

# 利用体外产气法研究饲料中性洗涤纤维/ 淀粉对瘤胃甲烷产量的影响

王增林 孙雪丽 刘桃桃 李秋凤\* 曹玉凤\* 牛健康 王美美 陈攀亮 白大洋  
(河北农业大学动物科技学院,保定 071001)

**摘要:** 本试验旨在利用体外产气法研究饲料中性洗涤纤维(NDF)/淀粉对瘤胃甲烷产量的影响,确定饲料NDF/淀粉的最佳比值。本试验采用单因素试验设计,饲料NDF/淀粉分别设为0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2、2.3,共15个处理,每个处理5个重复,分析饲料NDF/淀粉对瘤胃24和48 h产气量、甲烷浓度、甲烷产量的影响。结果表明:1)饲料NDF/淀粉为0.8~1.2时,产气量高,甲烷产量低。饲料NDF/淀粉为1.2时,24和48 h甲烷产量最低。2)各饲料NDF/淀粉对产气量、甲烷浓度和甲烷产量均存在显著或极显著影响( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。3)由线性回归分析可知,饲料NDF/淀粉对24和48 h的甲烷浓度和甲烷产量呈极显著正相关关系( $P < 0.01$ ),与24和48 h产气量呈极显著负相关关系( $P < 0.01$ )。4)由线性回归分析可知,24 h甲烷产量与乙酸/丙酸呈显著正相关关系( $P < 0.05$ )。48 h甲烷产量与24 h甲烷产量、48 h甲烷浓度呈极显著正相关关系( $P < 0.01$ )。饲料NDF/淀粉与氨态氮( $\text{NH}_3\text{-N}$ )浓度呈极显著负相关关系( $P < 0.01$ )。24和48 h甲烷产量、饲料NDF/淀粉与体外参数具有强相关关系,相关系数分别为0.942、0.982和0.975。综上所述,饲料NDF/淀粉介于0.8~1.2甲烷减排效果较好。本试验条件下,饲料NDF/淀粉为1.2对甲烷减排效果最佳。饲料NDF/淀粉可以作为预测饲料体外发酵甲烷产量的指标。

**关键词:** 体外产气法;NDF/淀粉;瘤胃;甲烷;发酵参数

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)07-3251-09

甲烷作为第二大温室气体,增温潜势是二氧化碳( $\text{CO}_2$ )的21倍,在大气中可存留长达10年<sup>[1]</sup>。每年畜牧业的甲烷排放量占全球甲烷排放量的18%,是人类活动最大的甲烷排放源,其中反刍动物占畜牧业甲烷排放量的73%<sup>[2]</sup>。家畜甲烷排放除了带来环境问题,也会造成很大的能量损失(占饲料总能的2%~12%)<sup>[3]</sup>。因此,降低反刍动物甲烷排放对缓解全球变暖和提高饲料能量利用率具有重要意义。

反刍动物甲烷减排的研究已持续40余年<sup>[4]</sup>,

目前降低甲烷生成的调控措施主要集中在调整饲料组成、应用添加剂等<sup>[5]</sup>,但由于添加剂价格昂贵、安全性、耐药性、作用机制不明等原因导致甲烷减排的营养调控措施难以得到推广。研究表明,奶牛每日甲烷排放量随中性洗涤纤维(NDF)采食量的增加而提高<sup>[6]</sup>。与低淀粉饲料相比,奶牛采食高淀粉饲料可减少约1/3甲烷排放量<sup>[7]</sup>。并且通过体外法也得出,低淀粉饲料组(42.6 mL/g有机物)体外24 h甲烷产量极显著高于高淀粉饲料组(49.8 mL/g有机物)<sup>[8]</sup>。饲料非

收稿日期:2018-12-23

基金项目:河北省现代产业技术体系肉牛创新团队(HBCT2018130202);河北省科技厅科研专项(172276225D);国家现代农业产业技术体系(CARS-37)

作者简介:王增林(1992—),男,河北保定人,硕士研究生,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 18233322293@163.com

\*通信作者:李秋凤,教授,硕士生导师,E-mail: lqf582@126.com;曹玉凤,教授,硕士生导师,E-mail: cyf278@126.com

纤维性碳水化合物(NFC)/NDF与体外甲烷存在极显著正相关关系,但因相关系数较低,该比例不能作为体外甲烷预测的指标<sup>[9]</sup>。国内外对于NDF/淀粉在甲烷减排方面的研究未见报道。本研究旨在饲料粗蛋白质水平一致的前提下,利用体外产气法研究饲料NDF/淀粉对瘤胃甲烷产量的影响,从而确定饲料NDF/淀粉与甲烷产量的相关关系,以期为肉牛甲烷减排提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计

采用单因素试验设计,共设计15个处理,饲料NDF/淀粉分别为0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2和2.3,各处理饲料粗蛋白质水平(13.09%)一致,每个处理5个重复。饲料组成及营养水平见表1。

### 1.2 瘤胃液供体牛饲养管理

试验选取3头健康状况良好、胎次相同、体重、遗传性能相近、装有永久性瘤胃瘘管的泌乳中期荷斯坦奶牛为瘤胃供体动物,饲料配方参照NRC(2001)和牛场配方。试验牛散栏饲养,每天早、中、晚(06:00、14:00和19:30)饲喂全混合日粮,挤奶3次/d,自由饮水。饲料组成为:苜蓿4.30 kg、燕麦1.20 kg、全株玉米青贮21.00 kg、精料11.46 kg。

