.10ab	35.57±3.96ab	21.10±0.92ab	21.77±0.37ab
T_6	21.97±0.2ab	34.42±1.74a	6.67±0.18a	28.92±1.73b	52.30±0.46cd	32.24±1.25bc	20.06±1.07ab	18.07±0.89b

DM: Dry matter; SP: Soluble protein; SS: Soluble sugar; TS: Total sugar; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; HC: Hemicellulose; TAAC: Total amino acids content; 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同 Different lowercase letters in the same column mean significant difference ($P < 0.05$), the same below.

0.05),其中T₂、T₄及T₆组的VFA含量显著高于CK组($P<0.05$);与CK组相比,PA含量在T₁和T₃组中显著升高($P<0.05$),在其余各处理组则显著降低($P<0.05$),同时T₂~T₆组的BA含量均显著降低($P<0.05$);各组间的AN和AA含量均无显著差异($P>0.05$)。该结果表明,红糖单独处理及其与乳酸菌、纤维素酶联合处理可明显提高茶渣青贮的发酵品质。

表 3 不同添加剂对茶渣青贮发酵品质的影响

Table 3 Effects of various additive on fermentation quality of tea residue silage

组别 Group	pH	AN (%DM)	LA (%DM)	AA (%DM)	PA (%DM)	BA (%DM)	VFA (%DM)	LA/VFA
CK	4.29±0.02a	0.14±0.00a	0.47±0.06c	1.65±0.21a	0.59±0.11b	0.53±0.08a	3.24±0.36c	17.70±2.75c
T ₁	4.27±0.03a	0.16±0.03a	0.53±0.15c	1.81±0.05a	0.82±0.06a	0.55±0.02a	3.71±0.16bc	18.30±4.21c
T ₂	3.96±0.03d	0.13±0.05a	2.73±0.06a	1.50±0.24a	0.22±0.05c	0.00±0.00c	4.45±0.25ab	64.67±3.92a
T ₃	4.26±0.01a	0.17±0.02a	0.50±0.10c	1.91±0.34a	0.83±0.23a	0.32±0.28b	3.64±0.58bc	18.17±5.60c
T ₄	4.02±0.01c	0.13±0.00a	2.70±0.28a	1.40±0.08a	0.14±0.01c	0.00±0.00c	4.23±0.21ab	65.85±3.61a
T ₅	4.19±0.01b	0.15±0.03a	1.13±0.06b	1.64±0.20a	0.19±0.03c	0.00±0.00c	3.01±0.23c	40.27±2.77b
T ₆	3.90±0.03e	0.12±0.02a	3.00±0.26a	1.39±0.14a	0.19±0.02c	0.00±0.00c	4.58±0.26a	68.27±3.52a

AN: 氨态氮 Ammonia nitrogen; LA: 乳酸 Lactic acid; AA: 乙酸 Acetic acid; PA: 丙酸 Propionic acid; BA: 丁酸 Butyric acid; VFA: 挥发性脂肪酸 Volatile fatty acid.

2.3 不同添加剂对茶渣青贮水解酶活性的影响

T₂~T₆组的植酸酶(PAP)活性均较CK组显著提高($P<0.05$,表4),同时T₃、T₅组的单宁酶(TANa)活性也较CK组显著提高($P<0.05$),但T₅组的纤维素酶(CLa)活性较CK组显著降低($P<0.05$)。该结果表明,不同添加剂处理能够不同程度上改变茶渣青贮水解酶的活性。

2.4 不同添加剂对茶渣青贮抗营养因子及总酚含量的影响

与CK组相比,T₁、T₃、T₄、T₆组的植酸(IP6)含量均显著降低($P<0.05$,表5),其中T₃、T₆组的总酚(TP)含量也显著降低($P<0.05$),但各处理组的单宁含量较CK组无显著差异($P>0.05$)。这些结果表明,乳酸菌、CLa等添加剂单独处理或与红糖联合处理能够明显减少青贮茶渣中抗营养因子IP6以及TP的含量。

2.5 不同添加剂对茶渣青贮微生物多样性的影响

2.5.1 茶渣青贮菌群的物种分布情况 在门水平上(图1A),本研究发现占据主导地位的主要包括厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门。与CK组相比,T₂、T₄、T₆组厚壁菌门的相对丰度增加,拟杆菌门的相对丰度减少,厚壁菌门与拟杆菌门的比值(F/B)明显提高;T₁和T₅组的F/B值较CK组有所提高但差异不明显,而T₃组的F/B值较CK组有所降低。

表 4 不同添加剂对茶渣青贮水解酶活性的影响

Table 4 Effects of various additive on hydrolase activity in tea residue silage

组别 Group	CLa ($\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	TANa ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	PAP ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)
CK	1222.32±24.79a	23.07±2.24c	12.27±1.55e
T ₁	1196.37±97.98ab	24.07±3.10c	15.88±1.90de
T ₂	1229.03±29.78a	27.52±1.67bc	30.41±3.63b
T ₃	1149.60±28.31ab	33.80±4.28a	24.53±3.00bc
T ₄	1180.84±15.58ab	25.66±0.49bc	43.02±8.12a
T ₅	1119.13±42.30b	30.88±3.95ab	18.99±2.35cd
T ₆	1133.69±43.26ab	29.35±3.75abc	22.81±2.82c

CLa: 纤维素酶 Cellulase; TANa: 单宁酶 Tannase; PAP: 植酸酶 Phytase.

