

# 不同实验室间测定单胃动物饲料样品总能的一致性及其可加性研究

张晋源<sup>1,2</sup> 王钰明<sup>2</sup> 杜中原<sup>2</sup> 董莹<sup>3</sup> 李黛淋<sup>4</sup> 王跃丽<sup>5</sup> 黄庆华<sup>6</sup>  
杜青之<sup>7</sup> 黄艳玲<sup>1\*</sup> 赵峰<sup>2\*</sup>

(1.西南民族大学畜牧兽医学院,成都 610041;2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193;3.温氏食品集团股份有限公司,云浮 527400;4.新希望六和股份有限公司,北京 100102;  
5.唐人神集团股份有限公司,株洲 412000;6.青岛蔚蓝生物股份有限公司,青岛 266000;  
7.湖南中本智能科技有限公司,长沙 410013)

**摘要:**本研究旨在比较不同实验室间测定饲料总能(GE)的变异程度及其可加性,为饲料有效能值的准确测定提供参考。试验分为2个部分。内容一:考察饲料的上样量对氧弹热量计测定GE值的影响,采用单因素完全随机设计,6个饲料原料分别为玉米、豆粕、小麦麸、大豆油、菜籽粕、棉籽粕,10个饲料上样量共计5个处理,分别设为0.2、0.4、0.6、0.8和1.0 g,每个处理4个重复。内容二:考察实验室间测定饲料GE的变异及其可加性。采用单因素完全随机设计,共6个实验室,每个实验室对各样品测定4个重复。结果表明:6个饲料原料及10个饲料GE的测定值均随上样量的增加而呈显著线性和二次曲线增加( $P<0.05$ )。0.2 g上样量的GE测定值均显著低于0.4~1.0 g上样量相应的GE测定值( $P<0.05$ )。在0.6~1.0 g上样量间,样品GE测定值相对差异较小。在6个实验室对比中,96个测定数据中的91个的 $|Z|<2$ 。h统计量表明,实验室2的测定结果偏低,而实验室5的测定结果偏高。k统计量表明,实验室5和6的测定变异相对较大。总体上,GE测定的重复性变异系数、实验室间变异系数及再现性变异系数不超过0.64%。配对t检验表明,实验室1、3、5和6对10个饲料GE的计算值与测定值差异不显著。而实验室2和4对10个饲料GE的计算值与测定值差异显著( $P<0.05$ )。6个实验室内饲料的GE测定值对计算值的线性回归模型与 $Y=X$ 重叠。由此表明,氧弹热量计测定GE的上样量应在0.6 g以上。6个实验室间测定饲料GE值呈现较好的一致性(94.8%的满意度),实验室间的变异系数均较低。4个实验室测定饲料GE的可加性高,2个实验室的可加性稍低。

**关键词:** 饲料;总能;变异系数;可加性

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)06-3581-11

无论是生物学法或体外消化法评定饲料的有效能值,饲料、粪、尿样及未消化残渣的总能(GE)都是必需测定的数据,其变异可能直接影响有效能值的准确性,从而影响不同实验室测定饲料有效能值的可比性。因此,比较不同实验室间在样

品GE测定上的差异程度非常重要。目前,在GE的测定上,我国仅有煤的发热量测定国家标准(GB/T 213—2008)<sup>[1]</sup>。而动物饲料及粪、尿样品GE的测定参考国际标准(ISO 9831:1998)<sup>[2]</sup>,其实验室间的重复性变异系数和再现性变异系数因

收稿日期:2020-11-24

基金项目:国家自然科学基金项目(31501977);西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金项目(2021PYXM01);温氏食品集团股份有限公司合作项目(2018-YF-01);新希望六和股份有限公司合作项目(2020-YF-04)

作者简介:张晋源(1997—),男,重庆人,硕士研究生,从事饲料养分生物学效价评定的研究。E-mail: 1151615822@qq.com

\*通信作者:黄艳玲,教授,硕士生导师,E-mail: swunylh@163.com;赵峰,研究员,博士生导师,E-mail: zhaofeng@caas.cn

样品不同分别在 0.09%~2.10% 和 0.59%~4.71% 变化。Bourdillon 等<sup>[3-4]</sup>的试验结果表明,不同实验室测定饲料 GE 的变异系数因样品不同在 0.29%~1.79% 变异。Pérez 等<sup>[5]</sup>也得出不同实验室测定饲料 GE 的变异系数为 1.0%。然而,在上述试验中,用于测定 GE 的氧弹热量计型号未详细列出。Sibbald 等<sup>[6]</sup>发现同一氧弹热量计在不同的测定模式下 GE 的测定值存在较大差异。杜中原等<sup>[7]</sup>的数据表明,在同一实验室条件下不同生产商提供的氧弹热量计在测定饲料、粪样的 GE 及变异程度上均存在明显的差异。这些客观存在的变

异必将导致不同实验室间测定 GE 存在更大的变化,然而,其变异程度鲜见相关报道。为此,本研究在 6 个实验室间使用 2 种氧弹热量计测定饲料样品的 GE,从而比较不同实验室间 GE 测定的差异及变异程度,为饲料 GE 的测定准确度提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 饲料原料及饲料

选用玉米、小麦麸、豆粕、菜籽粕、棉籽粕、大豆油为代表性饲料原料样品,其概略养分见表 1。

表 1 饲料原料的概略养分(绝干基础)

Table 1 Proximate nutrients of feed ingredients (absolute dry basis)

项目 Items	干物质 Dry matter	粗蛋白质 Crude protein	粗脂肪 Ether extract	粗灰分 Ash
玉米 Corn	89.96	8.64	3.66	1.09
小麦麸 Wheat bran	89.97	18.65	4.46	6.98
大豆油 Soybean oil	99.00		98.00	
豆粕 Soybean meal	91.90	46.85	2.15	6.60
棉籽粕 Cottonseed meal	91.55	47.54	1.95	6.84
菜籽粕 Rapeseed meal	91.09	35.81	8.03	7.09

大豆油数据来源于中国饲料数据库<sup>[8]</sup>,其他数据为实测值。

The data of soybean oil cited from China Feed Database<sup>[8]</sup>, and the other data were determined values.

