

利用体外产气法检验日粮适合度的规程

The code of practice on testing the dietary fitness by gas
production method in vitro

2025-06-06 发布

2025-07-06 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由内蒙古自治区畜牧业标准化技术委员会（SAM/TC 19）归口。

本文件起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院、鄂尔多斯市农畜产品质量安全中心、乌兰察布市凉城县永兴镇人民政府、赤峰市农牧科学研究所。

本文件主要起草人：孙海洲、金鹿、李胜利、张春华、萨初拉、王博、刘威、付乐、陈攀亮、杨鼎、张崇志、诺民、孙余卓、魏晓玲、刘志友。

利用体外产气法检验日粮适合度的规程

1 范围

本文件规定了日粮适合度检验的仪器和设备、试样、评定指标及方法。
本文件适用于羊用全混合日粮适合度评定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

日粮适合度 ration fitness

利用体外批次培养、瘤胃液和发酵产气技术并结合数学曲线剖分技术，对动物所采食日粮进行品质和组合效应分析，以估测日粮对动物适合度的方法。

3.2

比例因子 partitioning factor

样品利用瘤胃液进行体外发酵24 h后的有机物质降解率与产气量的比值。

3.3

康奈尔净碳水化合物-蛋白质体系 cornell net carbohydrate and protein system, CNCPS

一种基于动物、环境和饲料成分信息，将饲料的生物学特性与动物的消化利用情况有机结合，在不同生产情况下预测动物营养需要量和营养供应的模型。

3.4

快慢池 fast and slow pool

饲料中的碳水化合物和蛋白质根据在瘤胃内的降解速度被分为快速和慢速降解池，分别代表那些能够迅速被瘤胃微生物降解的成分（如可溶性纤维和易于分解的蛋白质）和那些降解速度较慢的成分（如不溶性纤维和结构复杂的蛋白质）。

4 仪器和设备

- 4.1 实验室用样品粉碎机或研钵。
- 4.2 瘤胃液取样器（长 30 cm，内径 12.70 mm PPR 管）。
- 4.3 分析天平（分度值 0.0001 g）。
- 4.4 烘干箱（室温~150 ℃）。
- 4.5 磁力搅拌器（转速为 100 r/min~1400 r/min）。
- 4.6 纤维袋（ANKOM F57，25 μm 孔隙）。
- 4.7 封口机。
- 4.8 纤维分析仪（滤袋：25 μm 孔隙；处理能力：24 个/批；测定样品重量：0.5 g~1.0 g）。
- 4.9 体外模拟培养箱（滤袋：25 μm 孔隙；处理能力：100 个/批；测定样品重量：0.25 g~1.0 g）。
- 4.10 体外产气仪（测量方式：累计产气量、设定时段产气量、产气瞬时温度；模块数据传输和感应方式：无线，有效距离范围 1 m~10 m；样品装填单元容量：250 mL）。

5 试样

5.1 采样

按 GB/T 14699.1 进行采样。

5.2 制备

样品根据 GB/T 20195 制备，置于烘箱内于 65 ℃ 烘干，研磨，过 1 mm 筛。

6 评定指标及方法

6.1 日粮适合度指标检测

6.1.1 体外发酵产气快慢池的剖分

其中，CNCPS 对日粮蛋白质和碳水化合物组分的剖分见附录 A。日粮体外发酵产气快慢池操作步骤参见附录 B，产气快慢池剖分图按照附录 C。

6.1.2 有机物质的降解率

操作步骤参见附录 B。

6.1.3 比例因子

操作步骤参见附录 B。

6.1.4 微生物的生物合成量

操作步骤参见附录 B。

6.1.5 微生物生物合成效率

操作步骤参见附录 B。

6.2 日粮适合度检验指标

6.2.1 体外发酵快慢池的产气量

体外发酵快慢池的产气量的合适范围见表1。

表1 快慢池的产气量参考范围

日粮类型	产气量	参考范围	目标值
TMR	快速发酵池 mL	16.3~42.7	40
	慢速发酵池 mL	23.1~58.7	~60
	总产气量 mL	42.1~98.8	80~110

注：检验结论：1、当快速发酵池产生的气体量大于40 mL时，较多的气体产量（大量的甲烷和二氧化碳）以及用于微生物生长的乙酸盐和较少的ATP可能来自于快速消化的B2池（可溶性纤维），而不是来自于过多可利用的淀粉。如果日粮显示慢速发酵池产气比例较大时，要考虑添加非饲草来源纤维（NFFS）。然而，这将导致产生更多的气体，而且不会使发酵从丙酸盐中获得所需的能量，以支持机体更高的产乳量。2、日粮总产气量很大例如大于110 mL时，表明饲料可能具有优异的消化率，但由于缺乏可溶性蛋白导致细菌能量溢出，或缺乏丙酸盐前体（谷物）导致ATP和微生物生产的能量不足。