表 5 不同添加剂对茶渣青贮抗营养因子及总酚含量的影响

Table 5 Effects of various additive on anti-nutritional factors and total phenol content in tea residue silage($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别 Group	单宁 Tannins	植酸 Phytic acid	总酚 Total phenol
CK	3.50±0.03ab	10.58±0.84a	60.31±2.31a
T ₁	3.50±0.06ab	8.35±0.37bc	55.20±3.13ab
T ₂	3.43±0.05b	9.58±0.45ab	56.56±2.96ab
T ₃	3.54±0.03a	8.44±0.84bc	53.68±3.20bc
T ₄	3.50±0.04ab	8.88±1.88bc	55.86±3.90ab
T ₅	3.43±0.02b	9.57±0.36ab	59.43±0.57ab
T ₆	3.41±0.07b	7.93±0.34c	49.21±4.20c

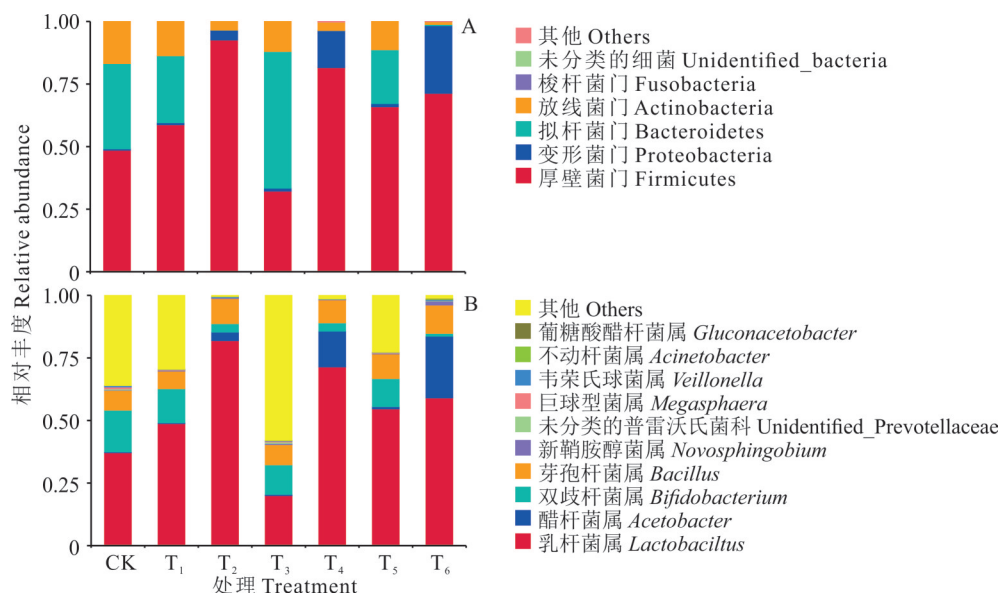


图1 茶渣青贮菌群在门水平(A)和属水平(B)上的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of tea residue silage bacterial communities at the phylum (A) and genus levels (B)

在属水平上(图1B)的优势物种为乳杆菌属、醋杆菌属、双歧杆菌属和芽孢杆菌属。与CK组相比, T₂、T₄、T₆组乳杆菌属和醋杆菌属的相对丰度增加, 双歧杆菌属的相对丰度减少; T₁和T₅组乳杆菌属的相对丰度较CK组有所提高但差异不明显, 而T₃组乳杆菌属的相对丰度较CK组有所降低。

