

鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的活性研究

胡梦云,俞群娣*,王丹群,何晓露,邱梦媛,张朝阳,陈美玉 (浙江海洋学院食品与医药学院,浙江舟山 316022)

摘要 [目的]为鱿鱼墨在饲料、保健品等领域的应用提供理论依据。采用高速离心法精制的鱿鱼墨黑色素与 Ca^{2+} 作用,探究酸度、温度、时间、黑色素添加量、 Ca^{2+} 浓度及盐度等因素对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。[结果]当 pH 为 4、温度为 40 ℃、黑色素添加量为 0.02 g、吸附时间为 10 h 时,鱿鱼墨黑色素对钙的吸附量最大,达到 65%。不同浓度的氯化钠和氯化镁对黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响较小,氯化铁对黑色素吸附钙的影响很大,随着氯化铁浓度的增大,吸附量急剧增加。[结论]鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附能力并不理想,吸附量也不多。
关键词 鱿鱼墨;黑色素; Ca^{2+} ;吸附;活性
中图分类号 S986 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)03-070-04

Activity Research of Ca^{2+} Absorption by Squid Melanin
HU Meng-yun, YU Qun-di*, WANG Dan-qun et al (School of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022)

Abstract [Objective] To provide theoretical foundation for the application of squid melanin in feed, health care products and other fields. [Method] After high-speed centrifugation, squid melanin was used to absorb Ca^{2+} . Factors affecting the Ca^{2+} absorption by squid melanin were researched, such as pH value, temperature, time, salinity, squid melanin quantity and Ca^{2+} concentration. [Result] Absorption rate of squid melanin to Ca^{2+} was the maximum (65%) under the conditions of pH 4, 40 ℃ temperature, 0.02 g melanin dosage, and 10 h absorption time. Different concentrations of sodium chloride and magnesium chloride had relatively small effects on Ca^{2+} absorption by squid melanin, but ferric chloride showed great impacts. With the increase of ferric chloride concentration, the adsorbing capacity enhanced sharply. [Conclusion] Adsorption capacity of squid melanin to Ca^{2+} is not ideal.
Key words Squid ink; Melanin; Ca^{2+} ; Absorption; Activity

鱿鱼墨约占鱿鱼体重的 1.3%,是鱿鱼加工副产物之一^[1]。鱿鱼墨不仅具有止血、抗肿瘤、抗氧化等功能^[2,3],而且具有较强的阳离子吸附特性^[4-5]。目前,研究鱿鱼墨黑色素对金属阳离子的吸附已成为热点。国内陈士国等对鱿鱼墨黑色素吸附 Fe^{3+} 的活性进行研究^[6]。鲁婷婷等^[7]研究了鱿鱼墨黑色素对 Pb^{2+} 和 Cr^{6+} 吸附的影响等,但对 Ca^{2+} 的吸附的研究尚未见报道。笔者以鱿鱼墨黑色素为材料,研究其吸附 Ca^{2+} 的活性影响因素,以期对鱿鱼墨在饲料、保健品等领域的应用提供理论依据,提高鱿鱼加工过程中废弃物的综合利用率。

1 材料与方法

- 1.1 材料 鱿鱼墨购于舟山兴业渔业公司。
- 1.2 仪器 岛津 AA-7000 型原子吸收分光光度计;傅立叶红外光谱仪(Nicilet6700 FTIR)。
- 1.3 方法
 - 1.3.1 鱿鱼墨黑色素的制备。采用高速离心法^[8]制备鱿鱼墨黑色素。
 - 1.3.2 原子吸收法测定 Ca^{2+} 含量。
 - 1.3.2.1 标准 Ca^{2+} 溶液配制(25 mg/mL):称取 25 g CaCO_3 于 100 mL 的烧杯中,滴加 6 mol/L 的优级纯 HCl 至 CaCO_3 恰好溶解,然后转移至 1000 mL 的容量瓶中,稀释,定容,备用。
 - 1.3.2.2 原子吸收法测定 Ca^{2+} 含量。分别移取 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 上述标准 Ca^{2+} 溶液于 50mL 容量瓶中,

