

尿素和氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃内环境的影响

李 坤, 吕永艳, 于腾飞, 孙国强*

(青岛农业大学 动物科技学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 为了研究尿素和氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃内环境的影响, 采用 2 因素 3 水平完全交叉试验设计, 将尿素和氢氧化钙均按玉米秸干物质质量的 2%、3% 和 4% 的量分别添加, 共 9 个试验组和 1 个对照组(添加量为 0), 通过短期人工瘤胃技术研究不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对瘤胃液 pH 值、氨氮(NH₃-N)质量浓度、微生物蛋白(MCP)产量和挥发性脂肪酸(VFA)浓度的影响。结果表明, 不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对瘤胃液 pH 值影响不显著($P > 0.05$); 对氨氮质量浓度影响显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但均在正常范围内; 在 MCP 产量方面, 第 6、7、8 组和第 10 组极显著高于对照、第 2、3、4 组和第 9 组($P < 0.01$), 分别比对照组高 26.74%、27.91%、36.05% 和 32.56%, 第 7、8 组和第 10 组 3 个组间无显著差异($P > 0.05$), 第 8 组和第 10 组显著高于第 5 组和第 6 组($P < 0.05$), 第 7 组和第 5、6 组间无显著差异($P > 0.05$); 第 10 组的乙酸、丙酸和丁酸 3 种挥发性脂肪酸总浓度极显著高于对照组($P < 0.01$), 比对照组高 84.59%, 第 10 组极显著或显著高于其他试验组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果显示, 第 10 组即尿素和氢氧化钙处理玉米秸时, 添加水平均为其干物质质量的 4% 是最适宜的。

关键词: 玉米秸; 尿素; 氢氧化钙; 瘤胃发酵

中图分类号: S816.32 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)08-0167-04

Effects of Maize Straw Treated by Urea and Calcium Hydroxide on Ruminal Environment *in Vitro*

LI Kun, LÜ Yong-yan, YU Teng-fei, SUN Guo-qiang*

(College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: To investigate the effects of compound chemical treatment on ruminal environment *in vitro*, the experiment adopted two factors and three levels crossed design, in which urea and calcium hydroxide were added on the basis of maize straw dry matter with 2%, 3%, and 4%, respectively. A total of nine experimental groups and one control group (nothing was added) were performed. The effects of maize straw treated by different levels of urea and calcium hydroxide on ruminal pH, NH₃-N concentration, MCP and VFA concentration *in vitro* were determined by short-term artificial rumen technique. The results showed that there were no significant influences by different levels of urea and calcium hydroxide treatment on rumen pH ($P > 0.05$). The significant effects occurred by different levels of urea and calcium hydroxide treatment on NH₃-N concentration ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but it was in normal range. In the groups 6, 7, 8, and 10, the levels of MCP were significantly higher than that of the control group, the groups 2, 3, 4, and 9. They were

收稿日期: 2012-03-01

基金项目: 山东省农业重大应用技术创新资金项目

作者简介: 李 坤(1986-), 女, 河南周口人, 在读硕士研究生, 研究方向: 反刍动物营养。E-mail: jun1kun2@126.com

* 通讯作者: 孙国强(1961-), 男, 山东莱州人, 教授, 主要从事反刍动物营养研究。E-mail: qdnydxsgq@126.com

higher by 26.74%, 27.91%, 36.05%, and 32.56% than that of the control group, respectively. However, among the groups 7, 8, and 10, no significant difference was observed ($P > 0.05$). For the total VFA concentration (acetic plus propylic and butyric), the group 10 was significantly higher by 84.59% than the control group ($P < 0.01$) and also higher than the rest experimental groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The group 10, which was added with both urea and hydroxide calcium on the basis of maize straw dry matter with 4%, was the most suitable under this experimental design condition.