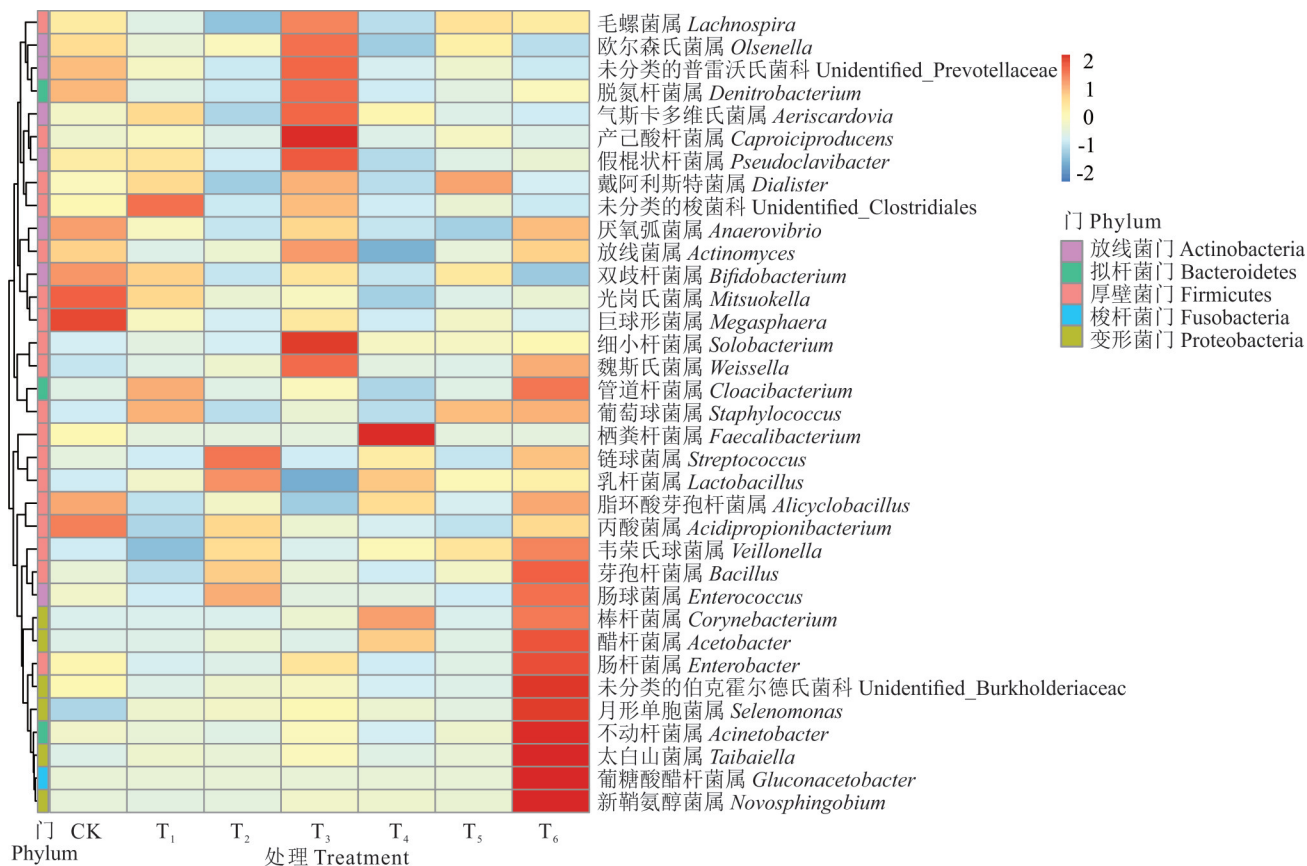


图2 茶渣青贮菌群在属水平上的物种聚类热图

Fig. 2 Species clustering heat map of the tea residue silage bacterial community at the genus level

该结果表明,添加剂处理对茶渣青贮微生物的物种分布有影响,其中添加红糖有助于增加茶渣青贮的厚壁菌门、乳杆菌属和醋杆菌属数量。

CK 组聚集较多的菌属主要有脂环酸芽孢杆菌属、丙酸菌属、韦荣氏球菌属(图 2);T₁组主要聚集了未分类的梭菌科;T₂组聚集了较多的链球菌属和乳杆菌属;细小杆菌属、魏斯氏菌属、产己酸杆菌属等主要在 T₃组聚集;T₄组聚集了较多的栖粪杆菌属;T₅组的戴阿利斯特菌属和葡萄球菌属是组内相对较多的菌属;T₆组聚集的菌属种类较多,包括芽孢杆菌属、肠球菌属、棒杆菌属、醋杆菌属、肠杆菌属、月形单胞菌属、不动杆菌属、太白山菌属、葡萄糖醋杆菌属、新鞘氨醇菌属。

2.5.2 茶渣青贮菌群 Alpha 多样性分析 Alpha 多样性指数用以表征样品中物种分布的多样性和均匀度,包括观测到的 OTUs 数目(Observed_species)、谱系多样性(PD_whole_tree)、ACE 和 Chao1 指数等^[17]。T₄组的 Observed_species、PD_whole_tree、ACE、Chao1 指数均显著高于 CK 组和其他添加剂处理组($P<0.01$),表明乳酸菌与红糖联合处理能够提高茶渣青贮的物种丰富度和群落多样性(图 3)。