用超纯水稀释至刻度,得到一系列不同浓度的标准 Ca^{2+} 工作溶液,用超纯水作为参比,使用原子吸收法测定其吸光度 A ,以吸光度 A 为纵坐标,以 Ca^{2+} 的浓度为横坐标,绘制标准工作曲线,得到标准工作曲线方程: $y=0.0556x+0.0452$,相关系数 r 为 0.9988。

1.3.3 鱿鱼墨吸附 Ca^{2+} 的吸附率的计算。按照以下公式计算鱿鱼吸附 Ca^{2+} 的吸附率:吸附率(100%)= $\frac{C_0-C_e}{C_0} \times 100$ 。

式中, C_0 为溶液中金属离子初始浓度(mg/L); C_e 为反应后溶液中离子的平衡浓度(mg/L)。

- 1.3.4 不同因素对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。
 - 1.3.4.1 pH 对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。移取 10 mmol/L Ca^{2+} 5.0 mL 置于 25 mL 的容量瓶中,加入 0.02 g 鱿鱼墨黑色素,用盐酸和氢氧化钠调节溶液 pH 为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0,充氮气避光放置摇床(54 r/min)振荡吸附 24 h。取出后离心,取上清液 2.5 mL 稀释 40 倍,按照“1.3.2”中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。离心后的沉淀经酸硝化后定容至 100 mL,同样按照“1.3.2”中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。
 - 1.3.4.2 温度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。移取 10 mmol/L Ca^{2+} 5.0 mL 于 25 mL 的容量瓶中,加入鱿鱼墨黑色素 0.02 g,调节 pH 为 4.0,分别在 0、10、20、30、40 ℃ 温度下,充氮气避光放置摇床振荡吸附 24 h,次日取出后离心,取上清液 2.5 mL 稀释至 100 mL,按照“1.3.2”中测定其 Ca^{2+} 浓度。
 - 1.3.4.3 时间对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。移取 10 mmol/L Ca^{2+} 5.0 mL 于 25 mL 的容量瓶中,然后加入鱿鱼墨黑色素 0.02 g,调节 pH 4.0,充氮气避光放置摇床,于 40 ℃ 下分别振荡吸附 15 min、30 min、1 h、3 h、5 h、10 h、18 h、24 h,取出后离心,取上清液 2.5 mL 稀释至 100 mL,按照“1.3.2”

基金项目 浙江省大学生科技创新项目(2014R411009)。
作者简介 胡梦云(1993-),女,浙江杭州人,本科生,专业:药学。
* 通讯作者,副教授,从事食品分析与检验。
收稿日期 2015-12-18

中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。

1.3.4.4 黑色素添加量对吸附 Ca^{2+} 的影响。 移取 10 mmol/L Ca^{2+} 5.0 mL 置于 25 mL 的容量瓶中,分别加入 5、10、15、20、30 mg 的鱿鱼墨黑色素,调节溶液 pH 为 4.0,充氮气避光放置摇床 40 °C 下振荡吸附 24 h,次日取出,离心后取上清液 2.5 mL 稀释至 100 mL,按照“1.3.2”中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。

1.3.4.5 Ca^{2+} 浓度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。 分别移取 2、5、10、12、14、16 mmol/L 的 Ca^{2+} 溶液 5.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中,各加入 0.02 g 的鱿鱼墨黑色素,调节 pH 为 4.0,充氮气 40 °C 下放置摇床避光振荡吸附 24 h,离心取上清液 2.5 mL 稀释至 100 mL,按照“1.3.2”中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。

1.3.4.6 不同浓度的盐对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响。 配制不同浓度 NaCl (1%、3%、5%)、 MgCl_2 (1%、3%、5%) 和 FeCl_3 (1%、3%、5%) 盐溶液。取 5 mmol/L Ca^{2+} 溶液 2.5 mL 和 2.5 mL 上述不同浓度的各种盐溶液混合,再分别加入鱿鱼墨黑色素 0.02 g,调节 pH 为 4.0,充氮气 40 °C 放置摇床避光振荡吸附 24 h,离心取上清液 2.5 mL 稀释至 100 mL,按照“1.3.2”中方法测定其 Ca^{2+} 浓度。