Key words: maize straw; urea; calcium hydroxide; rumen fermentation

我国农作物秸秆用作饲料、燃料、肥料、工业原料的比例分别为 25%~35%、40%~55%、15%~20%、1%~5%^[1-5]。占总量 55%~75% 的秸秆都用作了燃料和肥料,而这种方式远不如作饲料即秸秆“过腹还田”的利用率高,可见,我国秸秆作为饲料利用的潜力仍然非常巨大。因此,研究提高农作物秸秆饲用价值的方法具有重要意义。瘤胃内环境指标是评定饲料营养价值的重要指标,适宜的瘤胃内环境指标是瘤胃微生物消化的重要保证。本试验将尿素和氢氧化钙均按玉米秸干物质质量的 2%、3% 和 4% 添加,对玉米秸进行复合化学处理,通过短期人工瘤胃技术测定体外瘤胃液 pH 值、氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$)质量浓度、微生物蛋白(MCP)产量和挥发性脂肪酸(VFA)浓度,研究尿素和氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃内环境的影响,旨在筛选出尿素和氢氧化钙最适宜的添加水平,为提高玉米秸对反刍动物的饲用价值提供技术参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

玉米秸选用当年新鲜干玉米秸(产地为青岛莱西市),铡短至 1 cm;氢氧化钙为化学纯,尿素为分析纯。

1.2 试验动物

选用体质量(30 ± 2.5) kg 的健康崂山奶山羊 3 只,手术前 2 d 开始禁食,前 1 d 停水,安装瘤胃瘘管。

1.3 试验动物日粮及饲养管理

试验期间,每头每天精饲料 400 g,粗饲料为花生蔓自由采食。每天分 2 次饲喂(8:00 和 18:00),饲后 1 h 饮水。试验动物精饲料配方:玉米 50%、麸皮 20%、豆粕 24%、预混料 5%、食盐 1%。

1.4 试验设计

将尿素和氢氧化钙均按玉米秸干物质质量的 2%、3% 和 4% 添加,两两组合对玉米秸进行复合化学处理,共 9 个处理,对照组不添加。每个处理 3 个重复。

1.5 玉米秸的复合化学处理方法

称取 90 g 玉米秸秆,将准确称量的尿素和氢氧化钙先后溶于 60 g 水中,然后在搪瓷盆中将尿素氢氧化钙溶液均匀喷洒到玉米秸秆上,边喷洒边搅拌,每个处理 3 个重复,每个重复 30 g,盛在封口塑料袋中,挤掉袋内的空气后封口。在 20~25 °C 的室温下放置 4 周,每天检查封口袋密封情况。4 周后开封,取出处理的玉米秸在 65 °C 的烘箱中烘干,制成风干样品,过 0.45 mm 筛,放入密封袋中保存待用。

1.6 人工瘤胃

1.6.1 人工瘤胃装置 人工瘤胃装置主体为水浴温度可调的电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司)和作发酵培养管之用的玻璃注射器(可计量容积为 100 mL)。注射器每次使用之前洗净晾干,然后用少量凡士林涂在活塞筒四周,用来减少摩擦和防止漏气^[6]。

1.6.2 培养液的制备 参照郭冬生的培养液配制法进行配制^[7]。

1.6.3 瘤胃液的采集 在早晨饲喂前抽取瘤胃液。将取液器沿瘘管口徐徐插入瘤胃,在瘤胃中不断变换方位,取液器另一端与真空抽虑瓶相连,真空抽虑瓶接真空泵,开动真空泵抽取足量瘤胃液,灌入经预热达 39 °C 并通有二氧化碳(CO_2)气体的保温瓶中,立即盖严瓶口,迅速返回实验室,将 3 只羊的瘤胃液混合,经 4 层纱布过滤于接收瓶中,置于 39 °C 水浴中保存,持续通入 CO_2 气体。

1.6.4 人工瘤胃液的制备 将 250 mL 预先配制好并在 39 °C 水浴中预热的培养液与 1 000 mL 在 39 °C 水浴中预热的蒸馏水混合之后,再加入 312.5 mL 过滤后并持续通入 CO_2 气体的瘤胃液,混合,搅拌均匀置于 39 °C 恒温水浴锅中保存,人工瘤胃液始终用 CO_2 气体饱和,待用。

1.6.5 操作步骤 准确称取饲料样品 200.0 mg,置于玻璃注射器的前端,取 30 mL 始终用 CO_2 气体饱和的人工瘤胃液加到每一个注射器中,排净注射器中的空气,密封,然后在 39 °C 的水浴锅中培养 24 h。每个样品设 3 个重复,另设置 3 个空白样品,分别排列