6.2.2 产气快慢池的降解速率

产气快慢池的降解速率参考范围见表2。

表2 产气快慢池的降解速率的参考范围

日粮类型	降解速率	参考范围	目标值
TMR	CB1/kd(starch, %/h)	8.9~26.9	18~20
	CB3/kd(NDF, %/h)	2.4~6.8	5~6

注：检验结论：1. 当快速发酵部分CB1超过25%/h时，可通过饲喂干玉米来替代发酵玉米，或者降低玉米青贮加工的粉碎粒度效果和对谷物的破碎粒度（700~1000微米）等方法来降低瘤胃内的降解速率。2. 当慢速降解部分CB3速率低于5%时，表明粗料有较低的消化率，将会导致能量摄入减少进而影响微生物蛋白合成。可通过增加非饲草纤维来源来提高发酵率。

6.2.3 有机物质的降解率

有机物质的降解率参考范围见表3。

表3 有机物质的降解率的参考范围

日粮类型	参考范围	目标值
TMR	46.1~74.9	65

注：检验结论：1. 当TDOM小于50%，日粮有机物质利用效率通常较低。2. 当TDOM在60%左右，日粮有机物质利用效率正常。3. 当TDOM大于65%，日粮有机物质利用效率较高。

6.2.4 比例因子

比例因子参考范围见表4。

表4 比例因子的参考范围

日粮类型	参考范围	目标值
TMR	2.5~5.7	>4
注：检验结论：较高比例因子的值表明有较少的气体产生和更多的ATP用于微生物的生长。一般来说，较多的气体产生表明乙酸的产量较高，这反过来会导致ATP产量降低。		

6.2.5 微生物的生物合成量

微生物的生物合成量参考范围见表5。

表5 微生物的生物合成量的参考范围

日粮类型	参考范围	目标值
TMR	76.0~195.6	>140

附录 A

(资料性)

CNCPS 对蛋白质和碳水化合物组分的剖分

A.1 CNCPS 对蛋白质和碳水化合物组分的剖分

A.1.1 CNCPS 对蛋白质组分的剖分

根据瘤胃降解特性，CNCPS 将饲料中蛋白质分为 5 个部分，即瞬间可溶性蛋白 (PA)；不可降解蛋白 (PC)；真蛋白：PB。将 PB 又分为快速降解蛋白：PB1。中速降解蛋白：PB2。慢速降解蛋白：PB3。瞬间可溶性蛋白百分数按照以下公式 (A.1) 计算：

$$PA = NPN (\%CP) \times 6.25 \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

PA——瞬间可溶性蛋白百分数，%；

NPN——非蛋白氮百分数，%。

快速降解蛋白百分数按照以下公式 (A.2) 计算：

$$PB1 = SCP (\%CP) - PA (\%CP) \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

PB1——快速降解蛋白百分数，%；

SCP——可溶性蛋白百分数，%；

PA——瞬间可溶性蛋白百分数，%。

中速降解蛋白百分数按照以下公式 (A.3) 计算：

$$PB2 = 100 - (PA + PB1 + PB3 + PC) \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

PB2——中速降解蛋白百分数，%；

PA——瞬间可溶性蛋白百分数，%；

PB1——快速降解蛋白百分数，%；

PB3——慢速降解蛋白百分数，%；

PC——不可降解蛋白百分数，%。

慢速降解蛋白百分数按照以下公式 (A.4) 计算：

$$PB3 = NDIP (\%CP) - PC \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

PB3 ——慢速降解蛋白百分数，%；

NDIP——中性洗涤不溶蛋白百分数，%；

PC——不可降解蛋白百分数，%。

不可降解蛋白百分数按照以下公式 (A.5) 计算：

$$PC=ADIP(\%CP) \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

PC——不可降解蛋白百分数, %;

ADIP——酸性洗涤不溶蛋白百分数, %。

A.1.2 CNCPS对碳水化合物组分的剖分

CNCPS 将饲料中碳水化合物分为 4 个组分,即以糖类为主的快速降解碳水化合物 CA;以淀粉和果胶为主要成分的中速降解碳水化合物 CB1;以可消化纤维为主的慢速降解碳水化合物 CB2;以细胞壁为主的不可利用碳水化合物 CC。

快速降解碳水化合物百分数按照以下公式 (A.6) 计算:

$$CA=(100-\text{starch}(\%NSC)) \times NSC(\%CHO) \times 0.01 \dots\dots\dots (A.6)$$

式中:

CA——快速降解碳水化合物百分数, %;

starch——淀粉百分数, %;