1.3.5 鱿鱼墨黑色素与钙离子络合物的红外光谱扫描。 将真空冷冻干燥的样品与 KBr 以 1:100 的比例温合研磨并压制成片,用 Nicilet 6700 傅立叶红外光谱仪在 500 ~ 4000 cm^{-1} 扫描,绘制鱿鱼墨黑色素和鱿鱼墨黑色素钙离子络合物的红外光谱图。

2 结果与分析

2.1 pH 对吸附 Ca^{2+} 的影响 从图 1 可以看出,当 pH 小于 2.0 时,溶液呈强酸性,吸附剂鱿鱼墨黑色素分子中的酚羟基、羧基、胺基等因质子化而带正电荷,与被吸附溶质 Ca^{2+} 之间产生较强的静电斥力,使 Ca^{2+} 很难靠近吸附剂;同时,大量的 H_3O^+ 占据了吸附剂与 Ca^{2+} 络合的活性部位,抑制了吸附剂对 Ca^{2+} 吸收,导致 Ca^{2+} 吸附量几乎为零。随着 pH 的增大,溶液的酸性减弱,吸附剂中与 H_3O^+ 络合的活性部位逐渐暴露出来有利于 Ca^{2+} 的吸附,钙的吸附量呈上升趋势。当 pH 为 4 时,钙的吸附量最大,达 63.74%。当 pH 大于 4 时,

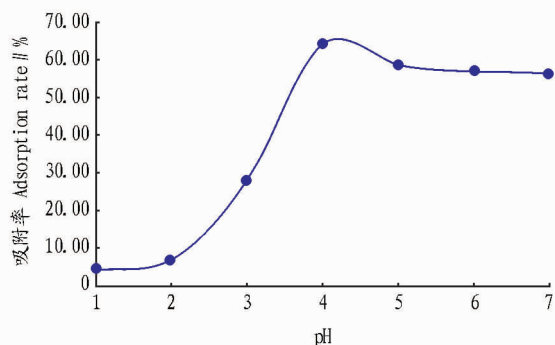


图1 pH 对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig.1 Effects of pH on Ca^{2+} absorption by squid melanin

溶液中 OH^- 与吸附剂竞争 Ca^{2+} ,使溶液中游离的 Ca^{2+} 浓度变小,导致吸附量降低。当溶液碱性增至 7 以上时,鱿鱼墨颗粒会部分溶解,因此,不再继续探究。因此酸度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 有较大影响,其最佳 pH 为 4。

2.2 温度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响 从图 2 可以看出,温度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 有较大的影响。当温度为 40 °C 时,吸附率达到最高。当温度为 25 ~ 40 °C 时,随着温度的升高吸附率逐渐上升,当温度为 40 °C 时达到 65.65%。当温度为 40 ~ 60 °C,随着温度的升高,吸附率逐渐下降,继续升高温度容易导致鱿鱼墨黑色素的氧化,因此未做进一步的研究。

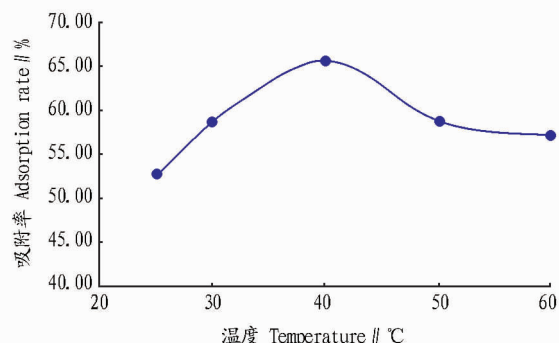


图2 温度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig.2 Effects of temperature on Ca^{2+} absorption by squid melanin

2.3 时间对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响 从图 3 可以看出,随着时间的增加,鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附量逐渐地增加,10 h 后增加缓慢直至吸附平衡。在 30 ~ 240 min 内,吸附量随着时间的增加速度很快,4 ~ 10 h 内吸附较缓,当时间为 10 h 时 Ca^{2+} 的吸附也基本达到饱和达 66.35%,即使时间继续延长, Ca^{2+} 的吸附量也基本保持不变,吸附达到平衡。