2.5.3 茶渣青贮菌群 Beta 多样性分析 通过主坐标分析(principal coordinates analysis,PCoA)评估不同样本间群落结构的相似性^[18](图 4),T₁、T₅组的微生物群落分布不易区分,并与 CK 组大部分重叠,说明添加 LAB 或 LAB+纤维素酶处理对茶渣青贮微生物的 Beta 多样性无明显的影响,即茶渣青贮微生物菌群结构分化无明显差

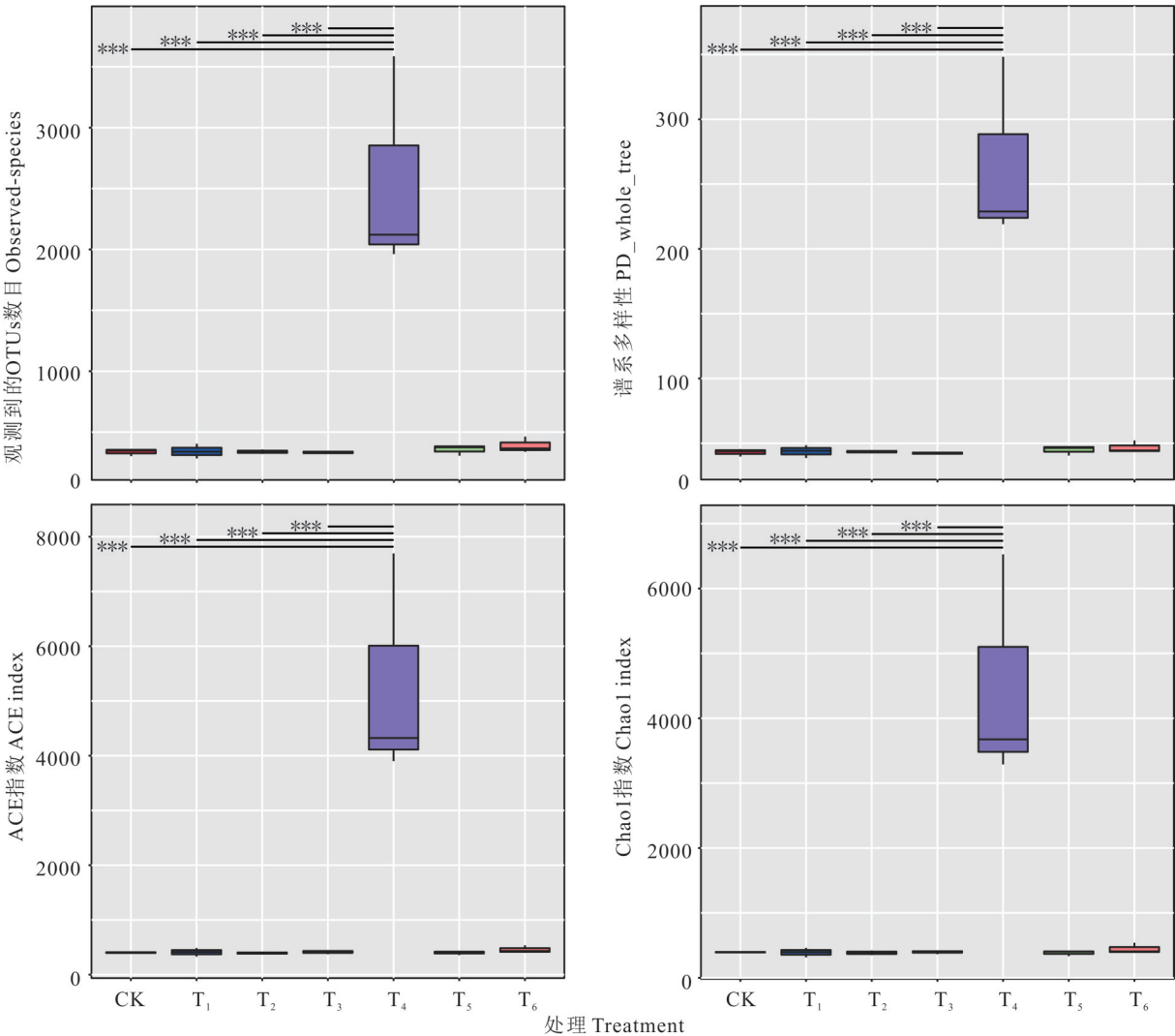


图 3 茶渣青贮菌群的 Alpha 多样性指数差异

Fig. 3 Differences in the Alpha diversity index of the tea residue silage bacterial community