### 1.3 体外发酵装置

采用ANKOM RFS气体测量系统,该系统由压力传感器模块,250 mL产气瓶,带特定软件(设置区、实时监控区、记录区)的计算机和恒温培养箱等组成。试验前应先检查每个模块是否能正常工作,并检测系统的严密性。

### 1.4 体外发酵缓冲液的制备

人工瘤胃缓冲液参照Goering等<sup>[10]</sup>的方法进行配制。取520.2 mL蒸馏水+0.1 mL微量元素溶液(A)+208.1 mL缓冲溶液(B)+208.1 mL常量元素溶液(C)+1.0 mL刃天青溶液(D),持续充入CO<sub>2</sub>气体并升温至39℃后,最后加入62.4 mL还原剂溶液(E)并继续充入CO<sub>2</sub>气体,直至缓冲液从淡蓝色转变为近无色即可。

### 1.5 体外发酵程序

试验前1天,将准确称量1 g饲料底物(干物质)放入250 mL产气瓶中。试验当天,于晨饲前2 h采集3头供体牛瘤胃液1 000 mL,经4层纱布

过滤到预先通有CO<sub>2</sub>的保温杯(39℃)中,密封保存,迅速带回实验室;将人工瘤胃缓冲液和瘤胃液按体积比4:1混合均匀,准确量取150 mL混合液移入提前39℃预热60 min的产气瓶中(边操作边通CO<sub>2</sub>),继续向每个培养瓶中持续通入CO<sub>2</sub> 2 min,保持厌氧,立即拧紧各产气瓶对应的传感器模块。将接种好的培养瓶置于39℃的气浴摇床中进行体外发酵,48 h后终止发酵,同时做空白试验。

## 1.6 测定指标

### 1.6.1 产气量测定

计算机自动记录培养24和48 h产气发酵瓶发酵产生的压力,由气压能转换成气体体积。根据理想气体方程,计算产气量:

$$V_x = V_j \times P_{\text{psi}} \times 0.068\ 004\ 084.$$

式中: $V_x$ 为39℃产气体积(mL); $V_j$ 为产气瓶顶部空间体积(mL); $P_{\text{psi}}$ 为气体测量系统自动记录的压强(kPa)。

所得产气量减去空白产气瓶的产气量,即为各发酵瓶实际产气量。

### 1.6.2 甲烷浓度测定

发酵初,模块排气孔接上已抽真空、氮气冲洗过的气袋(中国,光明化工研究设计院)收集产气瓶的气体;发酵24和48 h时用密封气体进样针(美国,安捷伦)采集气袋内的气体,立即用安捷伦7890A气相色谱仪(美国)测定24和48 h的甲烷浓度。每次测定样品前应先使用26.36 mg/m<sup>3</sup>的甲烷标准气体进行校正。色谱柱为GS-GASPRO(30 m×0.32 mm),色谱条件:载气为99.999%,高纯氮气,燃气为99.999%,纯氢气,空气为助燃气。柱温70℃,前进样口温度50℃,后进样口温度为375℃,FID检测器(美国,安捷伦)温度为200℃。进样量为1 mL,空气流速为400 mL/min,氢气流速为30 mL/min,氮气流速为25 mL/min。进样量为1 mL,分流比为20:1。

## 1.7 数据统计分析

试验数据先经Excel 2010初步处理后,再用SPSS 19.0软件中ANOVA程序进行方差分析,并用Duncan氏法进行各组间多重比较。试验结果用“平均值±标准差”表示。应用SPSS 19.0软件中的曲线估计和线性回归(逐步法)进行相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

表 1 饲料组成及营养水平(干物质基础)  
Table 1 Composition and nutrient levels of diets (DM basis)

项目	处理 Treatments														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
原料 Ingredients															
麸皮 Wheat bran	10.00	10.00	10.00	10.00	10.10	17.00	16.50	15.00	14.50	12.60	18.90	17.30	15.70	15.00	13.80
甜菜颗粒 Beet grain	10.00	10.00	10.00	10.00	10.10	17.00	16.40	14.40	13.40	12.00	18.80	17.30	15.50	15.00	12.80
压片玉米 Steam-flaked com	20.00	20.00	19.00	19.00	18.20	10.00	10.00	10.50	11.00	11.70	2.80	3.60	4.90	4.60	5.60
玉米 Corn	19.40	18.50	18.80	18.00	18.20	8.60	8.60	10.00	10.00	11.00	2.80	3.60	4.20	4.60	5.50
豆粕 Soybean meal	5.30	5.60	6.10	6.50	6.60	4.00	4.40	5.00	5.60	6.40	3.40	4.10	4.90	5.40	6.00
干酒糟和其可溶物 DDGS	5.30	5.90	6.10	6.50	6.80	3.40	4.10	5.10	5.50	6.30	3.30	4.10	4.80	5.40	6.30
全株玉米青贮 Whole corn silage	20.00	14.00	8.00	2.00	0.20	30.00	24.00	18.00	12.00	6.00	40.00	34.00	28.00	22.00	16.00
谷草 Millet straw	6.00	12.00	18.00	24.00	29.60	6.00	12.00	18.00	24.00	30.00	6.00	12.00	18.00	24.00	30.00
羊草 Chinese wildrye	4.00	4.00	4.00	4.00	0.20	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
精粗比 C/F	70:30	70:30	70:30	70:30	70:30	60:40	60:40	60:40	60:40	60:40	50:50	50:50	50:50	50:50	50:50
营养水平 Nutrient levels															
粗蛋白 CP	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09
粗脂肪 EE	3.02	2.82	2.63	2.43	2.32	2.84	2.66	2.52	2.35	2.18	2.79	2.63	2.47	2.29	2.15
中性洗涤纤维 NDF	29.86	32.19	34.46	36.74	37.65	36.75	38.76	40.07	41.87	43.19	40.74	42.13	43.37	45.33	46.64
酸性洗涤纤维 ADF	14.79	16.51	18.22	19.93	21.15	18.71	20.28	21.49	22.95	24.24	21.23	25.52	23.75	25.31	26.50
淀粉 Starch	38.33	36.46	34.69	32.89	32.19	28.52	27.11	26.72	25.67	25.11	22.70	22.13	21.78	20.40	20.09
中性洗涤纤维/淀粉 NDF/starch	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.2	2.3