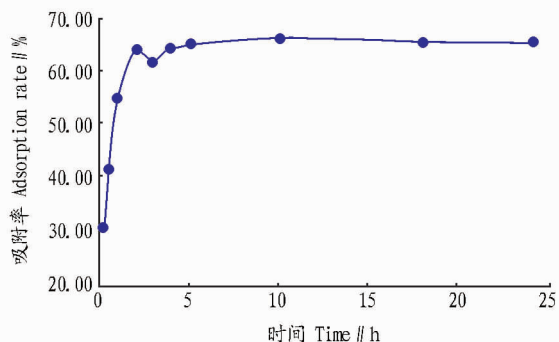


图3 时间对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig.3 Effects of time on Ca^{2+} absorption by squid melanin

2.4 添加量及 Ca^{2+} 浓度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响 从图 4 可以看出,当鱿鱼墨黑色素添加量为 2 ~ 10 mg 时,吸附量随黑色素添加量的增加而下降;当鱿鱼墨添加量为 2 ~ 10 mg 时吸附率随着添加量的增加而减小,当添加量超过 10 mg 后鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附量也随之增大,当黑色素添加量为 20 mg 时吸附率达到最大值 64.46%,而当

鱿鱼墨添加量继续增大时,吸附量基本保持不变。

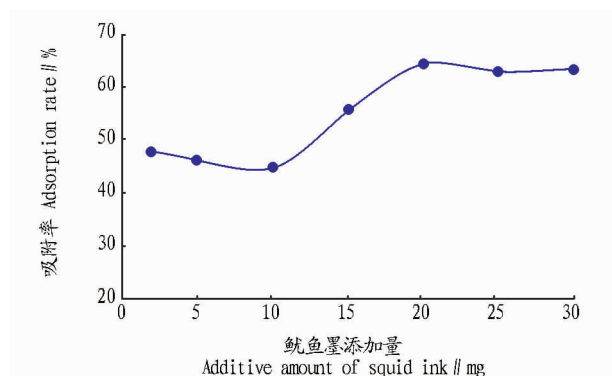


图4 鱿鱼墨添加量对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig. 4 Effects of additive amount of squid ink on Ca^{2+} absorption

从图5可以看出,在初始 Ca^{2+} 浓度为 2~10 mmol/L 时,鱿鱼墨黑色素的吸附量变化很快,随着金属离子浓度的增加,吸附量也相应增大,且增加很快,当 Ca^{2+} 浓度为 10 mmol/L 时吸附量达到最大值。鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附在低浓度下吸附量较少,随着其浓度的增大而吸附量急剧上升,当浓度达到 10 mmol/L 以后,吸附量开始下降。当吸附量达到饱和以后,浓度继续增加,会发生金属离子的解吸现象,从而使黑色素吸附量开始下降。由此可见, Ca^{2+} 浓度为 10 mmol/L 最为适宜。在实际生产中,考虑到经济效益,投入的物料比为 1 g:2.5 mmol。

2.5 盐度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响 从图6可以看出,钠盐和镁盐对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响较小,铁盐对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响非常大,随着 Fe^{3+} 浓度的增加,吸附量急剧上升,当 Fe^{3+} 浓度达 5% 时吸附量由原来的 3% 上升到 51%。因此,铁盐对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响很大。这与陈士国等^[6]的研究结果相符。

2.6 红外光谱分析 从图7可以看出,3 376.30 cm^{-1} 处为

羧酸中 O-H 的伸缩振动,1 619.80 cm^{-1} 处为仲胺 N-H 的伸缩振动,1 384.18 cm^{-1} 处为酚羟基 Ar-OH 的伸缩振动。鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的红外图谱中,羧酸的 O-H 和仲胺 N-H 的位置发生蓝移,分别为 3 399.64 cm^{-1} 和 1 622.92 cm^{-1} ; 酚羟基 Ar-OH 的位置红移了 12 cm^{-1} 。这 3 种现象均说明鱿鱼墨黑色素与 Ca^{2+} 发生吸附。