饲料 1~5 由玉米、小麦麸、豆粕、菜籽粕、棉籽粕、大豆油以及膨润土中的 2~7 种原料组成,形成一系列 GE 梯度相差约 0.418 MJ/kg 的饲料;饲料 6~10 在饲料 1~5 基础上添加 4% 的预混料(维生素和微量元素的添加量参考王亚等<sup>[9]</sup>)等比例替代原饲料,其组成见表 2。除大豆油外,所有样品粉碎(粉碎机型号:XT-A400;生产商:永康市红太阳机电)后过 40 目方形筛孔,于-20℃密封保存备用。

### 1.2 试验设计

本试验分为 2 个部分。内容一:考察饲料的上样量对氧弹热量计测定 GE 值的影响,以确定 GE 测定值相对稳定的适宜上样量。对 6 个饲料原料和 10 个饲料采用单因素完全随机设计,上样量设 5 个处理水平,即 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 g,每个处理采用 PARR-6400 氧弹热量计重复测定 4 次。内容二:考察 6 个实验室测定饲料原料、饲料 GE 的实验室间变异度及饲料原料间 GE 的可加性。根据内容一结果上样量统一为 0.8 g。采用单因素完全随机设计,将 6 个饲料原料和 10 个饲料

各 100 g 发至 6 个实验室。其中实验室 1~4 采用 PARR-6400 型氧弹热量计,实验室 5、6 采用 IKA C-2000 型氧弹热量计。各实验室对每个样品测定 4 个重复。

### 1.3 测定指标与方法

按 GB/T 6435—2014<sup>[10]</sup>测定样品的水分含量并计算其干物质含量。按 GB/T 6432—2018<sup>[11]</sup>、GB/T 6433—2006<sup>[12]</sup>、GB/T 6438—2007<sup>[13]</sup>测定饲料的粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分含量。饲料及饲料的 GE 的测定根据 ISO 9831:1998<sup>[2]</sup>的方法进行。考虑到粉状样品在燃烧时容易抛洒,从而导致燃烧不充分的几率增加,因此,采用 Whatman 镜头纸(型号:2105-841)包裹饲料样品。在测样前,先称量 10 张镜头纸的总重量(>0.7 g),然后在氧弹热量计中测定镜头纸的 GE 值。测定样品 GE 时分别称量镜头纸和样品的质量,在氧弹热量计的参数中输入镜头纸的质量及每克的能值,以便测定样品 GE 时予以扣除。所有实验室按照相同说明进行操作。

表2 饲料组成(绝干基础)

Table 2 Composition of diets (absolute dry basis)

%

项目 Items	饲料 Diets									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
玉米 Corn	71.57	69.88	62.90	59.58	61.50	68.59	66.97	60.31	57.10	58.95
豆粕 Soybean meal	28.43	27.76	24.99	15.22	24.43	27.25	26.60	23.95	14.58	23.41
麦麸 Wheat bran			5.58	12.62	5.45			5.34	12.10	5.23
大豆油 Soybean meal			6.53	2.50	6.38			6.26	2.40	6.12
菜籽粕 Rapeseed meal				5.03					4.82	
棉籽粕 Cottonseed meal				5.05					4.84	
膨润土 Bentonite		2.36			2.24		2.27			2.15
预混料 Premix						4.16	4.16	4.14	4.16	4.14
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 1 500 IU, VD<sub>3</sub> 170 IU, VE 11 IU, VK<sub>3</sub> 0.5 mg, VB<sub>1</sub> 1.0 mg, VB<sub>2</sub> 2.5 mg, VB<sub>6</sub> 1.0 mg, VB<sub>12</sub> 11 μg, 泛酸 pantothenic acid 8.0 mg, 烟酸 nicotinic acid 10.0 mg, 叶酸 folic acid 0.3 mg, 生物素 biotin 0.05 mg, 氯化胆碱 choline chloride 350 mg, Cu (as copper sulfate) 4.5 mg, Fe (as ferrous sulfate) 70 mg, Zn (as zinc sulfate) 70 mg, Mn (as manganese sulfate) 3 mg, Se (as sodium selenite) 0.3 mg, I (as calcium iodate) 0.14 mg, NaCl 3 g, 石粉 limestone 9.1 g, 磷酸氢钙 CaHPO<sub>4</sub> 7.8 g, 膨润土 bentonite 18.1 g。

## 1.4 数据处理与统计分析

饲料 GE 计算值公式如下:

$$GE = \sum_{k=1}^n G_k P_k$$

式中:  $G_k$  为某组分的 GE 值(干物质基础);  $P_k$  为组分在该饲料中的比例(干物质基础)。

采用 SAS 9.2 的 MEANS 模块计算基本统计量。根据单因素试验设计的原理,用 GLM 模块分析上样量对 GE 测定值的差异,并采用 Contrast 语句进行 GE 测定值对上样量的一次、二次关系检验。根据 GB/T 28043—2019<sup>[14]</sup> 和吴旻<sup>[15]</sup> 的描述计算稳健统计 Z 比分数。根据 GB/T 6379.2—2004<sup>[16]</sup> 的描述计算实验室间一致性检验统计量曼德尔 h 和 k 值,并计算 GE 测定值的重复性、实验室间及再现性变异系数。通过 GLM 模型分析实验室间 GE 测定值的差异显著性;采用 REG 模块将饲料 1~10 实测的 GE 值对计算的 GE 进行线性回归,采用 TEST 语句检验斜率与 1,截距与 0 的差异显著性;采用配对 TTEST 检验 GE 计算值与测定值的差异显著性。从而检验饲料原料间 GE 测定值在饲料中是否可加。统计量的计算公式<sup>[16]</sup> 如下:

$$h_{ij} = \frac{\bar{y}_{ij} - \bar{y}_j}{\sqrt{\frac{1}{p_j - 1} \sum_{i=1}^{p_j} (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_j)^2}}$$