NSC——非结构性碳水化合物百分数, %。

中速降解碳水化合物百分数按照以下公式 (A.7) 计算:

$$CB1=\text{starch}(\%NSC) \times NSC(\%CHO) \times 0.01 \dots\dots\dots (A.7)$$

式中:

CB1——中速降解碳水化合物百分数, %;

starch——淀粉百分数, %;

NSC——非结构性碳水化合物百分数, %。

慢速降解碳水化合物百分数按照以下公式 (A.8) 计算:

$$CB2=100 \times (\text{NDF}(\%DM) - \text{NDIP}(\%DM) - \text{ADL}(\%DM) \times 2.4) / \text{CHO}(\%DM) \dots\dots\dots (A.8)$$

式中:

CB2——慢速降解碳水化合物百分数, %;

NDF——中性洗涤纤维百分数, %;

NDIP——中性洗涤不溶蛋白百分数, %;

ADL——木质素百分数, %;

CHO——碳水化合物百分数, %。

不可降解碳水化合物百分数按照以下公式 (A.9) 计算:

$$CC=100 \times \text{ADL}(\%DM) \times 2.4 / \text{CHO}(\%DM) \dots\dots\dots (A.9)$$

式中:

CC——不可降解碳水化合物百分数, %;

ADL——木质素百分数, %;

CHO——碳水化合物百分数, %。

非结构性碳水化合物按照以下公式 (A. 10) 计算:

$$NSC=100-CB2-CC \dots\dots\dots (A. 10)$$

式中:

NSC——非结构性碳水化合物百分数, %;

CB2——慢速降解碳水化合物百分数, %;

CC——不可降解碳水化合物百分数, %。

碳水化合物百分数按照以下公式 (A. 11) 计算:

$$CHO=100-(CP+EE+ash) \dots\dots\dots (A. 11)$$

式中:

CHO——碳水化合物百分数, %;

CP——粗蛋白百分数, %;

EE——粗脂肪百分数, %;

ash——粗灰分百分数, %。

附录 B

(资料性)

体外发酵产气操作步骤

B.1 羊(牛)瘤胃液的制备

供试羊(牛)于清晨空腹经瘤胃瘘管利用瘤胃液取样器采集的瘤胃液 100 mL~200 mL, 直接转入预热至 39 °C 的保温容器中, 混合均匀后经 4 层纱布过滤, 滤液持续通入 CO₂ 气体, 然后量取 20 mL~30 mL 瘤胃上清液于 39 °C 保温容器备用。

B.2 培养液的制备

B.2.1 矿物质溶液1: 准确称取二水氯化钙13.2 g、四水氯化锰10.0 g、六水氯化钴1.0 g、六水三氯化铁8.0 g, 用蒸馏水溶解后定容至100 mL。

B.2.2 矿物质溶液2: 准确称取磷酸氢二钠5.7 g、磷酸二氢钾6.2 g、七水硫酸镁0.6 g, 用蒸馏水溶解后定容至1000 mL。

B.2.3 缓冲溶液: 准确称取碳酸氢钠35.0 g、碳酸氢铵4.0 g, 用蒸馏水溶解后定容至1000 mL。

B.2.4 刃天青溶液: 用蒸馏水溶解100 mg刃天青, 冷却至室温, 定容至100 mL。

B.2.5 还原剂溶液: 准确量取2.0 mL的1 mol的氢氧化钠溶液、称取312.5 mg九水硫化钠, 加入47.5 mL蒸馏水即可。需要现配现用。

B.2.6 缓冲溶液的配制: 将矿物质溶液1 0.12 mL、缓冲溶液237.00 mL、矿物质溶液2 237.00 mL 以及1.22 mL刃天青溶液加入到474.00 mL蒸馏水中, 加热到39 °C后, 加入还原剂溶液。

B.2.7 人工瘤胃培养液配制: 将20 mL瘤胃上清液与40 mL缓冲溶液混合, 得到混合人工瘤胃培养液。

B.3 体外产气量的测定

将 0.4000 g 待测样品干物质置于 ANKOM RFS 产气测量系统的产气瓶中, 用 60 mL 人工瘤胃培养液消化。每个培养设 3 个重复, 通过无线传输连接多个容器, 仪器自动检测并在电子表格中记录气压信息。同一批次培养中设定空白组, 即为无发酵底物, 仅有瘤胃液和培养液, 作为产气量校正。

B.4 体外发酵产气快慢池的剖分

采用 Logistic-dual pool 模型公式对不同时间点的产气量按照以下公式 (B.1) 计算, 进行快慢池产气量剖分:

$$V(t) = Vf1 / (1 + \exp(2 - 4k1(t-L))) + Vf2 / (1 + \exp(2 - 4k2(t-L))) \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