于培养框架的前位与后位,以消除试验误差。

1.6.6 振荡 培养开始后,每隔 8 h 摇动 1 次。

1.7 测定指标与方法

将注射器于培养 24 h 后取出,迅速放入冷水浴中终止发酵,并将注射器中发酵液排出至离心管中,立刻测定瘤胃液 pH 值,然后将瘤胃液离心(4 000 r/min 离心 15 min),上清液制样以备测定瘤胃液氨氮(NH₃-N)质量浓度、微生物蛋白(MCP)产量和挥发性脂肪酸(VFA)浓度。瘤胃液 pH 值采用 25 型酸度计(北京哈纳科仪科技有限公司)测定;NH₃-N 质量浓度参照冯宗慈等^[8]的比色法进行测定;瘤胃液 VFA 浓度按照曹庆云等^[9]的气相色谱法进行测定;瘤胃液微生物蛋白(MCP)产量参照 Cotta 等^[10]的差速离心法进行测定。

1.8 数据处理

试验数据采用 SPSS 软件进行方差分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同水平尿素、氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃液 pH 值、NH₃-N 质量浓度和 MCP 产量的影响

由表 1 可见,不同水平尿素氢氧化钙处理玉米秸对瘤胃液 pH 值影响不显著($P>0.05$),但对 NH₃-N 质量浓度和 MCP 产量均有不同程度的影响。在氨氮 NH₃-N 质量浓度方面,第 4 组极显著高于对照组、第 2、3、6、7、8、9 组和第 10 组($P<0.01$),第 4 组与第 5 组间无显著差异($P>0.05$);在 MCP 产量方面,第 6、7、8 组和第 10 组极显著高于对照组、第 2、3、4 组和第 9 组($P<0.01$),分别比对照组高 26.74%、27.91%、36.05%和 32.56%,第 7、8 组和第 10 组 3 个组间无显著差异($P>0.05$),第 8 组和第 10 组显著高于第 5 和第 6 组($P<0.05$),第 7 组和第 5、6 组间无显著差异($P>0.05$)。

表 1 不同水平尿素、氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃液 pH 值、NH₃-N 质量浓度和 MCP 产量的影响

组别	处理	pH	NH ₃ -N/(mg/L)	MCP/(mg/mL)
1	玉米秸秆(对照组)	6.72±0.32 ^a	118.6±16.9 ^{De}	0.86±0.022 ^{Df}
2	玉米秸秆+2%尿素+2%氢氧化钙	6.81±0.32 ^a	138.2±14.3 ^{Cd}	0.95±0.028 ^{Ce}
3	玉米秸秆+2%尿素+3%氢氧化钙	6.71±0.26 ^a	131.6±10.3 ^{Cd}	0.96±0.049 ^{Ce}
4	玉米秸秆+2%尿素+4%氢氧化钙	6.73±0.21 ^a	187.6±10.4 ^{Aa}	0.98±0.047 ^{Cde}
5	玉米秸秆+3%尿素+2%氢氧化钙	6.70±0.23 ^a	177.5±12.7 ^{ABab}	1.07±0.039 ^{ABbc}
6	玉米秸秆+3%尿素+3%氢氧化钙	6.77±0.28 ^a	167.6±9.6 ^{Bbc}	1.09±0.034 ^{Ab}
7	玉米秸秆+3%尿素+4%氢氧化钙	6.80±0.31 ^a	172.5±9.4 ^{Bb}	1.10±0.036 ^{Aab}
8	玉米秸秆+4%尿素+2%氢氧化钙	6.91±0.31 ^a	169.5±8.5 ^{Bb}	1.17±0.034 ^{Aa}
9	玉米秸秆+4%尿素+3%氢氧化钙	6.74±0.34 ^a	160.1±8.9 ^{Bc}	1.03±0.031 ^{BCcd}
10	玉米秸秆+4%尿素+4%氢氧化钙	6.63±0.36 ^a	167.7±9.5 ^{Bbc}	1.14±0.045 ^{Aa}

注:同列肩标有相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小、大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$),字母按照降序排列。下同。

2.2 不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃液 VFA 浓度的影响

表 2 表明,第 10 组乙酸浓度极显著高于对照组和第 2、3、4、6、9 组($P<0.01$),显著高于第 5、7、8 组($P<0.05$),比对照组高 76.60%;第 7、8、9、10 组丙酸浓度极显著高于对照组和第 2、3、4、5、6 组($P<0.01$),比对照组分别高 93.30%、91.07%、101.79%、95.54%,第 7、8、9、10 组间无显著差异

($P>0.05$);第 5、6、8、10 组丁酸浓度极显著高于对照组和第 2、3、7、9 组($P<0.01$),第 5、6、8 和第 10 组与 4 组间无显著差异($P>0.05$),第 4 组与第 7、9 组间无显著差异($P>0.05$);在 3 种挥发性脂肪酸总浓度上,第 10 组极显著高于对照组和第 2、3、4、5、6、9 组($P<0.01$),比对照组高 84.59%,显著高于第 7、8 组($P<0.05$),第 7 组和第 8 组间无显著差异($P>0.05$)。