$$k_{ij} = \frac{S_{ij} \sqrt{P_j}}{\sqrt{\sum S_{ij}^2}}$$

$$\text{重复性标准差}(S_{rj}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (n_{ij} - 1) S_{ij}^2}{\sum_{i=1}^p (n_{ij} - 1)}}$$

$$\text{实验室间标准差}(S_{Lj}) = \sqrt{\frac{S_{dj}^2 - S_{rj}^2}{\bar{n}_j}}$$

$$\text{其中, } S_{dj}^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_j)^2$$

$$\text{再现性标准差}(S_{Rj}) = \sqrt{S_{rj}^2 - S_{Lj}^2}$$

$$\text{变异系数}(CV) = \frac{S}{\bar{Y}_j} \times 100\%$$

式中:  $y_{ij}$  为某样品实验室内单个测定值;  $\bar{y}_{ij}$  为某样品实验室内测定值的平均值;  $P_j$  为实验室数量;  $S_{ij}$  为实验室内标准差;  $n_{ij}$  为实验室内测定重复数。

## 2 结果与分析

### 2.1 上样量对饲料样品 GE 测定值的影响

由表 3 可知,6 个饲料原料及 10 个饲料的 GE 测定值均随上样量的增加而呈显著线性和二次曲线增加( $P < 0.05$ )。0.2 g 上样量样品的 GE 测定值均显著低于 0.4~1.0 g 上样量相应的 GE 测定值( $P < 0.05$ )。除大豆油和饲料 3 以外,0.4 g 上样

量测定的样品 GE 测定值均显著低于 0.8~1.0 g 上样量间,样品 GE 测定值相对差异较小。上样量相应的 GE 测定值 ( $P<0.05$ )。在 0.6~1.0 g

表 3 不同样品的上样量对 GE 测定值的影响

Table 3 Effects of sample volume on measured values of GE in different samples MJ/kg DM

项目 Items	上样量 Sample volume/g					SEM	P 值 P-value		
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0		方差 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
玉米 Corn	17.94 <sup>c</sup>	18.31 <sup>b</sup>	18.43 <sup>a</sup>	18.47 <sup>a</sup>	18.50 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
豆粕 Soybean meal	19.12 <sup>c</sup>	19.35 <sup>b</sup>	19.42 <sup>ab</sup>	19.46 <sup>a</sup>	19.46 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	0.000 4
小麦麸 Wheat bran	18.48 <sup>d</sup>	18.64 <sup>c</sup>	18.76 <sup>b</sup>	18.81 <sup>ab</sup>	18.86 <sup>a</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	0.007 0
大豆油 Soybean oil	39.54 <sup>b</sup>	39.69 <sup>a</sup>	39.81 <sup>a</sup>	39.76 <sup>a</sup>	39.77 <sup>a</sup>	0.05	0.007 3	0.002 8	0.017 4
菜籽粕 Rapeseed meal	20.35 <sup>c</sup>	20.58 <sup>b</sup>	20.66 <sup>ab</sup>	20.72 <sup>a</sup>	20.72 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	0.001 0
棉籽粕 Cottonseed meal	19.05 <sup>c</sup>	19.28 <sup>b</sup>	19.38 <sup>a</sup>	19.41 <sup>a</sup>	19.42 <sup>a</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 1 Diet 1	18.46 <sup>c</sup>	18.58 <sup>b</sup>	18.68 <sup>a</sup>	18.71 <sup>a</sup>	18.74 <sup>a</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	0.002 8
饲料 2 Diet 2	17.91 <sup>d</sup>	18.23 <sup>c</sup>	18.27 <sup>b</sup>	18.31 <sup>a</sup>	18.28 <sup>ab</sup>	0.01	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 3 Diet 3	19.63 <sup>b</sup>	20.05 <sup>a</sup>	20.11 <sup>a</sup>	20.10 <sup>a</sup>	20.10 <sup>a</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 4 Diet 4	19.05 <sup>c</sup>	19.31 <sup>b</sup>	19.45 <sup>a</sup>	19.46 <sup>a</sup>	19.47 <sup>a</sup>	0.04	<0.000 1	<0.000 1	0.000 3
饲料 5 Diet 5	19.09 <sup>d</sup>	19.51 <sup>c</sup>	19.61 <sup>b</sup>	19.69 <sup>a</sup>	19.66 <sup>ab</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 6 Diet 6	17.26 <sup>d</sup>	17.60 <sup>c</sup>	17.74 <sup>b</sup>	17.79 <sup>ab</sup>	17.86 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 7 Diet 7	17.08 <sup>c</sup>	17.34 <sup>b</sup>	17.48 <sup>a</sup>	17.52 <sup>a</sup>	17.53 <sup>a</sup>	0.02	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 8 Diet 8	18.52 <sup>c</sup>	19.14 <sup>b</sup>	19.24 <sup>a</sup>	19.28 <sup>a</sup>	19.30 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 9 Diet 9	18.00 <sup>d</sup>	18.38 <sup>c</sup>	18.45 <sup>b</sup>	18.51 <sup>a</sup>	18.51 <sup>a</sup>	0.01	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1
饲料 10 Diet 10	18.20 <sup>c</sup>	18.65 <sup>b</sup>	18.79 <sup>a</sup>	18.83 <sup>a</sup>	18.83 <sup>a</sup>	0.03	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

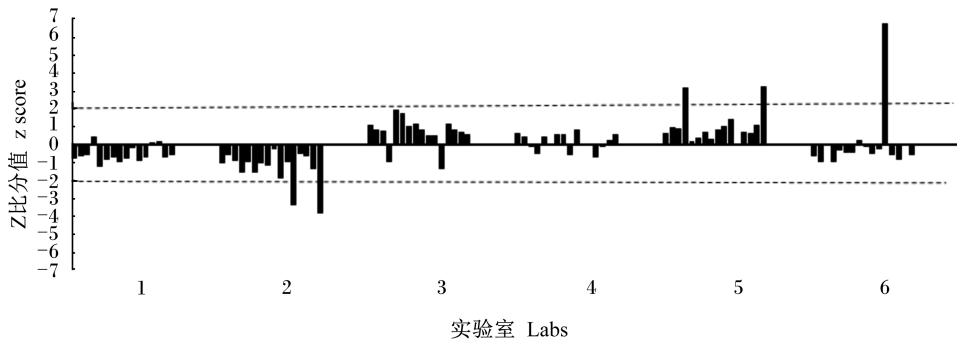
同行数据肩标相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下表同。