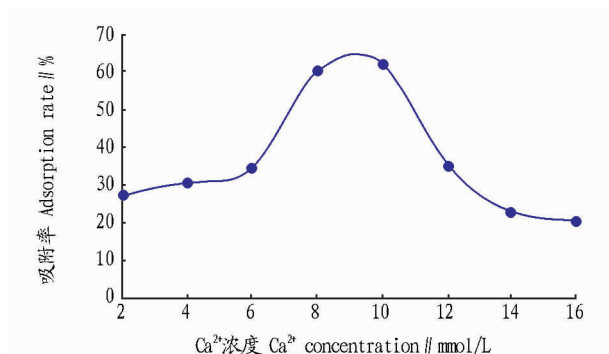


图5 Ca^{2+} 浓度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig. 5 Effects of Ca^{2+} concentration on Ca^{2+} absorption by squid melanin

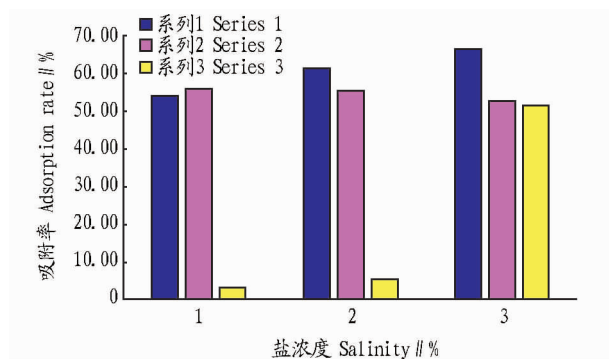
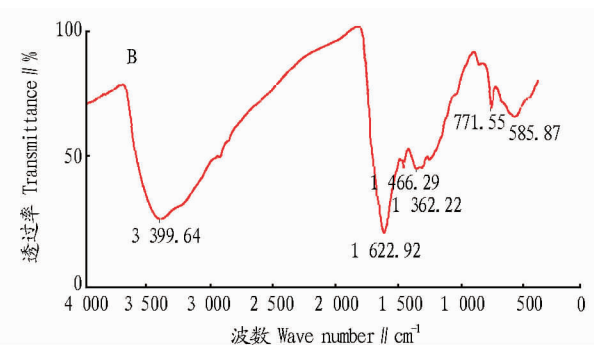
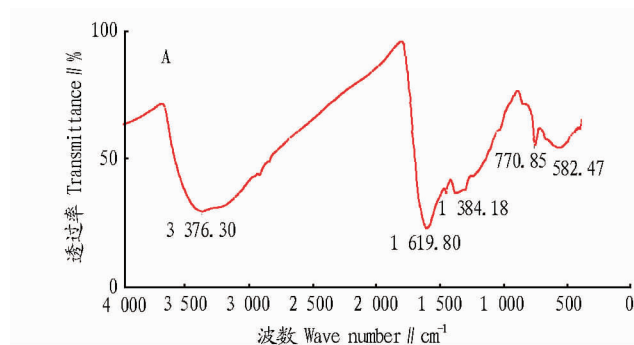


图6 盐度对鱿鱼墨黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响

Fig. 6 Effects of salinity on Ca^{2+} absorption by squid melanin



注:A. 吸附 Ca^{2+} 前;B. 吸附 Ca^{2+} 后。

Note: A. Before Ca^{2+} absorption; B. After Ca^{2+} absorption.