V(t)——t 时间的产气量, 单位为毫升 (mL);

Vf1——来源于快速降解的可溶部分产生的产气量, 单位为毫升 (mL);

k1——降解的可溶部分的产气速率, 单位为百分比每小时 (%/h);

Vf2——来源于慢速降解的不溶部分产生的产气量, 单位为毫升 (mL);

k2——降解的不溶部分的产气速率, 单位为百分比每小时 (%/h);

t——产气时间点, 单位为小时 (h);

L——延迟时间, 单位为小时 (h)。

B.5 有机物质降解率的测定

B.5.1 操作步骤

试验结束后将产气瓶于冰上冷却，将内容物转移到离心管中，3500 转离心 15 min，弃上清液，将残渣转移到坩埚中，105 °C 烘干至恒重，然后放到 550 °C 的马福炉中灼烧 4 h 后，称重，直至恒重。

B.5.2 计算公式

试样中有机物质的降解率按照以下公式 (B.2) 计算：

$$TDOM = (W_1 - W_2) - (W_3 - W_4) / (W_1 - W_2) \times 1000 \quad \dots\dots\dots (B.2)$$

式中：

TDOM——试样中 24 小时后的有机物质的降解率，单位为毫克每克 (mg/g)；

W₁——原样和坩埚的重量，单位为克 (g)；

W₂——原样灰化后和坩埚的重量，单位为克 (g)；

W₃——残渣烘干后和坩埚的重量，单位为克 (g)；

W₄——烘干的残渣灰化后和坩埚的重量，单位为克 (g)。

B.6 比例因子的测定

试样中比例因子按照以下公式 (B.3) 计算：

$$PF = Y/X \quad \dots\dots\dots (B.3)$$

式中：

PF——试样中比例因子，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

Y——试样中有机物质的降解率，单位为毫克每克 (mg/g)；

X——体外发酵 24 小时后的产气量，单位为毫升每克 (mL/g)。

B.7 微生物的生物合成量的测定

试样中微生物的生物合成量按照以下公式 (B.4) 计算：

$$MBP = (TDOM - (\text{气体 } t_{1/2} \times SF)) \quad \dots\dots\dots (B.4)$$

式中：

MBP——微生物的生物合成量，单位为毫克 (mg)；

TDOM——有机物质的降解率，单位为毫克每克 (mg/g)；

SF——化学计量因子，粗饲料的 SF 是 2.20，精饲料的 SF 是 2.34。

B.8 微生物生物合成效率的测定

试样中微生物生物合成效率按照以下公式 (B.5) 计算：

$$EMBS = (MBP/TDOM) \times 1000 \quad \dots\dots\dots (B.5)$$

式中：

EMBS——微生物生物合成效率，单位为克每千克 (g/kg)；

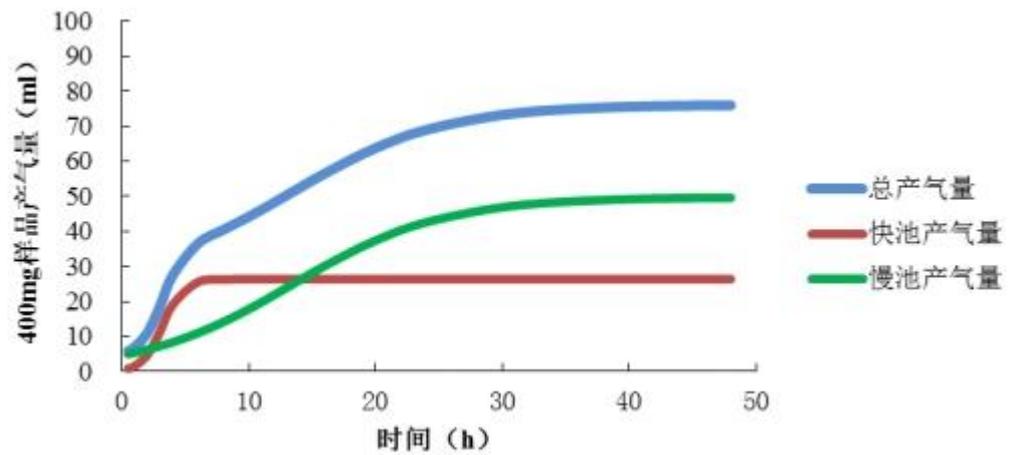
DB15/T 4047—2025

MBP——微生物的生物合成量，单位为毫克（mg）；

TDOM——有机物质的降解率，单位为毫克每克（mg/g）。

附录 C
(规范性)
产气快慢池剖分图

产气快慢池剖分图见图C.1。



图C.1 产气快慢池剖分图