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

## 2.2 不同实验室间测定饲料及饲料 GE 值的一致性检验

由图 1 可知,从实验室 GE 测定值的 Z 比分值

看,实验室 2 有 2 个样品的  $|Z|>3$ ,实验室 5 有 2 个样品的  $|Z|>3$ ,实验室 6 有 1 个样品的  $|Z|>3$ 。实验室 1、3、4 的  $|Z|$  均在 2 以内。



实验室 1~4 采用 PARR-6400 型氧弹热量计,实验室 5~6 采用 IKA C-2000 型氧弹热量计测定 GE。下图同。

PARR-6400 was used in Labs 1 to 4, and IKA C-2000 was used in Labs 5 to 6. The same as below.

图 1 6 个实验室间测定饲料 GE 的 Z 比分值

Fig.1 Z score of GE in feed measured in 6 labs



由图 2 可知,从实验室 GE 测定值一致性检验的曼德尔 h 统计量看,实验室 2 的测定结果偏低,而实验室 5 的测定结果偏高。实验室 4 的测定结果最接近实验室间的平均值。实验室 1 和 3 的测

定结果与实验室间的平均值相对接近。从实验室 GE 测定值一致性检验的曼德尔 k 统计量看,实验室 5 和 6 的测定结果变异度接近,且高于实验室 1、2、3、4。实验室 1、2、3、4 的变异度相对接近。

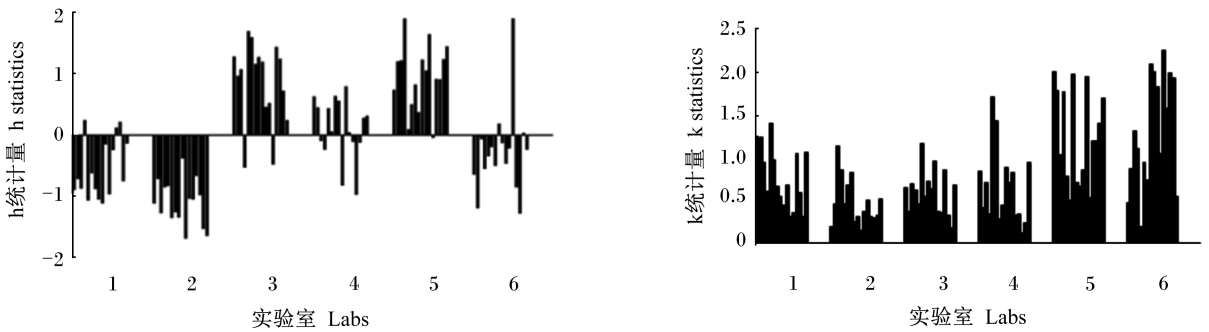


图 2 6 个实验室间测定饲料 GE 的曼德尔 h 和 k 统计量

Fig.2 Mandel's h and k statistics of GE in feed measured in 6 labs

由表 4 可知,在 6 个实验室测定 6 个饲料原料和 10 个饲料 GE 的多重比较中,实验室 3 和 5 各有 12 个样品的 GE 测定值最高,实验室 2 有 14 个样品的 GE 测定值最低,实验室 1 有 9 个样品的 GE 测定值偏低。而实验室 4 和 6 的 GE 测定值最大或最低的样品数量少于 5 个。GE 测定值的重复性变异系数在 0.09%~0.31%,实验室间变异系数在 0.28%~0.61%,再现性变异系数在 0.29%~0.64%。

### 2.3 不同实验室间饲料 GE 测定值的可加性

由表 5 可知,实验室 1、3、5 和 6 对 10 个饲料 GE 的计算值与测定值相差分别为 -0.05~0.11 MJ/kg、-0.05~0.27 MJ/kg、-0.07~0.20 MJ/kg 和 -0.12~0.06 MJ/kg,配对 *t* 检验差异不显著 ( $P>0.05$ )。而实验室 2 和 4 对 10 个饲料 GE 的计算值与测定值相差分别为 -0.01~0.17 MJ/kg 和 0.00~0.18 MJ/kg,配对 *t* 检验差异显著 ( $P<0.05$ )。6 个实验室测定 10 个饲料的 GE 测定值对计算值的线性回归模型中,斜率与 1 均无显著差异 ( $P>0.05$ ),截距与 0 均无显著差异 ( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 上样量对氧弹热量计 GE 测定值的影响

氧弹热量计测定饲料 GE 的原理是根据样品燃烧后释放出来的热量被水吸收,通过测定水温升高幅度计算样品的 GE 值<sup>[2]</sup>。由于氧弹、点火丝

等金属材料也可以吸收热量,因此,采用苯甲酸标准品标定其热容量。当上样量较低时释放出来的总热量低,水温升高幅度也低,而氧弹、点火丝等金属材料吸收热量占比相对较高,从而大大降低了测定的准确性。ISO 9831—1998<sup>[2]</sup>规定上样量以燃烧后水温升高 2~3 °C 为参考,称样重量取决于样品的能值和氧弹热量计的有效热容量,其推荐一般样品的上样量为 1 g。然而,在实际测定中,样品(如食糜、体外消化残渣等)的数量有时难以达到规定的重量要求,或样品能值及密度偏低,坩埚容量不足以装载规定重量的样品,有些研究者采用添加助燃剂如苯甲酸<sup>[17]</sup>、矿物油等以使燃烧后温度升幅达到仪器规定的范围。然而,目前在测定猪、鸡、鸭饲料、粪样或体外消化水解残渣的 GE 值中,鲜见关于上样量的详细描述<sup>[18]</sup>,而在实际操作中不同实验室间在上样量上可能大相径庭。本研究中无论是饲料原料还是饲料,其上样量在 0.2~0.6 g 时 GE 测定值均随上样量的增加而升高,而在 0.6~1.0 g 时 GE 测定值相对稳定,这表明随着上样量的增加,水温升幅增加,氧弹吸收的热量占比下降,从而使样品 GE 测定值趋稳。这一现象与马艳等<sup>[19]</sup>使用 PARR-6300 测定玉米的 GE 在上样量低于 0.5~0.7 g 变化时测定值逐步增加并趋稳的结论类似,与杜中原等<sup>[7]</sup>使用 PARR-6400 型氧弹热量计测定玉米 GE 与上样量的关系也相似。上述结果表明,在饲料样品 GE 的测定中,上样量不应低于 0.6 g。