***: $P<0.001$.

异。 T_2 、 T_4 、 T_6 组的微生物群落相互重叠,但在PC1轴和PC2轴上都与CK组间隔距离较远,表明这3组与CK组间群落样本在第一、二主坐标维度上都具有差异,第一主坐标解释了约62.01%的样本间差异,第二主坐标则解释了约16.41%的样本间差异。

3 讨论

3.1 不同添加剂处理对茶渣青贮营养和发酵品质的影响

茶渣是一种具有潜力的非常规饲料资源,但由于其粗纤维含量较高且木质素结构复杂,直接青贮易导致发酵不充分、营养损失等问题^[19]。而且茶渣含有一些非营养成分,如皂苷和单宁,味道苦涩,适口性差^[20]。选择合适的青贮添加剂来提高青贮茶渣的营养价值、发酵风味和适口性,对促进茶渣在动物饲料中的利用至关重要^[21]。

本研究结果表明,乳酸菌与红糖或纤维素酶联合处理能够提高茶渣青贮DM、SP及SS和TS等营养成分的含量。另有发现,添加剂处理导致茶渣青贮的NDF和ADF含量增加,推测可能是因为青贮中微生物发酵的过程会导致部分DM以二氧化碳和水的形式挥发损失掉,损失的这部分主要是非纤维性的易消化养分。青贮结束后,总干物质重量减少,但NDF、ADF相对难以被微生物分解,损失较少,形成一种“浓缩效应”,造成在剩余干物质中纤维含量的表观升高。本研究发现,不同添加剂处理对茶渣青贮发酵品质有显著影响,例如红糖单一处理组(T_2)和联合处理组(T_4 ~ T_6)的pH值(3.90~4.19)显著低于对照组(CK)及乳酸菌(T_1)、纤维素酶(T_3)单一处理组,且LA含量显著提高,这种变化与厚壁菌门中乳杆菌属相对丰度的提升密切相关。结合图1B结果, T_2 、 T_4 、 T_6 组乳杆菌属相对丰度较CK组提高21.9%~44.8%,说明红糖作为碳源有效促进了乳酸菌的增殖,加速了可溶性碳水化合物的转化,进而产生大量LA而降低环境pH值^[22]。乳酸菌+红糖+纤维素酶(T_6)联合处理的LA/VFA达68.27,显著高于乳酸菌、纤维素酶单一处理组和乳酸菌+纤维素酶组合处理组(T_5),这表明复合添加剂的协同效应优化了发酵途径,使LA成为主要发酵终产物。钟书等^[23]研究发现,相比于单独添加乳酸菌或纤维素酶,添加二者的复合剂对紫花苜蓿(*Medicago sativa*)青贮品质的提高效果更显著。李文优等^[24]研究表明,菌酶混合添加对巨菌草(*Pennisetum giganteum*)的青贮效果优于单一处理。本研究结论与其相似,都表明复合使用青贮添加剂对青贮品质的改善效果比单独添加更有优势,但复合添加剂的种类、比例等需进一步探究。

3.2 不同添加剂处理对茶渣青贮水解酶活性和其他化合物的影响

茶渣原料中主要含有茶多酚、咖啡碱、黄酮类等生物活性物质,这些成分在青贮过程中易受微生物代谢及酶解作用的影响。本研究发现,添加红糖(T_2 、 T_4 、 T_6 组)显著提高了单宁酶活性,这可能与红糖作为碳源促进乳杆菌属增殖有关,而该菌属已被报道具有分泌单宁酶的能力^[25]。当乳酸菌与红糖联合使用时(T_4 组),植酸酶活性达到 $(43.02 \pm 8.12) \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,较CK组提高250.6%,这可能是由于红糖与乳酸菌协同刺激了芽孢杆菌属等产酶菌株的生长,其分泌的植酸酶可有效分解植酸,释放磷元素并改善饲料营养价值。然而,乳酸菌+纤维素酶组(T_5)的纤维素酶活性较CK组显著降低了8.4%,推测与纤维素酶添加引发底物竞争抑制有关。当外源纤维素酶与内生菌群同时作用于纤维素时,底物快速分解可能造成代谢产物积累,从而反馈抑制酶活性^[26-27]。此外, T_3 组虽显著提高单宁酶活性,但对黄酮类物质的保留率却低于CK组,这表明过强的酶解作用可能加速次生代谢