表 2 不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对体外瘤胃液 VFA 浓度的影响

组别	处理	乙酸	丙酸	丁酸	乙酸+丙酸+丁酸
1	玉米秸秆(对照组)	12.52±0.55 ^{Ef}	4.48±0.35 ^{De}	2.66±0.65 ^{Dd}	19.66±1.70 ^{Df}
2	玉米秸秆+2%尿素+2%氢氧化钙	14.14±0.69 ^{De}	4.00±0.31 ^{Df}	3.02±0.32 ^{Dd}	21.16±1.45 ^{Df}
3	玉米秸秆+2%尿素+3%氢氧化钙	15.94±0.98 ^{CDd}	5.73±0.76 ^{Cd}	3.96±0.46 ^{Cc}	25.63±1.10 ^{Ce}
4	玉米秸秆+2%尿素+4%氢氧化钙	16.25±0.80 ^{Cd}	6.22±0.74 ^{Cd}	4.64±0.77 ^{ABab}	27.11±1.16 ^{Cd}
5	玉米秸秆+3%尿素+2%氢氧化钙	20.86±1.73 ^{ABbc}	5.71±0.48 ^{Cd}	5.32±0.53 ^{Aa}	31.89±1.52 ^{Bc}
6	玉米秸秆+3%尿素+3%氢氧化钙	18.60±0.79 ^{Bc}	7.78±0.57 ^{Bb}	5.24±0.58 ^{Aa}	31.62±0.86 ^{Bc}
7	玉米秸秆+3%尿素+4%氢氧化钙	19.89±1.12 ^{ABbc}	8.66±0.63 ^{Aa}	4.51±0.36 ^{Bb}	33.06±1.87 ^{ABbc}
8	玉米秸秆+4%尿素+2%氢氧化钙	20.12±1.03 ^{ABbc}	8.56±0.50 ^{Aa}	5.14±0.42 ^{Aa}	33.82±1.68 ^{ABbc}
9	玉米秸秆+4%尿素+3%氢氧化钙	19.12±0.84 ^{Bc}	9.04±0.51 ^{Aa}	4.34±0.35 ^{BCbc}	32.50±1.81 ^{Bc}
10	玉米秸秆+4%尿素+4%氢氧化钙	22.11±0.77 ^{Aa}	8.76±0.71 ^{Aa}	5.42±0.37 ^{Aa}	36.29±1.52 ^{Aa}

上述结果表明,不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对瘤胃液 pH 值影响不显著,而 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度为 118.6~187.6 mg/L,均在正常变动范围内^[11],因此,不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸秆对体外瘤胃发酵参数的影响取决于 MCP 产量和 VFA 浓度,由于第 7、8、10 组 MCP 产量最高,而且 3 个组间无显著差异,但在乙酸、丙酸和丁酸浓度及 3 种挥发性脂肪酸总浓度上,以第 10 组最高,因此,第 10 组最有利于体外瘤胃发酵。

3 讨论

3.1 不同水平尿素、氢氧化钙处理玉米秸秆对体外瘤胃液 pH 值、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度和 MCP 产量的影响

3.1.1 对体外瘤胃液 pH 值的影响 瘤胃液 pH 值是反映瘤胃内环境最重要的参数之一,维持正常范围内的 pH 值是保证瘤胃正常发酵的前提条件之一。一般而言,瘤胃液 pH 值随采食时间而呈周期性变化,瘤胃正常 pH 值变动范围为 6~7^[12]。本试验 9 个试验组的 pH 值介于 6.63~6.91,均在正常范围内,说明不同水平尿素和氢氧化钙处理玉米秸对瘤胃液 pH 值无明显影响。

3.1.2 对体外瘤胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度的影响 瘤胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度过高或过低都会影响瘤胃微生物生长繁殖,进而影响 MCP 的产量^[13]。因此,保持瘤胃液最适 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度是保证 MCP 合成的首要条件,有试验表明,瘤胃液最适 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度为 80~100 mg/L,但 63~275 mg/L 时也属正常变动范围,不影响微生物的活性, $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度过高会造成氮源浪费,过低将影响瘤胃能氮平衡、降低瘤胃微生物活性、抑制 MCP 的合成和纤维类物质的降解^[11]。9 个试验组的瘤胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 质量浓度为 131.6~187.6 mg/L,均在正常变动范围内,说明不同水平尿素和氢氧化钙处理没有影响瘤胃微生物正常发酵。