表 4 不同实验室测定样品 GE 的变异

Table 4 Variation in GE of samples measured in difference laboratories

项目 Items	实验室 Lab/(MJ/kg DM)						P 值 P-value	标准差 SD/(MJ/kg DM)				变异系数 CV/%		
	1	2	3	4	5	6		SEM	重复性 Repeata- bility	实验室间 Inter-lab	再现性 Reproduc- tivity	重复性 Repeata- bility	实验室间 Inter-lab	再现性 Reproduc- tivity
玉米 Corn	18.53 <sup>b</sup>	18.51 <sup>b</sup>	18.68 <sup>a</sup>	18.64 <sup>a</sup>	18.64 <sup>a</sup>	18.54 <sup>b</sup>	0.02	0.03	0.07	0.07	0.07	0.07	0.36	0.40
豆粕 Soybean meal	19.54 <sup>c</sup>	19.55 <sup>c</sup>	19.68 <sup>ab</sup>	19.64 <sup>b</sup>	19.69 <sup>a</sup>	19.51 <sup>c</sup>	0.02	0.03	0.08	0.08	0.08	0.08	0.39	0.43
小麦麸 Wheat bran	18.91 <sup>c</sup>	18.88 <sup>c</sup>	19.08 <sup>a</sup>	18.98 <sup>b</sup>	19.10 <sup>a</sup>	18.99 <sup>b</sup>	0.02	0.03	0.09	0.09	0.09	0.09	0.45	0.48
大豆油 Soybean oil	39.93 <sup>b</sup>	39.80 <sup>d</sup>	39.84 <sup>cd</sup>	39.87 <sup>bc</sup>	40.11 <sup>a</sup>	39.84 <sup>cd</sup>	0.02	0.04	0.11	0.11	0.12	0.12	0.28	0.29
菜籽粕 Rapeseed meal	20.84 <sup>e</sup>	20.86 <sup>cd</sup>	21.05 <sup>a</sup>	20.95 <sup>b</sup>	20.93 <sup>bc</sup>	20.90 <sup>cd</sup>	0.02	0.03	0.07	0.07	0.08	0.08	0.34	0.37
棉籽粕 Cottonseed meal	19.49 <sup>d</sup>	19.45 <sup>e</sup>	19.62 <sup>a</sup>	19.53 <sup>bc</sup>	19.55 <sup>b</sup>	19.51 <sup>cd</sup>	0.01	0.02	0.06	0.06	0.06	0.06	0.29	0.31
饲料 1 Diet 1	18.76 <sup>cd</sup>	18.72 <sup>d</sup>	18.96 <sup>a</sup>	18.91 <sup>b</sup>	18.92 <sup>ab</sup>	18.79 <sup>c</sup>	0.01	0.03	0.10	0.10	0.10	0.10	0.51	0.53
饲料 2 Diet 2	18.30 <sup>c</sup>	18.28 <sup>c</sup>	18.48 <sup>a</sup>	18.43 <sup>b</sup>	18.41 <sup>b</sup>	18.40 <sup>b</sup>	0.02	0.04	0.07	0.07	0.08	0.08	0.40	0.45
饲料 3 Diet 3	20.09 <sup>c</sup>	20.19 <sup>b</sup>	20.38 <sup>a</sup>	20.13 <sup>c</sup>	20.38 <sup>a</sup>	20.22 <sup>b</sup>	0.02	0.03	0.12	0.12	0.13	0.13	0.61	0.62
饲料 4 Diet 4	19.47 <sup>bc</sup>	19.37 <sup>d</sup>	19.51 <sup>abc</sup>	19.53 <sup>ab</sup>	19.54 <sup>a</sup>	19.45 <sup>c</sup>	0.02	0.05	0.06	0.06	0.07	0.07	0.30	0.38
饲料 5 Diet 5	19.70 <sup>d</sup>	19.69 <sup>d</sup>	19.84 <sup>b</sup>	19.79 <sup>bc</sup>	19.94 <sup>a</sup>	19.77 <sup>c</sup>	0.02	0.04	0.09	0.09	0.10	0.10	0.47	0.50
饲料 6 Diet 6	17.93 <sup>bc</sup>	17.85 <sup>c</sup>	17.90 <sup>bc</sup>	17.94 <sup>b</sup>	17.95 <sup>b</sup>	18.15 <sup>a</sup>	0.03	0.06	0.10	0.10	0.11	0.11	0.55	0.64
饲料 7 Diet 7	17.61 <sup>b</sup>	17.56 <sup>c</sup>	17.70 <sup>a</sup>	17.54 <sup>c</sup>	17.66 <sup>a</sup>	17.55 <sup>c</sup>	0.02	0.03	0.07	0.07	0.07	0.07	0.37	0.41
饲料 8 Diet 8	19.42 <sup>ab</sup>	19.34 <sup>c</sup>	19.48 <sup>a</sup>	19.39 <sup>bc</sup>	19.46 <sup>ab</sup>	19.32 <sup>c</sup>	0.03	0.05	0.06	0.06	0.08	0.08	0.32	0.41
饲料 9 Diet 9	18.61 <sup>cd</sup>	18.56 <sup>d</sup>	18.71 <sup>ab</sup>	18.68 <sup>abc</sup>	18.74 <sup>a</sup>	18.66 <sup>bc</sup>	0.03	0.05	0.06	0.06	0.08	0.08	0.32	0.42
饲料 10 Diet 10	18.96 <sup>bc</sup>	18.84 <sup>d</sup>	19.00 <sup>bc</sup>	19.00 <sup>b</sup>	19.10 <sup>a</sup>	18.96 <sup>c</sup>	0.01	0.03	0.08	0.08	0.09	0.09	0.44	0.46
平均值 Mean	20.38	20.34	20.50	20.44	20.51	20.41		0.04	0.08	0.08	0.09	0.09	0.40	0.44