## 2 结果与分析

### 2.1 饲粮 NDF/淀粉对产气量的影响

由表 2 可知,体外发酵 48 h 结束后,各处理产气量、甲烷浓度、甲烷产量随培养时间的延长而增加。体外培养 24 h 时,饲粮 NDF/淀粉为 0.8 的处理产气量极显著高于其他处理 ( $P<0.01$ ),甲烷浓度极显著低于其他处理 ( $P<0.01$ )。比值为 1.2 的

处理甲烷产量极显著低于其他处理 ( $P<0.01$ )。体外培养 48 h 时,饲粮 NDF/淀粉为 0.8 的处理产气量极显著高于其他处理 ( $P<0.01$ ),其甲烷浓度显著低于比值为 1.2 的处理甲烷浓度 ( $P<0.05$ ),两者极显著低于其他处理 ( $P<0.01$ )。比值为 1.2 的处理甲烷产量显著低于比值为 0.8 的处理甲烷产量 ( $P<0.05$ ),两者极显著低于其他处理 ( $P<0.01$ )。

表 2 饲粮 NDF/淀粉对产气量的影响

Table 2 Effects of dietary neutral detergent fiber to starch ratio on gas production

项目 Items	处理 Treatments							P 值 P-value	
	1	2	3	4	5	6	7		
NDF/淀粉 NDF/starch	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4		
24 h 产气量 Gas production at 24 h/(mL/g)	146.36 ±2.28 <sup>Aa</sup>	132.38 ±3.85 <sup>Bb</sup>	113.19 ±1.58 <sup>Dd</sup>	121.92 ±5.49 <sup>Cc</sup>	129.17 ±0.70 <sup>Bb</sup>	105.17 ±2.26 <sup>DEc</sup>	129.83 ±0.76 <sup>Bb</sup>		
24 h 甲烷浓度 Methane concentration at 24 h/(mg/L)	179.63 ±0.15 <sup>Ll</sup>	204.15 ±1.75 <sup>Kk</sup>	240.40 ±2.01 <sup>li</sup>	222.58 ±1.93 <sup>lj</sup>	199.06 ±0.99 <sup>Kk</sup>	271.38 ±0.48 <sup>Hh</sup>	225.37 ±0.50 <sup>lj</sup>		
24 h 甲烷产量 Methane production at 24 h/(mL/m <sup>3</sup> )	18.68 ±0.13 <sup>Ll</sup>	19.11 ±0.12 <sup>Kk</sup>	19.40 ±0.10 <sup>Jj</sup>	19.63 ±0.03 <sup>li</sup>	18.31 ±0.01 <sup>Mm</sup>	20.77 ±0.04 <sup>Hh</sup>	20.85 ±0.02 <sup>Hh</sup>		
48 h 产气量 Gas production at 48 h/(mL/g)	157.41 ±0.35 <sup>Aa</sup>	135.14 ±4.90 <sup>Dd</sup>	140.53 ±1.34 <sup>Cc</sup>	130.48 ±0.41 <sup>Ec</sup>	152.12 ±1.17 <sup>Bb</sup>	142.97 ±0.12 <sup>Cc</sup>	134.97 ±0.24 <sup>Dd</sup>		
48 h 甲烷浓度 Methane concentration at 48 h/(mg/L)	186.99 ±0.38 <sup>Km</sup>	227.82 ±5.34 <sup>Lj</sup>	220.42 ±3.15 <sup>Jk</sup>	241.90 ±0.14 <sup>Hi</sup>	192.56 ±0.94 <sup>Kl</sup>	231.86 ±0.45 <sup>Lj</sup>	247.48 ±0.11 <sup>Hh</sup>		
48 h 甲烷产量 Methane production at 48 h/(mL/m <sup>3</sup> )	21.03 ±0.01 <sup>Mm</sup>	21.71 ±0.11 <sup>Ll</sup>	21.90 ±0.01 <sup>Lk</sup>	22.43 ±0.06 <sup>Kj</sup>	20.85 ±0.01 <sup>Mn</sup>	23.68 ±0.06 <sup>Ji</sup>	23.92 ±0.01 <sup>lh</sup>		
项目 Items	处理 Treatments							P 值 P-value	
	8	9	10	11	12	13	14		15
NDF/淀粉 NDF/starch	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.2	2.3	
24 h 产气量 Gas production at 24 h/(mL/g)	112.43 ±0.18 <sup>Dd</sup>	105.17 ±2.26 <sup>Ec</sup>	109.36 ±0.25 <sup>DEde</sup>	105.29 ±0.42 <sup>Ec</sup>	81.31 ±0.18 <sup>Gg</sup>	95.11 ±0.45 <sup>Ff</sup>	91.85 ±0.11 <sup>Ff</sup>	78.99 ±0.44 <sup>Gg</sup>	<0.01
24 h 甲烷浓度 Methane concentration at 24 h/(mg/L)	268.01 ±0.51 <sup>Hh</sup>	319.58 ±0.24 <sup>Ec</sup>	287.08 ±1.00 <sup>Gg</sup>	306.12 ±0.57 <sup>Ff</sup>	393.53 ±0.82 <sup>Bb</sup>	353.43 ±2.71 <sup>Dd</sup>	366.79 ±3.97 <sup>Cc</sup>	436.58 ±0.72 <sup>Aa</sup>	<0.01
24 h 甲烷产量 Methane production at 24 h/(mL/m <sup>3</sup> )	21.46 ±0.01 <sup>Gg</sup>	22.74 ±0.05 <sup>Ec</sup>	22.40 ±0.09 <sup>Ff</sup>	22.94 ±0.04 <sup>Dd</sup>	22.87 ±0.07 <sup>DEde</sup>	23.82 ±0.01 <sup>Bb</sup>	23.30 ±0.10 <sup>Cc</sup>	24.95 ±0.08 <sup>Aa</sup>	<0.01

