

HNNY

湖南省农业技术规程

HNNY397-2023

牛饲料降解率的测定 瘤胃尼龙袋法

Determination of feeds degradability in cattle—Rumen nylon bag
method

2023-06-28 发布

2023-06-28 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前 言	1
引 言	2
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
4 饲料采样	4
5 饲料样品制备	4
6 试验用牛	4
7 测定	5
8 档案记录	8
附录 A（资料性） 饲料采样方法	9
附录 B（规范性） 饲料样品标签卡	12
附录 C（资料性） 尼龙袋的固定	144
附录 D（资料性） 饲料瘤胃外流速率的测定—铬标记法	15

前 言

本文件按照《湖南省农业技术规程制修订与发布管理规范》相关规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由湖南省农业农村厅提出，省农业农村标准化技术委员会技术归口。

本文件起草单位：湖南农业大学，山东省农业科学院畜牧兽医研究所，湖南草堂农业科技有限公司，湖南天华牧业有限公司、长沙瑞之隆生态农业有限公司，湖南德人牧业科技有限公司。

本文件主要起草人：万发春，王祚，张相伦，赵红波，沈维军，刘磊，肖定福，戈钰，兰欣怡，李付强，陆双龙，魏仲珊。

引 言

饲料营养价值的准确评定是研究动物营养需要和进行日粮配合的前提和基础。由于牛的瘤胃容纳有极其复杂且多样的微生物群落，因而牛可以大量利用秸秆等非常规饲料资源，并且其潜在饲料原料种类也远多于其它畜禽。国内外现有的针对牛饲料营养成分与营养价值的分析方法主要分为体内法和体外法，但目前均没有相关的统一标准。在体内法中，瘤胃尼龙袋法作为快速评价牛饲料营养价值的技术已经得到了广泛应用，但在不同的研究文献报道中其具体的测定条件、方法以及测定人员的操作均存在较大的差异。为提高牛饲料降解率的瘤胃尼龙袋法测定结果的可比性和重复性，实现操作的简单化和标准化，特制定本技术规程。

牛饲料降解率的测定 瘤胃尼龙袋法

1 范围

本文件规定了饲料采样、饲料样品制备、试验用牛、测定和档案管理。

本文件适用于牛饲料降解率的测定。

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 6432	饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法
GB/T 6433	饲料中粗脂肪测定方法
GB/T 6434	饲料中粗纤维测定方法
GB/T 6435	饲料中水分和其他挥发性物质含量的测定
GB/T 6438	饲料中粗灰分的测定
GB/T 14699.1	饲料 采样
GB/T 20805	饲料中酸性洗涤纤维（ADF）含量的测定
GB/T 20806	饲料中中性洗涤纤维（NDF）的测定
GB/T 24318	杜马斯燃烧法测定饲料原料中总氮含量及粗蛋白质的计算
NY/T 34	奶牛饲养标准
NY/T 8154	肉牛饲养标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 大宗饲料原料 raw feed

来源于动物、植物、微生物或者矿物质，用于加工制作饲料但不属于饲料添加剂的饲用物质。本文件所指大宗饲料原料不包括矿物质原料、乳和乳制品外的动物源性饲料原料、液体饲料原料以及青粗饲料。