表5 不同实验室饲料GE测定值与计算值的差异

Table 5 Difference in measured and calculated GE across different laboratories

项目 Items	实验室1 Lab 1			实验室2 Lab 2			实验室3 Lab 3			实验室4 Lab 4			实验室5 Lab 5			实验室6 Lab 6		
	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.	实测值 Measured	计算值 Calculated	差值 Diff.
饲料1 Diet 1	18.76	18.82	0.06	18.72	18.81	0.09	18.96	18.97	0.01	18.91	18.92	0.01	18.92	18.94	0.02	18.79	18.82	0.03
饲料2 Diet 2	18.31	18.37	0.06	18.28	18.36	0.08	18.48	18.51	0.03	18.43	18.47	0.04	18.41	18.49	0.08	18.40	18.37	-0.03
饲料3 Diet 3	20.10	20.20	0.10	20.19	20.18	-0.01	20.38	20.33	-0.05	20.13	20.29	0.16	20.38	20.33	-0.05	20.22	20.20	-0.02
饲料4 Diet 4	19.46	19.43	-0.03	19.37	19.42	0.05	19.51	19.58	0.07	19.53	19.53	0.00	19.54	19.56	0.02	19.45	19.45	0.00
饲料5 Diet 5	19.70	19.75	0.05	19.69	19.73	0.04	19.84	19.88	0.04	19.79	19.84	0.05	19.94	19.87	-0.07	19.77	19.75	-0.02
饲料6 Diet 6	17.93	18.04	0.11	17.85	18.02	0.17	17.91	18.18	0.27	17.95	18.13	0.18	17.95	18.15	0.20	18.15	18.03	-0.12
饲料7 Diet 7	17.61	17.61	0.00	17.56	17.60	0.04	17.70	17.74	0.04	17.54	17.70	0.16	17.66	17.72	0.06	17.55	17.61	0.06
饲料8 Diet 8	19.42	19.37	-0.05	19.34	19.35	0.01	19.48	19.49	0.01	19.40	19.45	0.05	19.46	19.49	0.03	19.32	19.36	0.04
饲料9 Diet 9	18.61	18.63	0.02	18.56	18.61	0.05	18.71	18.77	0.06	18.68	18.72	0.04	18.74	18.74	0.00	18.66	18.64	-0.02
饲料10 Diet10	18.97	18.93	-0.04	18.84	18.92	0.08	19.00	19.06	0.06	19.00	19.02	0.02	19.10	19.05	-0.05	18.96	18.93	-0.03
SEM	0.25	0.25	0.00	0.26	0.25	0.00	0.26	0.25	0.00	0.26	0.25	0.00	0.27	0.25	0.25	0.25	0.25	0.00
P值	<0.000 1	<0.000 1	0.145 5	<0.000 1	<0.000 1	0.004 7	<0.000 1	<0.000 1	0.064 8	<0.000 1	<0.000 1	0.011 4	<0.000 1	0.387 1	<0.000 1	<0.000 1	0.467 0	0.000 1
t检验	0.982 4	0.936 2	0.058 7	0.076 5	0.126 3	0.110 2	0.413 0	0.352 9	0.018 1	0.016 9	0.813 6	0.018 1	0.834 9	0.018 1	0.813 6	0.813 6	0.813 6	0.813 6
模型	0.994 8	0.994 8	0.997 6	0.997 6	0.992 9	0.992 9	0.993 1	0.993 1	0.996 0	0.996 0	0.996 2	0.996 0	0.996 0	0.996 0	0.996 0	0.996 0	0.996 0	0.996 2

差值=计算值-测定值 Difference = measured value-calculated value。

### 3.2 实验室间氧弹热量计测定 GE 值的变异及可加性

目前国内饲料企业测定饲料 GE 主要采用美国 PARR、德国 IKA 及长沙奔特等不同厂家生产的氧弹热量计。不同生产商制造的氧弹热量计在构造、GE 的计算原理上均存在某些差异。通过苯甲酸标准品校正可以减少不同型号仪器间的差异。在实验室间测定结果一致性的统计学评判上,通过 Z 比分值考察实验室间测定的异常值<sup>[14-15]</sup>,而曼德尔 h 和 k 统计量分别表示实验室间测定值的偏差程度及实验室内的变异程度<sup>[16]</sup>。根据  $|Z| \leq 2$ ,测定值满意; $2 < |Z| < 3$ ,测定值“有问题”; $|Z| \geq 3$ ,测定值“不满意”的评判准则<sup>[15]</sup>,本研究中实验室 2 有 2 个样品测定值“不满意”;实验室 5 有 2 个样品 GE 测定值“不满意”;实验室 6 有 1 个样品 GE 测定值“不满意”。这些样品并未呈现特定的某 1 个或几个样品。上述实验室间 96 个数据比较中,91 个数据的一致性是满意,比例达到 94.8%。曼德尔 h 统计量表明,实验室 2 和 5 的 GE 测定值偏离了实验室间的平均测定值。综合 Z 比分值和曼德尔 h 统计量,提示实验室 2、5、6 在 GE 的测定上需要加强测定过程的控制。曼德尔 k 统计量表明,实验室 5 和 6 测定 GE 的变异相对偏高,这可能与这 2 家实验室采用的氧弹热量计的型号不同于实验室 1~4 有关,这一现象与杜中原等<sup>[7]</sup>比较 2 种型号的氧弹热量计测定饲料及粪样 GE 的变异度存在差异的结论相似。本研究中 16 个样品 GE 测定的重复性、实验室间及再现性变异系数均在 0.64% 以内。这一变异程度比 ISO 9831:1990<sup>[2]</sup>在剔除部分实验室异常测定值后 7 类样品 GE 测定值的重复性变异系数小于 2.10% 的范围小;比 Bourdillon 等<sup>[3-4]</sup>报道的不同实验室测定饲料 GE 的变异系数小于 1.79% 及 Pérez 等<sup>[5]</sup>得出不同实验室测定饲料 GE 的变异系数为 1.0% 都低。这表明参与本研究的 6 个实验室在测定饲料样品 GE 的变异度是相对较低的。