续表 2

项目 Items	处理 Treatments								P 值 P-value
	8	9	10	11	12	13	14	15	
48 h 产气量 Gas production at 48 h/(mL/g)	120.68 ±0.64 <sup>Ff</sup>	122.80 ±0.75 <sup>Ff</sup>	115.11 ±0.11 <sup>Gg</sup>	114.59 ±0.61 <sup>Gg</sup>	85.71 ±0.42 <sup>Jj</sup>	105.17 ±0.76 <sup>Hh</sup>	97.22 ±0.77 <sup>Ii</sup>	80.33 ±0.90 <sup>Kk</sup>	<0.01
48 h 甲烷浓度 Methane concentration at 48 h/(mg/L)	285.73 ±1.22 <sup>Gg</sup>	303.67 ±5.61 <sup>Ff</sup>	334.63 ±0.57 <sup>Ee</sup>	332.42 ±0.69 <sup>Ee</sup>	482.37 ±0.28 <sup>Bb</sup>	386.27 ±1.19 <sup>Dd</sup>	424.35 ±0.52 <sup>Cc</sup>	521.65 ±4.62 <sup>Aa</sup>	<0.01
48 h 甲烷产量 Methane production at 48 h/(mL/m <sup>3</sup> )	24.44 ±0.01 <sup>Fg</sup>	25.88 ±0.01 <sup>Ff</sup>	27.14 ±0.08 <sup>De</sup>	27.02 ±0.01 <sup>De</sup>	29.30 ±0.18 <sup>Bb</sup>	28.37 ±0.07 <sup>Cd</sup>	28.56 ±0.11 <sup>Cc</sup>	29.94 ±0.01 <sup>Aa</sup>	<0.01

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 不同大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。下表同。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ), and with different capital letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.01$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P > 0.05$ ). The same as below.

## 2.2 饲料 NDF/淀粉对产气参数的相关性分析

与 24 和 48 h 甲烷浓度及 24 和 48 h 甲烷产量呈极显著正相关关系 ( $P < 0.01$ )。

由表 3 可知, 饲料 NDF/淀粉与体外发酵 24 和 48 h 产气量存在极显著负相关关系 ( $P < 0.01$ ),

表 3 饲料 NDF/淀粉对产气参数的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of dietary neutral detergent fiber to starch ratio on gas production parameters

项目 Items	<i>n</i>	P 值 P-value	<i>R</i> <sup>2</sup>	回归方程 Regression equation
饲料 NDF/淀粉与 24 h 产气量 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and gas production at 24 h ( <i>x</i> <sub>1</sub> , mL/g)	15	<0.01	0.781	$y = -36.068x_1 + 165.218$
饲料 NDF/淀粉与 48 h 产气量 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and gas production at 48 h ( <i>x</i> <sub>2</sub> , mL/g)	15	<0.01	0.824	$y = -44.538x_2 + 189.75$
饲料 NDF/淀粉与 24 h 甲烷浓度 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and methane concentration at 24 h ( <i>x</i> <sub>3</sub> , mg/L)	15	<0.01	0.869	$y = 152.85x_3 + 53.6$
饲料 NDF/淀粉与 48 h 甲烷浓度 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and methane concentration at 48 h ( <i>x</i> <sub>4</sub> , mg/L)	15	<0.01	0.847	$y = 205.51x_4 - 2.997$
饲料 NDF/淀粉与 24 h 甲烷产量 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and methane production at 24 h ( <i>x</i> <sub>5</sub> , mL/m <sup>3</sup> )	15	<0.01	0.903	$y = 4.126x_5 + 15.158$
饲料 NDF/淀粉与 48 h 甲烷产量 Dietary NDF/starch ( <i>y</i> ) and methane production at 48 h ( <i>x</i> <sub>6</sub> , mL/m <sup>3</sup> )	15	<0.01	0.923	$y = 6.468x_6 + 15.29$