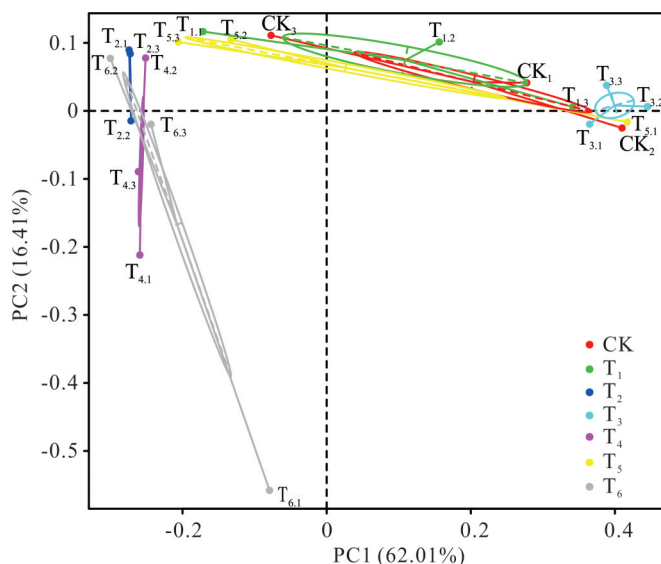


图4 茶渣青贮菌群的主坐标分析

Fig. 4 Principal coordinates analysis (PCoA) of bacterial community in the tea residue silage

CK₁、CK₂、CK₃, T_{1.1}、T_{1.2}、T_{1.3}, T_{2.1}、T_{2.2}、T_{2.3}, T_{3.1}、T_{3.2}、T_{3.3}, T_{4.1}、T_{4.2}、T_{4.3}, T_{5.1}、T_{5.2}、T_{5.3}, T_{6.1}、T_{6.2}、T_{6.3}: 分别为CK, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆组的3个试验重复 Denote the three replicates of the CK, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆ treatment group, respectively.

产物的氧化降解。

本研究中,各添加剂处理组的SP含量较CK组提升15.3%~23.2%,可能与添加剂促进蛋白酶活性相关。特别是T₅组的TS含量达34.11 mg·g⁻¹,较CK组提高36.2%,这可能是外源酶与微生物的协同作用促进了茶渣中结构性多糖的降解,释放出更多可发酵糖类,从而显著提升了青贮料的总糖含量^[28]。另外,TP含量在T₆组呈显著降低现象,推测与高活性菌群对酚类物质的代谢消耗有关^[29],这为后续研究微生物代谢通路提供了重要切入点。

3.3 不同添加剂处理对茶渣青贮微生物的影响

青贮料上附着的微生物及青贮过程微生物演替随青贮过程变化,同时外源性添加剂也影响着微生物组成^[30-31]。门水平上,T₂、T₄、T₆组的F/B值明显提升,表明厚壁菌门的优势生长有利于维持酸性环境,而属水平上醋杆菌属的相对丰度增加可能通过有机酸生成增强抗菌活性,抑制霉菌,降低青贮腐败风险。虽然Beta多样性分析结果显示各组茶渣青贮的微生物群落结构分化无明显差异,但Alpha多样性分析揭示了物种丰富度和群落多样性在不同添加剂处理间的显著差异。特别是T₄组,其Alpha多样性指数显著高于其他组,表明乳酸菌与红糖的联合处理不仅优化了发酵品质,还促进了微生物群落的多样性和复杂性。这种多样性的增加可能有助于增强茶渣青贮过程的稳定性,为后续的饲料利用提供更为广泛的微生物资源和代谢功能^[32]。

此外,不同添加剂处理对特定微生物菌属的影响也值得深入探讨。例如,T₂组中链球菌属和乳杆菌属的聚集可能与红糖作为碳源促进乳酸菌增殖有关,而T₃组中细小杆菌属、魏斯氏菌属等的聚集则可能与纤维素酶的添加引发的底物竞争和微生物群落重构有关。这些特定菌属的变化不仅影响了青贮的发酵品质和生物活性成分,还可能对茶渣青贮的贮藏稳定性和动物消化利用率产生重要影响。

4 结论

本研究通过添加不同种类的添加剂探究其对茶渣青贮品质和微生物多样性的影响。结果表明,添加剂处理显著改善了茶渣青贮的发酵品质,尤其是红糖与乳酸菌联合处理表现出最优的发酵效果,说明复合添加剂的协同效应优化了发酵途径。此外,红糖作为碳源有效促进了乳酸菌的增殖,对茶渣青贮的水解酶活性和酚类、植酸等化合物的含量也产生了积极影响。在微生物多样性方面,红糖与乳酸菌联合处理促进了微生物群落的多样性和复杂性。综上,本研究为茶渣青贮饲料品质的提升和添加剂的筛选提供了理论依据和实践指导,后续研究可进一步探究复合添加剂的种类、比例以及微生物代谢通路等方面,以期茶渣青贮饲料的广泛应用奠定坚实基础。

参考文献 References:

- [1] Nasehi M, Torbatineja N M, Rezaie M, *et al.* Effects of partial substitution of alfalfa hay with green tea waste on growth performance and *in vitro* methane emission of fat-tailed lambs. *Small Ruminant Research*, 2018, 168: 52—59.
- [2] Kondo M, Kondo Y, Kita K, *et al.* Nutritive evaluation of spent green and black tea leaf silages by *in vitro* gas production characteristics, ruminal degradability and post-ruminal digestibility assessed with inhibitory activity of their tannins. *Animal Science Journal*, 2018, 89(12): 1656—1662.
- [3] Bai W F, Guo X Y, Ma L Q, *et al.* Chemical composition and sensory evaluation of fermented tea with medicinal mushrooms. *Indian Journal of Microbiology*, 2013, 53(1): 70—76.
- [4] Sui W J, Xiao Y, Liu R, *et al.* Steam explosion modification on tea waste to enhance bioactive compounds' extractability and antioxidant capacity of extracts. *Journal of Food Engineering*, 2019, 261: 51—59.
- [5] Xu Q, Zhang Y L, Sun J J, *et al.* The application and thinking of tea dregs in livestock and poultry feed. *Guangdong Feed*, 2021, 30(6): 33—36.
许晴, 张永亮, 孙加节, 等. 茶渣在畜禽饲料中的应用及思考. *广东饲料*, 2021, 30(6): 33—36.
- [6] Xia G H, Sun W T, Wu C R, *et al.* Research progress on the effect of plant tannins on silage quality and rumen fermentation. *Feed Industry*, 2023, 44(17): 63—69.
夏光浩, 孙文涛, 吴长荣, 等. 植物单宁对青贮饲料品质及瘤胃发酵影响的研究进展. *饲料工业*, 2023, 44(17): 63—69.
- [7] Nascimento T V C, Bezerra L R, Menezes D R, *et al.* Condensed tannin-amended cassava silage: Fermentation characteristics,

- degradation kinetics and *in-vitro* gas production with rumen liquor. The Journal of Agricultural Science, 2018, 156(1): 83–91.
- [8] Huang X W, Fan X, Tang M H, *et al.* Research progress of effects of additives on the quality of forage grass silage. Feed Industry, 2023, 44(17): 81–85.
黄秀文, 范雪, 唐明欢, 等. 青贮添加剂对牧草青贮品质影响的研究进展. 饲料工业, 2023, 44(17): 81–85.
- [9] Zhu F, Ran L, Su D, *et al.* Effect of bran and lactic acid bacteria preparation on silage quality and nutrient content of a tea residue. Pratacultural Science, 2019, 36(1): 234–242.
朱飞, 冉雷, 苏娣, 等. 麦麸与乳酸菌制剂对茶渣青贮品质和养分含量的影响. 草业科学, 2019, 36(1): 234–242.
- [10] Chen Y Y, Zhu N, Liang Y, *et al.* Effect of additives on quality of herbal tea residue fermentation. Journal of Domestic Animal Ecology, 2020, 41(2): 55–59.
陈奕业, 朱妮, 梁瑶, 等. 不同添加剂对凉茶渣发酵品质的影响. 家畜生态学报, 2020, 41(2): 55–59.
- [11] Yu Q, Zhou Y T, Aibibula·Yimamu, *et al.* Effects of different silage additives on quality and microbial composition of extruded corn straw microage. Feed Research, 2025, 48(5): 126–132.
于琴, 周宇婷, 艾比布拉·伊马木, 等. 不同青贮添加剂对膨化玉米秸秆微贮饲料品质及微生物组成的影响. 饲料研究, 2025, 48(5): 126–132.
- [12] Yirule, Gegentu, Jia Y S, *et al.* Study on nutrient composition and fermentation quality of mixed silage with different proportions of corn straw and potato starch residue. Feed Research, 2023, 46(24): 94–99.
意如乐, 格根图, 贾玉山, 等. 不同比例玉米秸秆与马铃薯淀粉渣混合青贮营养成分及发酵品质的研究. 饲料研究, 2023, 46(24): 94–99.
- [13] Chen X Z, Lin P D, Yue W, *et al.* Effects of various additives on the quality and microbial diversity of broad bean straw silage. Acta Prataculturæ Sinica, 2025, 34(4): 164–174.
陈鑫珠, 林平冬, 岳稳, 等. 不同添加剂对蚕豆秸秆青贮品质及微生物多样性的影响. 草业学报, 2025, 34(4): 164–174.
- [14] Wang H R, Gao F Q, Xue Y L, *et al.* Effects of different lactic acid bacteria additives on the quality and microbial diversity of oat silage. Chinese Journal of Grassland, 2024, 46(11): 82–90.
王昊然, 高凤芹, 薛艳林, 等. 不同乳酸菌添加剂对燕麦青贮品质和微生物多样性的影响. 中国草地学报, 2024, 46(11): 82–90.
- [15] Van Ranst G, Vandewalle M, Gadeyne F, *et al.* Lipid metabolism in mixtures of red clover (*Trifolium repens*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in lab scale silages and *in vitro* rumen incubations. Animal, 2013, 7(9): 1454–1463.
- [16] Yang S. Feed analysis and feed quality testing technology. Beijing: China Agricultural University Press, 1993: 19–33.
杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术. 北京: 中国农业大学出版社, 1993: 19–33.
- [17] Li B, Zhang X X, Guo F, *et al.* Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis. Water Research, 2013, 47(13): 4207–4216.
- [18] Minchin P R. An evaluation of the relative robustness of techniques for ecological ordination. Vegetatio, 1987, 69(1/2/3): 89–107.
- [19] Lei L L, Shen S B, Zhang S F, *et al.* The nutritional value of plant extract residues and its application in monogastric animals. Feed Research, 2021, 44(21): 133–136.
雷丽莉, 沈水宝, 张淑芳, 等. 植物提取剩余物的营养价值及其在单胃动物上的应用研究进展. 饲料研究, 2021, 44(21): 133–136.
- [20] Wang T S, Zhang J Y, Luo Y Q, *et al.* Application of tea residue in livestock and poultry breeding. Feed Review, 2023, 2: 19–23.
王天松, 张晋源, 罗远琴, 等. 茶渣在畜禽养殖中的应用. 饲料博览, 2023, 2: 19–23.
- [21] Cui Y Y, Li J Z, Deng D, *et al.* Solid-state fermentation by *Aspergillus niger* and *Trichoderma koningii* improves the quality of tea dregs for use as feed additives. PLoS One, 2021, 16(11): e260045.
- [22] Muck R E, Nadeau E M G, Mcallister T A, *et al.* Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 3980–4000.
- [23] Zhong S, Zhang X N, Yang Y G, *et al.* Effects of lactic acid bacteria and cellulase on alfalfa silage quality with different moisture. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2017, 29(5): 1821–1830.
钟书, 张晓娜, 杨云贵, 等. 乳酸菌和纤维素酶对不同含水量紫花苜蓿青贮品质的影响. 动物营养学报, 2017, 29(5): 1821–1830.
- [24] Li W Y, Zhu Q, Chen B, *et al.* Effects of different enzyme-microbe combinations on silage quality of *Pennisetum giganteum*.