3.1.3 对体外瘤胃液 MCP 产量的影响 本试验第 8、9、10 组的 MCP 产量最高,这与日粮能氮平衡有关系,MCP 产量的高低显示了瘤胃微生物生长繁殖的快慢,其主要取决于瘤胃能氮平衡。饲料中代表能量的碳水化合物在瘤胃中降解为挥发性脂肪酸(VFA),同时释放能量,饲料中的蛋白质和含氮化合物在瘤胃中被微生物降解为 NH_3 和 CO_2 ,瘤胃中的微生物利用能量和 NH_3 合成 MCP,因此,MCP 的合成数量主要取决于碳水化合物和蛋白质(含氮化合物)降解的数量和速度是否协调和匹配,二者降解的数量和速度越协调,就越可能产生更多的 MCP。本试验结果表明,玉米秸中添加 4% 尿素和

2%、3% 和 4% 的氢氧化钙(第 8、9、10 组)在能氮平衡方面均好于其他各处理,因此,瘤胃微生物生长繁殖快,MCP 产量高。

3.2 不同水平尿素、氢氧化钙对玉米秸秆体外瘤胃液 VFA 浓度的影响

挥发性脂肪酸是日粮碳水化合物在瘤胃中发酵的主要产物,它们是反刍动物主要的能量来源,提供反刍动物总能量需要量的 70%~80%,瘤胃发酵产生的 VFA 以乙酸、丙酸、丁酸为主,占总 VFA 的 95% 左右^[12]。在发酵产生 VFA 的过程中有能量释放产生 ATP,这些 ATP 可被微生物作为能源用于维持和生长,特别是用于微生物蛋白质(MCP)的合成^[12]。因此,瘤胃中 VFA 浓度是衡量瘤胃微生物活力的重要指标,也是瘤胃发酵的主要指标之一。试验表明,第 10 组在乙酸、丙酸、丁酸浓度及 3 种挥发性脂肪酸总浓度上均最高,其 MCP 产量也较高,这说明在一定范围内发酵产生的 VFA 浓度越高,则越有利于 MCP 的合成,而 MCP 的合成又促进了 VFA 的产生,瘤胃 VFA 与 MCP 形成相互促进的良性循环。

参考文献:

- [1] 胡雪竹,高宛利,李玉英,等. 秸秆厌氧发酵条件优化的研究[J]. 天津农业科学,2011,17(4):108-112.
- [2] 陈秀为,范襄. 秸秆饲料发酵生物添加剂的研制[J]. 天津农业科学,1999,5(4):5-8.
- [3] 魏爱军. 秸秆沼气实用技术[J]. 山西农业科学,2010,38(4):94.
- [4] 王勇,孟晓林. 秸秆废弃物的生物学特性及其开发利用[J]. 山西农业科学,2009,37(12):42-44.
- [5] 谢凤行,赵玉洁,周可,等. 秸秆发酵生物添加剂发酵工艺参数的优化[J]. 华北农学报,2008,23(3):219-222.
- [6] 孙献忠. 羊常用饲草的能量价值评定及其组合效应研究[D]. 北京:中国农业科学院,2007.
- [7] 郭冬生. 反刍动物日粮组合效应对瘤胃发酵和可利用粗蛋白的影响研究[D]. 北京:中国农业大学,2004.
- [8] 冯宗慈,高民. 通过比色法测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J]. 内蒙古畜牧科学,1993(4):40-41.
- [9] 曹庆云,周武艺,朱贵钊. 气相色谱测定羊瘤胃液中挥发性脂肪酸方法研究[J]. 中国饲料,2006(24):26-28.
- [10] Cotta M A, Russell J R. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture[J]. Dairy Sci, 1982, 65: 226-234.
- [11] 崔海净,蔡李逢,王建华,等. 配合饲料中消化能粗蛋白比对奶牛瘤胃发酵的影响[J]. 中国农学通报,2010(14):13-17.
- [12] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京:科学出版社,2004:136-338.
- [13] Bandle S, Gupta B N. Rumen fermentation bacterial and total volatile fatty acid production rates in cattle fed on urea-molasses mineralizable licks supplement[J]. Anim Feed Sci Tech, 1997, 65: 275-286.