## 2.3 24 和 48 h 甲烷产量和饲料 NDF/淀粉对发酵参数的相关性分析

利用 SPSS 19.0 统计分析软件中的线性回归 (逐步法) 分析, 分别建立 24 h 甲烷产量 (*y*<sub>1</sub>, mL/m<sup>3</sup>) 对 24 h 产气量、甲烷浓度和甲烷产量、干物质消失率 (DMD)、pH、氨态氮 (NH<sub>3</sub>-N)、微生物蛋白 (MCP)、乙酸、丙酸、丁酸、总挥发性脂肪酸 (TVFA)、乳酸浓度及乙酸/丙酸、饲料 NDF/

淀粉的多元回归模型以及 48 h 甲烷产量 (*y*<sub>2</sub>, mL/m<sup>3</sup>)、饲料 NDF/淀粉 (*y*<sub>3</sub>) 与所有发酵参数 (除拟合上述发酵参数外, 需与 48 h 产气量、甲烷浓度和甲烷产量一同拟合) 的多元回归模型。

由表 4 可见, 24 h 甲烷产量与饲料 NDF/淀粉呈极显著正相关关系 ( $P < 0.01$ ), 与乙酸/丙酸呈显著正相关关系 ( $P < 0.05$ )。48 h 甲烷产量与 24 h 甲烷产量、48 h 甲烷浓度呈极显著正相关关系 ( $P <$

0.01)。饲粮 NDF/淀粉与 48 h 甲烷产量呈极显著正相关关系 ( $P < 0.01$ ), 与  $\text{NH}_3\text{-N}$  浓度呈极显著负

相关关系 ( $P < 0.01$ )。

表 4 24 h 甲烷产量、48 h 甲烷产量和饲粮 NDF/淀粉对发酵参数的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of methane production of 24 and 48 h and dietary NDF to starch ratio on fermentation parameters

项目 Items	<i>n</i>	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<i>R</i> <sup>2</sup>	体外发酵参数 Fermentation parameters <i>in vitro</i>	回归方程 Regression equation
24 h 甲烷产量 Methane production at 24 h ( $y_1$ )	15	<0.01	0.942	饲粮 NDF/淀粉 ( $x_1$ )、 乙酸/丙酸 ( $x_2$ )、	$y_1 = 13.008 + 3.445x_1 + 1.529x_2$
48 h 甲烷产量 Methane production at 48 h ( $y_2$ )	15	<0.01	0.982	24 h 甲烷产量 ( $x_3$ )、 48 h 甲烷浓度 ( $x_4$ )、	$y_2 = 1.692 + 0.905x_3 + 0.013x_4$
饲粮 NDF/淀粉 Dietary NDF/starch ( $y_3$ )	15	<0.01	0.975	48 h 甲烷产量 ( $x_5$ )、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度 ( $x_6$ )	$y_3 = 1.813 + 0.09x_5 - 0.206x_6$

### 3 讨论

#### 3.1 饲粮 NDF/淀粉对体外产气参数的影响

产气量作为一个综合反映饲粮可发酵程度的重要指标,表现了瘤胃微生物活动的总体趋势,其产气量的多少反映了饲粮的可消化性大小,它与饲粮中有机物质的降解程度呈正相关,饲粮的发酵性越强,瘤胃微生物活性越高,产气量越大<sup>[11]</sup>。饲粮的营养成分对发酵产气量的贡献程度有不同。牧草发酵的主要产气来源是碳水化合物,粗蛋白质也会产气,但其贡献率低于碳水化合物,粗脂肪含量较少,对产气量贡献较小,矿物质元素在发酵时不产气<sup>[12]</sup>。汤少勋等<sup>[12]</sup>对 10 种牧草间的产气量与营养成分进行相关性分析,累计产气量与粗蛋白质含量呈极显著负相关关系。高巍等<sup>[13]</sup>研究发现,玉米秸秆青贮和苜蓿干草的中性洗涤可溶物(NDS)含量占累积产气量的绝大部分。汤少勋等<sup>[12]</sup>等认为,NDS 中的非结构性碳水化合物是体外产气量的主要贡献者,可降解粗蛋白质主要为微生物生长繁殖提供氮源,而不是产气。这说明试验中淀粉是体外产气量的主要影响因素。Coblentz 等<sup>[14]</sup>研究表明,高水平 NDF 体外 12、24、36 和 48 h 累积产气量与 NDF 水平呈负相关关系。本试验中各组产气量随培养时间的延长而增加,说明产气量自动记录装置运行正常,体外发酵状态正常进行。饲粮 NDF/淀粉与 24 和 48 h 产气量呈极显著负相关关系,其原因可能是随饲粮 NDF/淀粉的增加,易发酵碳水化合物含量逐渐减少,不足以提供微生物生长所需的碳源,进而导致其产