目前在饲料配方中,饲料的可消化养分的含量都是根据原料的可消化养分含量线性可加计算的。从方法学的角度看,可加性是方法成立的基本原则<sup>[20-21]</sup>。在检验某一测定方法是否具有可加性的手段上,通常采用以下 2 种统计方法:1) *t* 检验比较混合样品的实测值与根据混合样品各成分的实测值及组成比例获得的计算值是否相

等<sup>[22-23]</sup>;2) 根据混合样品的测定值对计算值的线性关系是否与  $Y=X$  重叠<sup>[24]</sup>。本研究中 6 个实验室内 10 个饲料的 GE 测定值对计算值的回归与  $Y=X$  均重叠,4 个实验室配对 *t* 检验得出 GE 测定值与计算值无显著性差异,但 2 个实验室(2 和 4) GE 测定值显著低于计算值。这表明大多数实验室内饲料间 GE 的可加性是非常满意的。

## 4 结论

氧弹热量计测定 GE 的上样量应在 0.6 g 以上。6 个实验室间测定饲料 GE 值呈现较好一致性(94.8% 的满意度),且变异较低(重复性、再现性及实验室间的变异系数  $\leq 0.64\%$ )。4 个实验室测定饲料 GE 的可加性高,2 个实验室的可加性稍低。

### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.GB/T 213—2008 煤的发热量测定方法[S].北京:中国标准出版社,2009.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB/T 213—2008 Determination of calorific value of coal [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008. (in Chinese)
- [2] International Organization for Standardization. ISO 9831:1998 Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine-determination of gross calorific value—Bomb calorimeter method[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 1998.
- [3] BOURDILLON A, CARRÉ B, CONAN L, et al. European reference method of *in vivo* determination of metabolisable energy in poultry: reproducibility, effect of age, comparison with predicted values [J]. British Poultry Science, 1990, 31(3): 567–576.
- [4] BOURDILLON A, CARRÉ B, CONAN L, et al. European reference method for the *in vivo* determination of metabolisable energy with adult cockerels: reproducibility, effect of food intake and comparison with individual laboratory methods [J]. British Poultry Science, 1990, 31(3): 557–565.
- [5] PÉREZ J M, CERVERA C, CUNHA L F E, et al. European ring-test on *in vivo* determination of digestibility in rabbits: reproducibility of a reference method in



- comparison with domestic laboratory procedures [J]. *World Rabbit Science*, 1995, 3(4): 171-178.
- [ 6 ] SIBBALD I R, MORSE P M. Variation among gross energy values measured by two modes of adiabatic oxygen bomb calorimetry [J]. *Poultry Science*, 1982, 61(5): 994-997.
- [ 7 ] 杜中原, 苏艳芳, 陈凯旋, 等. 2 种氧弹热量计测定样品总能的差异及其对能量消化率的影响 [J]. *动物营养学报*, 2021, 33(2): 1128-1136.
- DU Z Y, SU Y F, CHEN K X, et al. Difference in two types of oxygen bomb calorimeters to determine gross energy and its effect on energy digestibility of samples [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(2): 1128-1136. (in Chinese)
- [ 8 ] 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 中国饲料数据库情报网中心, 动物营养学国家重点实验室. 中国饲料成分及营养价值表(2019 年第 30 版) 制订说明 [J]. *中国饲料*, 2019(21): 97-107.
- Institute of Animal Sciences of CAAS, Chinese Feed Database Information Center, State Key Laboratory of Animal Nutrition. Introduction of tables of feed composition and nutritive values in China (2019 thirty edition) [J]. *China Feed*, 2019(21): 97-107. (in Chinese)
- [ 9 ] 王亚, 赵峰, 张虎, 等. 单宁酸对生长猪胃一小肠仿生消化中消化酶活性及饲料粗蛋白消化率的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2020, 51(6): 1332-1341.
- WANG Y, ZHAO F, ZHANG H, et al. Effects of tannic acid on digestive enzyme activity and digestibility of dietary crude protein in simulated gastric and intestinal digestion for growing pigs [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2020, 51(6): 1332-1341. (in Chinese)
- [ 10 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 6435—2014 饲料中水分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB/T 6435—2014 Determination of moisture in feedstuffs [S]. Beijing: Standards Press of China, 2014. (in Chinese)
- [ 11 ] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 6432—2018 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB/T 6432—2018 Determination of crude protein in feeds—Kjeldahl method [S]. Beijing: Standards Press of China, 2018. (in Chinese)
- [ 12 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 6433—2006 饲料中粗脂肪的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB/T 6433—2006 Determination of crude fat in feeds [S]. Beijing: Standards Press of China, 2006. (in Chinese)
- [ 13 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 6438—2007 饲料中粗灰分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. GB/T 6438—2007 Animal feeding stuffs—Determination of crude ash [S]. Beijing: Standards Press of China, 2007. (in Chinese)
- [ 14 ] 中华人民共和国国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 28043—2019 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of China. GB/T 28043—2019 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019. (in Chinese)
- [ 15 ] 吴旻. 内部比对试验结果的统计评价方法 [J]. *理化检验(化学分册)*, 2020, 56(7): 777-781.
- WU M. Statistics and evaluation methods of results of inter comparison tests [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Chemical Analysis)*, 2020, 56(7): 777-781. (in Chinese)
- [ 16 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 6379.2—2004 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 2 部分: 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard

- measurement method [ S ]. Beijing: Standards Press of China, 2005. ( in Chinese )
- [ 17 ] SHEN J F, ZHU S G, LIU X Z, et al. Measurement of heating value of rice husk by using oxygen bomb calorimeter with benzoic acid as combustion adjuvant [ J ]. Energy Procedia, 2012, 17: 208–213.
- [ 18 ] WEI J, XIE M, TANG J, et al. The feasibility of enzyme hydrolysate gross energy for formulating duck feeds [ J ]. Poultry Science, 2020, 99( 8 ): 3941–3947.
- [ 19 ] 马艳, 谭卫红, 沈娟章, 等. 新型氧弹量热仪测定谷物的热值 [ J ]. 生命科学仪器, 2013, 11( 3 ): 42–44.  
MA Y, TAN W H, SHEN J Z, et al. Determination of the heat values of several cereals with bomb-calorimeter [ J ]. Life Science Instruments, 2013, 11( 3 ): 42–44. ( in Chinese )
- [ 20 ] DALE N M, FULLER H L. Additivity of true metabolizable energy values as measured with roosters, broiler chicks, and poults [ J ]. Poultry Science, 1980, 59( 8 ): 1941–1942.
- [ 21 ] ZHAO F, REN L Q, MI B M, et al. Developing a computer-controlled simulated digestion system to predict the concentration of metabolizable energy of feedstuffs for rooster [ J ]. Journal of Animal Science, 2014, 92( 4 ): 1537–1547.
- [ 22 ] COWIESON A, SORBARA J O, PAPPENBERGER G, et al. Additivity of apparent and standardized ileal amino acid digestibility of corn and soybean meal in broiler diets [ J ]. Poultry Science, 2019, 98( 9 ): 3722–3728.
- [ 23 ] WANG T T, OSHO S O, ADEOLA O. Additivity of apparent and standardized ileal digestibility of amino acid determined by chromic oxide and titanium dioxide in mixed diets containing wheat and multiple protein sources fed to growing pigs [ J ]. Journal of Animal Science, 2018, 96( 11 ): 4731–4742.
- [ 24 ] AIR ELLEN L, BENOIT S C, CLEGG D J, et al. Insulin and leptin combine additively to reduce food intake and body weight in rats [ J ]. Endocrinology, 2002, 143( 6 ): 2449–2452.

## Consistency and Additivity in Gross Energy of Monogastric Animal Feed Samples between Different Laboratories

ZHANG Jinyuan<sup>1,2</sup> WANG Yuming<sup>2</sup> DU Zhongyuan<sup>2</sup> DONG Ying<sup>3</sup> LI Dailin<sup>4</sup> WANG Yueli<sup>5</sup>  
HUANG Qinghua<sup>6</sup> DU Qingzhi<sup>7</sup> HUANG Yanling<sup>1\*</sup> ZHAO Feng<sup>2\*</sup>

(1. College of Animal and Veterinary Science, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China; 2. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Wenshi Food Group Limited Company, Yunfu 527400, China; 4. New Hope Liuhe Limited Company, Beijing 100102, China; 5. Tangrenshen Group Limited Company, Zhuzhou 412000, China; 6. Qingdao Weilan Biology Limited Company, Qingdao 266000, China; 7. Hunan Zhongben Intelligent Technology Development Limited Company, Changsha 410013, China)

**Abstract:** The objective of this study was to compare the variation and additivity of gross energy (GE) measured in different laboratories, which will provide a reference for accurately determining effective energy value of feed. This experiment consisted of two parts. Part 1 was to investigate the effects of the feed sample volumes on the GE value determined by the oxygen bomb calorimeter. A single factor completely random design for sample volumes at 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 g was adopted for each of 6 feed ingredients (corn, soybean meal, wheat bran, soybean oil, rapeseed meal and cottonseed meal) and 10 diets. Each treatment contained 4 replicates. Part 2 was to investigate the variation and additivity of GE in feed determined in different laboratories. A single factor completely random design for 6 laboratories was adopted for each feed. The GE of each sample was measured for 4 replicates in each laboratory. The results showed that the measured GE of 6 feed ingredients and 10 diets increased linearly and quadratically with the increment of sample volumes ( $P < 0.05$ ). The measured GE values at sample volume of 0.2 g were lower than the GE values measured at sample volume of 0.4 to 1.0 g ( $P < 0.05$ ). Relatively little difference was observed in GE measured at sample volumes of 0.6 to 1.0 g. In the comparison among 6 laboratories, the absolute Z scores of 91 out of 96 measured GE were less than 2. The h statistics showed that the measured GE in laboratory 2 was lower, whereas the measured GE in laboratory 5 was higher than other laboratories. The k statistics showed that the variation of GE measured in laboratory 5 and 6 was relatively greater. In total, the coefficient of variation for repeatability, inter-laboratory and reproducibility of GE didn't exceed 0.64%. The paired t test showed that no significant differences between the calculated and measured GE of 10 diets were observed in each of laboratory 1, 3, 5 and 6. Whereas, significant differences between the calculated and measured GE of 10 diets were observed in each of laboratory 2 and 4 ( $P < 0.05$ ). The linear regression model of measured on calculated GE in each of 6 laboratories all overlapped with  $Y = X$ . This indicates that the loading volumes of sample for GE measurement using the oxygen bomb calorimeter should be more than 0.6 g. The GE value of feed measured in 6 laboratories show good consistency (94.8% satisfaction), and low coefficient of variation is observed in GE measured among laboratories. Higher and high additivity of dietary GE are present in laboratory 4 and 2, respectively. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6):3581-3591]

**Key words:** feed; gross energy; coefficient of variation; additivity

\* Corresponding authors: HUANG Yanling, professor, E-mail: swunylh@163.com; ZHAO Feng, professor, E-mail: zhaofeng@caas.cn