3.2 非常规饲料 unconventional feed

在传统的动物饲养中未作为主要饲料使用，或畜禽日粮中不常用的饲料原料，其使用具有区域局限性，主要包括各种农业及其加工副产品。

3.3 标准玉米-豆粕型日粮 standard corn-soybean meal ration

仅以玉米和豆粕作为饲料原料提供牛所需的能量和蛋白质的精料补充料。

3.4 瘤胃食糜外流速率 outflow rate of rumen digesta

单位时间内从瘤胃中流出的食糜质量占瘤胃内食糜质量的百分比，用“%/h”表示。

4 饲料采样

4.1 精料补充料、浓缩料、全混合日粮、非常规饲料和大宗饲料原料

按照GB/T 14699.1和附录A的图A.1、A.2、A.3、A.4进行，填写附录B的表B.1。

4.2 收获、加工后的青粗饲料

按照 GB/T 14699.1 和附录 A 的图 A.5、A.6 进行，填写附录 B 的表 B.2。

4.3 人工种植的在田间生长或收获后仍放置于田间的农作物秸秆类和青绿类饲料（不含牧草）

按照附录 A 的图 A.7 进行，填写附录 B 的表 B.2。

4.4 天然生长的青绿饲料和干草

按照附录 A 的图 A.8 进行，填写附录 B 的表 B.2。

5 饲料样品制备

5.1 初始样品的制备

按照GB/T 14699.1进行，每个样品重（以干物质计）不少于2 kg。

5.2 待测样品的制备

5.2.1 精料补充料、浓缩料及其原料，全混合日粮、非常规饲料和大宗饲料原料，用3 mm筛孔粉碎。

5.2.2 粗饲料，用3 mm~5 mm筛孔粉碎。

5.2.3 青绿饲料和含水量较高的饲料，先在65 °C烘干制成风干样，再用3 mm~5 mm筛孔粉碎。

5.2.4 粉碎后的样品置于样品瓶内，清洁干燥处保存备测。

6 试验用牛

6.1 肉牛

选择品种相同，体重、年龄相近，健康的去势公牛。

6.2 奶牛

选择品种相同，体重、年龄、胎次、泌乳天数、产乳量相近，健康的泌乳奶牛。

6.3 试验牛准备

试验牛头数应不少于3头。安装瘤胃瘘管（瘘管内径大于110 mm）手术后30 d以上，已恢复正常生理状态。

6.4 日粮

6.4.1 肉牛日粮精料补充料采用标准玉米-豆粕型日粮，粗饲料为羊草，精粗比例为3:7（以干物质计）；根据NY/T 8154维持需要量的1.3倍配制标准日粮。

6.4.2 奶牛日粮精料补充料采用标准玉米-豆粕型日粮，粗饲料为苜蓿和燕麦草，精粗比例为4:6（以干物质计），粗饲料中苜蓿和燕麦比例为3:7（以干物质计）；根据NY/T 34维持加产奶需要量的1.3倍配制标准日粮。

6.5 饲养

按牛场常规饲养管理程序进行，每日饲喂两次，饲喂间隔8 h~10 h，采用全混合日粮单头饲喂，自由饮水。试验期间不能更换试验日粮，不能实施免疫、治疗及其他可能干扰瘤胃消化机能的的行为。

6.6 管理

牛舍应符合卫生防疫要求。采用自然光照，舍内温度为6℃~26℃。除喂料与清粪依据试验设计的要求进行外，其余管理措施均按常规操作规程进行。

7 测定

7.1 仪器设备

7.1.1 尼龙袋固定管，按照附录C的图C.1进行处理。

7.1.2 橡皮塞，按照附录C的图C.2进行处理。

7.1.3 洗衣机，选用涡轮洗衣机。

7.1.4 分析天平，精度0.0001 g。

7.1.5 其它仪器设备应符合GB/T 6432、GB/T 6433、GB/T 6434、GB/T 6435、GB/T 6438、GB/T 20805、GB/T 20806的规定。

7.2 试剂

应符合GB/T 6432、GB/T 6433、GB/T 6434、GB/T 6435、GB/T 6438、GB/T 20805、GB/T 20806的规定。

7.3 试验周期

每批试验预试期7 d，正试期3 d~5 d。

7.4 尼龙袋制备

尼龙袋孔径为30 μm~50 μm，尺寸为8 cm×16 cm。使用前将尼龙袋编号，放入瘤胃内72 h后取出，洗净后备用。

7.5 称样与装袋

7.5.1 将尼龙袋、待测饲料样品65 ℃ 烘干至恒重。

7.5.2 用分析天平称取尼龙袋重量和待测样品数量。精料补充料和浓缩料及其原料，全混合日粮、非常规饲料、大宗饲料原料，每袋称取3 g~5 g；青粗饲料样品每袋称取2 g~5 g。

7.5.3 将称重好的待测样品小心盛入尼龙袋底部，注意袋口处切勿沾染样品。

7.6 固定

按照附录C的图C.3进行。

7.7 放置

在晨饲前打开试验牛的瘤胃瘘管盖，用手将固定尼龙袋的PVC半软管连同尼龙袋一起送入瘤胃腹囊食糜中。将PVC半软管两端的尼龙绳牢固固定于瘘管盖外。每头试验牛瘤胃中放置1根PVC半软管。

7.8 培养时间

精料补充料、浓缩料及其原料，全混合日粮、非常规饲料和大宗饲料原料，在瘤胃内的培养时间为0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h、36 h和48 h；青粗饲料在瘤胃内的培养时间为0 h、3 h、6 h、12 h、24 h、36 h、48 h、72 h，必要时可延长至96 h~120 h。

7.9 取出

将尼龙袋放入瘤胃后开始记录时间，在每个培养时间点打开瘤胃瘘管盖，利用尼龙绳拉出PVC半软管，取出固定有尼龙袋的橡皮塞后将PVC半软管重新放回瘤胃继续培养，直至所有尼龙袋取出为止。

7.10 冲洗

尼龙袋从瘤胃取出后依旧固定在橡皮塞上，用自来水缓慢冲洗掉外部沾有的食糜，放入4 ℃ 冰箱保存。待所有样本取出后，和0 h的尼龙袋（空白对照）一同放入洗衣机清洗，清洗20 min，甩干1 min。