气量随饲粮 NDF 比值的增加而降低,这与朱丹等<sup>[15]</sup>研究结果一致。

#### 3.2 饲粮 NDF/淀粉对甲烷浓度和产量的影响

甲烷是瘤胃发酵产物之一。反刍动物甲烷排放很大程度取决于饲喂水平和饲粮组成,特别是碳水化合物类型<sup>[16]</sup>。报道称,源于纤维物质的甲烷排放量是可溶性碳水化合物的 3 倍<sup>[17]</sup>。赵一广<sup>[18]</sup>对饲粮营养成分与甲烷排放量的关系进行分析发现,饲粮 NDF、酸性洗涤纤维(ADF)含量与甲烷排放量呈极显著正相关关系,粗蛋白质含量与甲烷排放量呈显著负相关关系,粗脂肪含量与甲烷排放量关系不显著,利用有机物、粗蛋白质、粗脂肪、NDF 和 ADF 含量与甲烷建立的多元回归模型极大提高了甲烷估测的准确性。这说明甲烷主要源于瘤胃发酵纤维物质产生,多元回归模型则可反映出瘤胃甲烷的生成可能受多种营养物质的共同作用。试验中甲烷浓度和产量可能受多种营养物质的共同作用,各试验饲粮粗蛋白质水平一致,可认为饲粮纤维物质成为影响甲烷生成的主要因素。Bougouin 等<sup>[19]</sup>研究表明,淀粉性饲粮较纤维性饲粮更有利于减少甲烷排放,其主要体现在瘤胃发酵模式的改变。本试验饲粮 NDF/淀粉与 24 和 48 h 的甲烷浓度和甲烷产量呈极显著正相关关系,该结果和丁静美等<sup>[20]</sup>在肉绵羊上与赵勐<sup>[21]</sup>在奶牛上的研究结果一致。原因可能有 2 个方面:1) 甲烷排放受饲粮碳水化合物的影响,随 NDF 比值的提高,淀粉比值的降低,培养底物发酵模式的发生改变。2) 随 NDF 比值的提高,可改变瘤胃内优势菌落,促进原虫生长,而产甲烷菌依附

于原虫表面,原虫能够通过种间氢传递的方式促进产甲烷菌的生长,两者互为共生关系,原虫数量的增加,产甲烷菌随之增加,从而导致甲烷产量有所提高<sup>[19]</sup>。

### 3.3 24和48h甲烷产量和饲料NDF/淀粉对发酵参数的相关性分析

瘤胃NH<sub>3</sub>-N是饲料粗蛋白质、机体内源蛋白、非蛋白氮的分解产物,同时也是合成MCP的主要原料<sup>[22]</sup>。本试验中由线性回归分析可知,饲料NDF/淀粉与NH<sub>3</sub>-N浓度呈极显著负相关关系,这与付瑶等<sup>[23]</sup>研究结果一致。原因可能是随着饲料NDF/淀粉的增加,抑制了微生物的活性,从而导致NH<sub>3</sub>-N浓度的降低。

反刍动物甲烷排放与多种因素有关,如采食水平、饲料精粗比、碳水化合物类型、饲料加工方式等<sup>[24-25]</sup>。其中,饲料精粗比对甲烷排放量影响较大<sup>[20]</sup>,纤维成分在饲料精粗比中起主要作用<sup>[26]</sup>。冯仰廉等<sup>[27]</sup>指出瘤胃可发酵中性洗涤纤维与可发酵有机物质的比值(FNDF/FOM)对甲烷影响很大,中国农业大学采用呼吸室法测定甲烷排放量,得出FNDF/FOM与甲烷(L/FOM)高度相关。本试验中饲料NDF/淀粉与体外24和48h甲烷产量均呈高度相关关系,相关系数分别为0.903、0.923,且饲料NDF/淀粉与24和48h甲烷产量呈极显著正相关关系。本试验结果与郑文思等<sup>[9]</sup>的报道相似。

乙酸/丙酸是反映瘤胃发酵模式的重要指标,乙酸/丙酸与甲烷产量密切相关,当乙酸/丙酸为0.5时,饲料能损失为0,不产生甲烷;若瘤胃发酵全为乙酸,甲烷能损失可达33%<sup>[28]</sup>。研究证实,乙酸/丙酸与甲烷产量存在较高的正相关关系,若乙酸、丙酸浓度及乙酸/丙酸进行多元回归分析,则可提高乙酸、丙酸浓度预测甲烷的准确性<sup>[29]</sup>。本试验中24h甲烷产量与乙酸/丙酸呈显著正相关关系,且饲料NDF/淀粉与24和48h的甲烷浓度和甲烷产量呈极显著正相关关系。

### 3.4 24和48h甲烷预测模型的建立

目前,学术界对甲烷预测模型的建立存在较大争议。甲烷预测模型的建立,其目的是能够准确预测体内甲烷产量,从而解决饲养试验投入成本较大的问题。例如,从甲烷机理上建模,Wang等<sup>[30]</sup>构建了氢-甲烷的动力学模型。从微生物代谢上建模,Muñoz-Tamayo等<sup>[31]</sup>从瘤胃动力学的角