- Feed Research, 2025, 48(14): 125–130.
- 李文优, 朱芹, 陈斌, 等. 添加不同复合菌酶对巨菌草青贮品质的影响. 饲料研究, 2025, 48(14): 125–130.
- [25] Landete J M, Plaza-Vinuesa L, Montenegro C, *et al.* The use of *Lactobacillus plantarum* esterase genes: A biotechnological strategy to increase the bioavailability of dietary phenolic compounds in lactic acid bacteria. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2021, 72(8): 1035–1045.
- [26] Kim J H, Block D E, Shoemaker S P, *et al.* Conversion of rice straw to bio-based chemicals: An integrated process using *Lactobacillus brevis*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(5): 1375–1385.
- [27] Wang M, Lu X F. Exploring the synergy between cellobiose dehydrogenase from *Phanerochaete chrysosporium* and cellulase from *Trichoderma reesei*. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 620.
- [28] Wei J, Ding D D, Zhang G P. Effects of different silage additives on nutrient composition, fermentation quality, and CNCPS components of grain and grass silage. Feed Research, 2025, 48(11): 123–127.
- 魏杰, 丁丹丹, 张广平. 不同青贮添加剂对谷草青贮营养成分、发酵品质及 CNCPS 组分的影响. 饲料研究, 2025, 48(11): 123–127.
- [29] Rehman J U, Joe E N, Yoon H Y, *et al.* Lignin metabolism by selected fungi and microbial consortia for plant stimulation: Implications for biologically active humus genesis. Microbiology Spectrum, 2022, 10(6): e263722.
- [30] Xu D M, Zhang P, Ke W C, *et al.* Research process in silage microorganism and its effects on silage quality. Acta Agrestia Sinica, 2017, 25(3): 460–465.
- 许冬梅, 张萍, 柯文灿, 等. 青贮微生物及其对青贮饲料发酵品质影响的研究进展. 草地学报, 2017, 25(3): 460–465.
- [31] Zhang N J, Liu J L, Lin B, *et al.* Research progress on composition characteristics of epiphytic microorganisms of green forage and their effects on silage quality. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(5): 2828–2835.
- 张男吉, 刘江莉, 林波, 等. 青绿饲料附生微生物组成特点及其对青贮品质影响的研究进展. 动物营养学报, 2023, 35(5): 2828–2835.
- [32] Klang J, Szewzyk U, Bock D, *et al.* Nexus between the microbial diversity level and the stress tolerance within the biogas process. Anaerobe, 2019, 56: 8–16.