7.11 烘干

将清洗甩干后的尼龙袋置于真空干燥箱或鼓风干燥箱内，65 ℃ 烘干48 h左右，直至恒重。

7.12 样品与培养残余物目标成分含量测定

7.12.1 分别将各培养时间点尼龙袋中的残余物完全转移出来。

7.12.2 水分按照GB/T 6435，粗蛋白按照GB/T 6432或GB/T 24318，粗脂肪按照GB/T 6433，粗纤维按照GB/T 6434，ADF按照 GB/T 20805，NDF按照GB/T 20806，粗灰分按照GB/T 6438 分别进行测定。

7.12.3 测定结果统一折算为基于65 °C烘干基础的含量。

7.13 结果计算

7.13.1 校正装袋样品量，为用空白对照校正后的装袋样品初始重。

$$W_a = W_i \times \frac{W1}{W2} \quad (1)$$

式中： W_a 为校正装袋样品的重量，g；

W_i 为装袋样品初始重，g；

$W1$ 为空白对照冲洗烘干后的重量，g；

$W2$ 为空白对照装袋初始重，g。

7.13.2 目标成分降解量，为目标成分在某个培养时间点的降解量。

$$D_{xt} = W_a \times C_x - W_{ct} \times R_{xt} \quad (2)$$

式中： D_{xt} 为某目标成分某培养时间点的降解量，g；

W_a 为校正装袋样品量，g；

C_x 为空白对照残余物中某目标成分的含量，%；

W_{ct} 为某培养时间点残余物的重量，g；

R_{xt} 为某培养时间点残余物中某目标成分的含量，%。

7.13.3 目标成分实时降解率，根据公式 3 进行计算。

$$P_{xt} = \frac{D_{xt}}{W_a \times C_x} \times 100\% \quad (3)$$

式中： P_{xt} 为某目标成分某时间点的瘤胃实时降解率，%；

D_{xt} 为某目标成分某培养时间点的降解量，g；

W_a 为校正装袋样品的重量，g；

C_x 空白对照残余物中某目标成分的含量，g。

7.13.4 降解参数，根据公式 4 进行计算。

饲料中某成分在瘤胃中的实时降解率符合指数曲线公式：

$$P = a + b \times (1 - e^{-ct}) \quad (4)$$

式中： P 为t时刻被测样品某目标成分的瘤胃实时降解率，%；

a 为被测样品某目标成分的快速降解部分，%；

b 为被测样品某目标成分的慢速降解部分，%；

c 为b部分的降解速率，%/h；

t 为饲料在瘤胃内停留的时间, h。

利用各培养时间点实时降解率的数据 (P 和 t), 采用最小二乘法, 或统计软件中的非线性回归程序, 或饲料瘤胃降解参数计算软件, 计算式中 a 、 b 和 c 值。

7.13.5 待测饲料目标成分的瘤胃有效降解率, 根据公式 5 进行计算。

$$ED_x = a + \frac{b \times c}{c+k} \quad (5)$$

式中: ED_x 为待测样品某目标成分的有效降解率, %;

a 为待测样品某目标成分的快速降解部分, %;

b 为待测样品某目标成分的慢速降解部分, %;

c 为 b 部分的降解速率, %/h;

k 为待测样品某目标成分的瘤胃外流速率, %/h。

式中的 k 值按照附录D所规定的方法测定。由于 k 值的测定比较复杂, 因此在无测定条件时可根据被测饲料的性质和相关文献资料设定 k 值。但设定的 k 值必须符合实际情况, 有理有据。