图7 吸附 Ca^{2+} 前后鱿鱼墨黑色素的红外光谱比较

Fig. 7 Infrared spectroscopy of squid melanin before and after Ca^{2+} absorption

3 小结

鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附能力并不是很理想,吸附量也不太多。但是,改变不同的因素对吸附过程仍会有较大的变化。较适宜的吸附温度为 40 $^{\circ}\text{C}$, Ca^{2+} 的初始浓度为 10 mmol/L, 最适 pH 为 4, 黑色素添加量为 0.02 g, 吸附最佳

时间为 10 h, 最大吸附量为 65%, 铁盐对黑色素吸附 Ca^{2+} 的影响很大。鱿鱼墨黑色素对 Ca^{2+} 的吸附主要受 pH、温度、吸附时间、鱿鱼墨添加量、 Ca^{2+} 初始浓度和溶液中铁离子的影响。

参考文献

[1] CHEUN W L. The chemical structure of melanin[J]. Pigment Cell Res,

- 2004,17:422-424.
- [2] 郑高利,张信岳,周彦钢,等. 鱿鱼墨和乌贼墨部分成分及微量元素含量比较[J]. 中国海洋药物,2002,21(3):12-14
- [3] 陈士国,薛长湖,薛勇,等. 鱿鱼墨黑色素的自由基清除活性研究[J]. 中国海洋药物,2007,26(1):24-27
- [4] BILINSKA B. On the structure of human hair melanins from an infrared spectroscopy analysis of their interactions with Cu^{2+} ions[J]. Spectrochimica acta part A,2001,57(12):2525-2533.
- [5] ZAREBA M,BOBER A,KORYTOWSKI W,et al. The effect of a synthetic neuromelanin on yield of free hydroxyl radicals generated in model systems[J]. Biochim biophys acta,1995,1271(2/3):343-348.
- [6] 陈士国,薛勇,薛长湖,等. 鱿鱼墨黑色素吸附铁离子的活性研究[J]. 离子交换与吸附,2010(4):310-316.
- [7] 鲁婷婷,林琳,褚梦思,等. 鱿鱼墨黑色素对 Pb^{2+} 、 Cr^{6+} 吸附的影响[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2012(1):39-43,48.
- [8] LIU Y,SIMON J D. The effect of preparation procedures on the morphology of melanin from the ink sac of *Sepia officinalis*[J]. Pigment cell research,2003,16(1):72-80.

(上接第69页)

相比,TMR 技术通过各种饲料原料根据动物的营养需求进行搭配配合,调整和提供营养水平,改善适口性,增加采食量和采食率^[8,10]。

研究表明,TMR 饲料经过发酵后,粗蛋白含量可以明显升高,中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量则不同程度下降^[11-12]。笔者以玉米秸秆为主、添加复合菌、尿素和盐来配制 TMR 发酵饲料,研究不同添加剂对 TMR 青贮的发酵品质、营养成分、有氧稳定性以及采食性的影响。配制的 TMR 发酵饲料中,玉米秸秆占 58%(干基),苜蓿、糖渣和配合精料分别占 7%、12% 和 23%,是典型的母羊全价饲料。为期 30 d 的发酵贮藏过程中,各处理 TMR 无异常升温现象。TMR 青贮的乳酸含量在各处理间无显著差异($P>0.05$),但处理Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ的 pH 在 4.5~4.8 范围内呈略升高趋势($P<0.05$)。氨化处理可使秸秆中的纤维素和半纤维素与木质素分离,引起细胞壁膨胀,能大幅度提高秸秆的含氮量^[13]。该试验处理Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ均添加 1.5% 尿素,其粗蛋白含量均增至 10% 以上,比对照大幅度增加。这与黄金华等^[14]研究秸秆通过尿素氨化处理 90 d 可以显著提高秸秆的粗蛋白含量的结果相一致。

发酵 TMR 有腐败变质主要是由酵母和霉菌等有害微生物增殖所引起的^[15]。邱小燕等^[16]研究表明发酵全混合日粮添加糖蜜有氧暴露 6 d 后各组乳酸、乙酸和水溶性碳水化合物含量均呈不同程度下降,pH 在第 12 天显著上升,酵母菌数量和氨态氮/总氮比例明显增加。该试验在 TMR 青贮在有氧暴露 6 d 内各处理 pH 呈增加趋势,乳酸含量均出现不同程度下降,但在前 4 d 内的下降幅度相对较小,其有氧稳定性较好。