度构建了体外瘤胃发酵机理数学模型。Ramin等<sup>[32]</sup>用VFA化学计量法(发酵24、48h的VFA浓度)预测的甲烷产量与实测甲烷产量(发酵24、48h)存在强相关性。Macome等<sup>[33]</sup>研究表明,体外产气和甲烷参数不能对体内甲烷数据进行准确预测。Danielsson等<sup>[34]</sup>与Macome等<sup>[33]</sup>的观点相悖,体外产气系统能够预测甲烷产量,但预测值微低于体内测定值。郑文思等<sup>[9]</sup>研究表明,高精料下饲料NSC/NDF不能作为准确预测体外甲烷的指标。本试验(饲料NDF/淀粉介于0.8~2.3)通过多元回归分析发现24h甲烷产量与体外发酵参数呈强相关关系,相关系数为0.942,该结果与周艳<sup>[35]</sup>研究结果相似。由此说明饲料NDF/淀粉可以作为预测饲料体外发酵甲烷产量的指标。

## 4 结论

① 本试验NDF/淀粉为0.8~1.2时,产气量高,甲烷产量低。饲料NDF/淀粉为1.2时,甲烷减排效果最佳。

② 饲料NDF/淀粉与体外发酵24和48h的甲烷浓度和产量存在极显著正相关关系,相关系数较高,且24和48h甲烷产量和饲料NDF/淀粉与体外参数具有显著相关关系,相关系数分别为0.942、0.982、0.975。

③ 饲料NDF/淀粉可以作为预测饲料体外发酵甲烷产量的指标。

④ 24h体外甲烷产量预测模型:24h甲烷产量(mL/m<sup>3</sup>) = 13.008 + 3.445 × 饲料NDF/淀粉 + 1.529 × 乙酸/丙酸,适宜估测区间为18.97~24.70 mL/m<sup>3</sup>。

## 参考文献:

- [1] MOSS A R, JOUANY J P, NEWBOLD J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming[J]. *Annales de Zootechnie*, 2000, 49(3): 231-253.
- [2] RODRIGUES P H M. Control and manipulation of ruminal fermentation[M]//MILLEN D D, DE BENI ARRIGONI M, PACHECO R D L. *Rumenology*. Cham: Springer, 2016: 157-187.
- [3] JOHNSON K A, JOHNSON D E. Methane emissions from cattle[J]. *Journal of Animal Science*, 1995, 73(8): 2483-2492.
- [4] 李宗军. 瘤胃丙酸发酵的增强策略及其对碳水化合

- 物代谢的动态影响[D].博士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2018;8-19.
- [5] 程胜利,肖玉萍,杨保平,等.反刍动物甲烷排放现状及调控技术研究进展[J].中国草食动物科学,2013,33(5):56-59.
- [6] AGUERRE M J, WATTIAUX M A, POWELL J M, et al. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(6):3081-3093.
- [7] PHILIPPEAU C, LETTAT A, MARTIN C, et al. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal characteristics, methane emission, and milk fatty acid composition in cows fed high- or low-starch diets [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(4):2637-2650.
- [8] HATEW B, CONE J W, PELLIKAAN W F, et al. Relationship between *in vitro* and *in vivo* methane production measured simultaneously with different dietary starch sources and starch levels in dairy cattle [J]. Animal Feed Science and Technology, 2015, 202:20-31.
- [9] 郑文思,赵广永,张婷婷,等.应用体外发酵法研究高精料饲料 NSC/NDF 与甲烷产量之间的关系 [J]. 动物营养学报, 2013, 25(10):2315-2324.
- [10] GOERING H K, VAN SOEST P J. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some application) [M]. Washington, D. C.: US Agricultural Research Service, 1970:1-20.
- [11] 王全军,毛胜勇,张红霞,等.半胱胺对山羊瘤胃微生物体外发酵的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2002(6):535-539.
- [12] 汤少勋,姜海林,周传社,等.不同牧草品种对体外发酵产气特性的影响 [J]. 草业学报, 2005, 14(3):72-77.
- [13] 高巍,王新峰,潘晓亮,等.玉米秸青贮与黄贮及苜蓿干草的体外动态消化研究 [J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2002, 6(3):222-225.
- [14] COBLENTZ W K, NELLIS S E, HOFFMAN P C, et al. Unique interrelationships between fiber composition, water-soluble carbohydrates, and *in vitro* gas production for fall-grown oat forages [J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(11):7195-7209.
- [15] 朱丹,张佩华,赵劭,等.不同中性洗涤纤维与淀粉比例饲料对体外瘤胃发酵的影响 [J]. 动物营养学报, 2015, 27(8):2580-2588.
- [16] BEAUCHEMIN K A, KREUZER M, O'MARA F, et al. Nutritional management for enteric methane abatement; a review [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2008, 48(2):21-27.
- [17] MOSS A R, GIVENS D I, GARNSWORTHY P C. The effect of alkali treatment of cereal straws on digestibility and methane production by sheep [J]. Animal Feed Science and Technology, 1994, 49(3/4):245-259.
- [18] 赵一广.肉用绵羊甲烷排放的测定与估测模型的建立 [D]. 硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2012.
- [19] BOUGOUIN A, FERLAY A, DOREAU M, et al. Effects of carbohydrate type or bicarbonate addition to grass silage-based diets on enteric methane emissions and milk fatty acid composition in dairy cows [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(7):6085-6097.
- [20] 丁静美,成述儒,邓凯东,等.不同中性洗涤纤维与非纤维性碳水化合物比值饲料对肉用绵羊甲烷排放的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29(3):806-813.
- [21] 赵劭.日粮中性洗涤纤维和淀粉比例调控奶牛乳成分合成与瘤胃代谢机制研究 [D]. 博士学位论文.北京:中国农业科学院,2015:1-42.
- [22] 索效军,张年,杨前平,等.花生藤替代颗粒型全混合日粮中苜蓿对湖北黑头羊生长性能、瘤胃发酵及血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(2):865-873.
- [23] 付瑶,史仁煌,王雅晶,等.体外法研究不同水平中性洗涤纤维日粮对泌乳高峰期奶牛瘤胃发酵和产气量的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(7):46-50.
- [24] 周怿,刁其玉.反刍动物瘤胃甲烷气体生成的调控 [J]. 草食家畜, 2008(4):21-24.
- [25] 娜仁花.不同日粮对奶牛瘤胃甲烷及氮排放的影响研究 [D]. 博士学位论文.北京:中国农业科学院,2010:3-6.
- [26] 丁静美,邓凯东,成述儒,等.反刍动物饲料纤维组分与甲烷排放的研究进展 [J]. 家畜生态学报, 2016, 37(11):1-5, 10.
- [27] 冯仰廉,李胜利,赵广永,等.牛甲烷排放量的估测 [J]. 动物营养学报, 2012, 24(1):1-7.
- [28] MILLER T L, WOLIN M J, ZHAO H X, et al. Characteristics of methanogens isolated from bovine rumen [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 51(1):201-202.
- [29] 韩继福,冯仰廉,张晓明,等.阉牛不同日粮的纤维消化、瘤胃内 VFA 对甲烷产生量的影响 [J]. 中国兽医学报, 1997, 17(3):278-280.
- [30] WANG Y C, JANSSEN P H, LYNCH T A, et al. A mechanistic model of hydrogen-methanogen dynamics in the rumen [J]. Journal of Theoretical Biology, 2016, 393:75-81.
- [31] MUÑOZ-TAMAYO R, GIGER-REVERDIN S, SAUVANT D. Mechanistic modelling of *in vitro* fermentation and methane production by rumen microbiota [J]. Animal Feed Science and Technology, 2016, 220:1-21.
- [32] RAMIN M, HUHTANEN P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system—A modelling approach [J]. Animal Feed Science and Technology, 2012, 174(3/4):190-200.
- [33] MACOME F M, PELLIKAAN W F, SCHONEWILLE

J T, et al. *In vitro* rumen gas and methane production of grass silages differing in plant maturity and nitrogen fertilisation, compared to *in vivo* enteric methane production [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 230: 96–102.

[34] DANIELSSON R, RAMIN M, BERTILSSON J, et al.

Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo* [J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(11): 8881–8894.

[35] 周艳. 肉用绵羊生长期甲烷排放规律研究[D]. 硕士学位论文. 阿拉尔: 塔里木大学, 2018.

## Effects of Dietary Neutral Detergent Fiber to Starch Ratio on Methane Production Using *in Vitro* Gas Production Technique

WANG Zenglin SUN Xueli LIU Taotao LI Qiufeng\* CAO Yufeng\* NU Jiankang  
WANG Meimei CHEN Panliang BAI Dayang

(College of Animal Science and Technology, Hebei Agriculture University, Baoding 071001, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effects of dietary neutral detergent fiber to starch ratio (NDF/starch) on rumen methane production using *in vitro* gas production technique. The single factor experiment was screened for the optimal NDF/starch. The NDF/starch in 15 treatments were 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.2 and 2.3, with 5 replicates in each treatment, respectively. *In vitro* gas production method was performed to analyze gas production, methane concentration and methane production at 24 and 48 h. The results showed as follows: 1) the gas production of dietary NDF/starch between 0.8 and 1.2 was higher, methane production was lower. The methane yield of dietary NDF/starch of 1.2 was the lowest. 2) Dietary NDF and starch at different ratios had significant effects on gas production, methane concentration and methane production ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). 3) The linear regression analysis showed that significantly positive relationships were found between dietary NDF/starch and the methane concentration and production at 24 and 48 h ( $P < 0.01$ ), and significantly negative relationships were found between dietary NDF/starch and the gas production at 24 and 48 h ( $P < 0.01$ ). 4) The linear regression analysis showed that significantly positive relationships was found between the methane production at 24 h and acetic acid/propionic acid ( $P < 0.05$ ). It was showed that significantly positive relationships were found between the methane production at 24 and 48 h, the methane concentration at 48 h. Significantly negative relationships were found between dietary NDF/starch and ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) concentration ( $P < 0.01$ ). The methane production at 24 and 48 h, dietary NDF/starch were strongly related to parameters *in vitro*, regression coefficients were 0.942, 0.982 and 0.975, respectively. It is concluded that dietary NDF/starch between 0.8 and 1.2 can promote methane emission reduction, and the effect is the best when dietary NDF/starch is 1.2 under the present experimental conditions. The high regression coefficients indicate that *in vitro* methane production can be predicted merely based dietary NDF/starch. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(7): 3251-3259]

**Key words:** *in vitro* gas production technique; dietary neutral detergent fiber to starch ratio; rumen; methane; fermentation parameters

\* Corresponding authors: Li Qiufeng, professor, E-mail: lqf582@126.com; CAO Yufeng, professor, E-mail: cyf278@126.com