杨晓亮等^[17]研究表明动物饲喂发酵 TMR 采食量和采食速率提高 30%,粗纤维降低 10% 以上,干物质消化率可以提高 35%。该试验结果表明处理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ采食量分别为 1.45、1.53、1.56 和 1.63 kg/d,其中处理Ⅳ采食量最高,占绵羊体重的 3.85%,显著高于其他处理;处理Ⅳ干物质消化率高达 66% ($P<0.05$)。严平等^[18]研究表明微贮处理秸秆后显著改善了适口性,羊的日采食量比饲喂未处理秸秆提高了 16.7%,干物质消化率显著高于未处理秸秆,这与该试验结果相一致。

笔者通过研究不同添加剂对玉米秸秆为主的 TMR 青贮的发酵品质、有氧稳定性、营养成分以及采食性的影响,得出以出结论:①各处理 TMR 青贮均达到了 TMR 青贮安全贮藏的目的,各处理的发酵品质和有氧稳定性均无显著差异($P>0.05$);②添加 1.5% 尿素的处理Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ的粗蛋白含量均超过 10%,并有效改善了贮藏性和适口性;③复合菌、尿素和食盐同时添加的处理Ⅳ的采食量、采食率及干物质消化率高于处理Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ。由此可见,同时添加 0.02% 复合菌、1.5% 尿素和 0.1% 食盐的处理Ⅳ效果最佳,在生产上可以推广使用。

参考文献

- [1] 新疆维吾尔自治区统计局. 新疆统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2013.
- [2] 玉祝,贾玉山,张秀芬. 牧草加工贮藏与利用[M]. 北京:化学工业出版社,2004:35-37.
- [3] 王富生,马俊孝,任红卫,等. 微生物青贮剂在玉米秸秆黄贮中的作用[J]. 山东大学学报,2004,39(2):112-115.
- [4] 李瑜鑫,王建洲,刘锁珠,等. 西藏高原玉米秸秆氨化处理效果及饲喂牦牛试验[J]. 当代畜牧,2011(2):26-28.
- [5] 韩明鹏,高永革,王成章,等. 玉米秸秆发酵饲料的研究进展[J]. 江苏农业科学,2010(2):242-245.
- [6] 车小平. 玉米秸秆黄贮技术及其饲用性观察[J]. 中国牛业科学,2010,36(3):71-72.
- [7] 王晶,王加启,卜登攀,等. 裹包贮存对全混合日粮品质的影响[J]. 农业工程学报,2009(5):280-283.
- [8] 马书林,张峰,王昆,等. TMR 饲喂技术对高产奶牛生产性能的影响[J]. 畜牧与饲料科学,2008(8):4-5.
- [9] 朱进忠. 草业科学实践教学指导[M]. 北京:中国农业出版社,2009:399-400.
- [10] 周振峰,王晶,王加启,等. 裹包 TMR 饲喂对泌乳中期奶牛生产性能、养分表观消化率及血液生化指标的影响[J]. 草业学报,2010,19(5):31-37.
- [11] 刘芳. 奶牛 TMR 配方设计及发酵 TMR 的营养特性研究[D]. 广州:华南农业大学,2008.
- [12] 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):75-77.
- [13] 李日强,张峰,张伟峰. 氨化和固态发酵玉米秸秆生产饲料蛋白的研究[J]. 农业环境科学学报,2006,25(6):1636-1639.
- [14] 黄金华,王士长,周贞兵,等. 氨化及青贮秸秆的营养价值研究[J]. 饲料研究,2009(11):65-68.
- [15] 王勇,原现军,郭刚,等. 西藏不同饲草全混合日粮发酵品质和有氧稳定性的研究[J]. 草业学报,2014,23(6):95-102.
- [16] 邱小燕,原现军,郭刚,等. 添加糖蜜和乙酸对西藏发酵全混合日粮青贮发酵品质及有氧稳定性影响[J]. 草业学报,2014,23(6):111-118.
- [17] 杨晓亮,孙启忠. 发酵 TMR 粗饲料配方优化研究的意义[C]//中国草原发展论坛论文集. 农业部草原监理中心,中国草学会,2009:550-555.
- [18] 严平,余雪梅,郝桂英,等. 玉米秸秆微贮饲料育肥肉牛效果观察[J]. 安徽农业科学,2008,36(11):4534-4535.