7.14 试验结果

7.14.1 试验结果偏差应符合各目标成分检测标准的测定要求。

7.14.2 试验结果应包括各目标成分在各培养时间点的实时降解率、降解常数 a 、 b 、 c 值、食糜外流速度 k 值和有效降解率。

7.14.3 试验结果的表示应精确到小数点后两位有效数字。

7.14.4 在试验报告中应对试验动物的种类、品种、数量等情况加以说明。对 k 值的获取方法加以说明。

7.14.5 应设置技术负责人, 对试验测定数据进行审核。

8 档案记录

8.1.1 记录内容

内容包括但不限于采样信息、样品制备与保存、试验牛个体数据、采食量数据、样品分析测定数据等。要定期根据记录进行统计、分析、总结反馈。

8.1.2 档案管理

由专人管理按照管理规范进行保管, 所有纸质档案记录应保存3年以上, 同时永久保存电子档案数据。

附录 A
(资料性)
饲料采样方法

A.1 饼类饲料

饼类饲料的取样，参见图A.1。

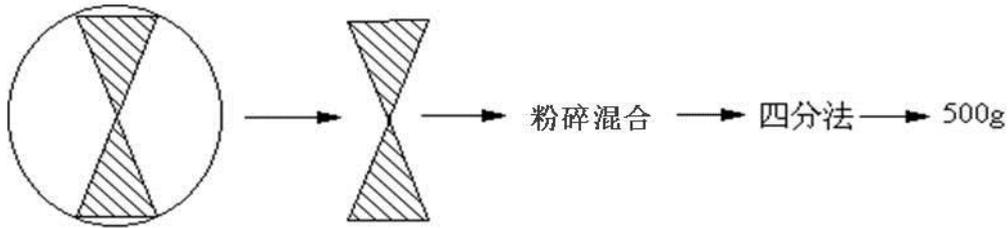


图 A.1 饼类饲料的取样方法

注：饼类大块1吨至少取5块，小块1吨至少取10块，粉碎混合，按四分法缩样至0.5 kg~1 kg（以干物质计）。

A.2 散装颗粒或粉状饲料或原料

散装颗粒或粉状饲料或原料的取样，参见图A.2。

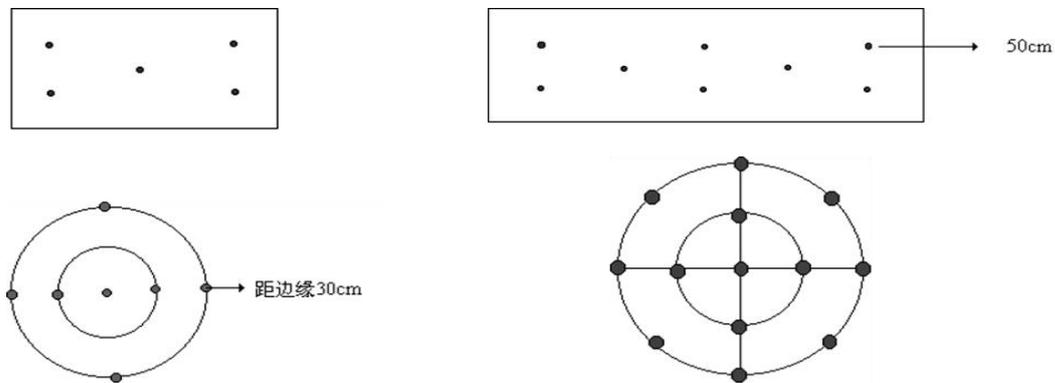


图 A.2 散装颗粒或粉状饲料或原料的取样方法

注：仓装按面积分区，按高度分层，每区不超过50 m²，分为5点；料层>0.75 m，取三层，上（10-1 cm）、中、下（20 cm），料层<0.75 m，取二层。上、下圆仓按高度分层，每层按仓直径分内（中心）、中（半径的一半处）、外（距仓边30 cm）三圈；直径<8 m，每层分别设1、2、4共7点采样。直径>8 m，每层分别设1、4、8共13点采样。袋装中小颗粒料如玉米、大麦抽样的袋数不少于总袋数的5%，粉状饲料抽样的袋数不少于3%。

A.3 糟渣类饲料

糟渣类饲料的取样，参见图A.3。

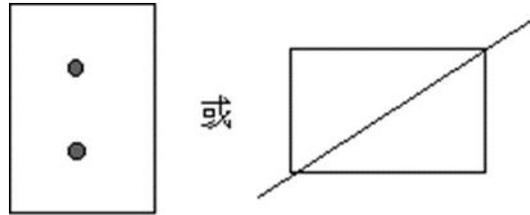


图 A.3 糟渣类的取样方法

注：与颗粒或粉状饲料相同采取多点分层取样，分三层，每层取5~10点，每点0.1 kg~0.2 kg，水分含量高的样品如豆腐渣、粉渣等要特别注意汁液的流失。将各点随机抽取的样品充分混合后，随机取样0.5 kg~1 kg（按干物质计）。

A.4 块根、块茎瓜果类饲料

块根、块茎瓜果类的采样，参见图A.4。

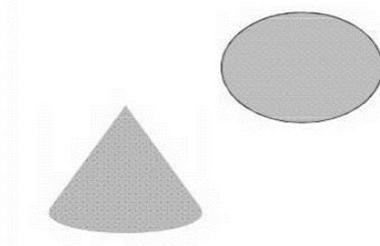


图 A.4 块根、块茎瓜果类的采样方法

注：各部位随机抽取样品10~15 kg，按大、中、小分别称重求出比例，按比例各取5 kg，水洗（不损伤外皮），拭去表面水，每个块根进行纵切，如1/2，1/4，1/8，1/16，...，直至0.5 kg~1 kg（以干物质计）。

A.5 井型窖储存饲料

收获后井型窖储存的青粗饲料和青贮饲料采样，参见图A.5。



图 A.5 井型窖取样点的选择

注：每个点取样不少于2 kg（以干物质计）

A.6 沟式窖储存饲料

收获后沟式窖储存的青粗饲料和青贮饲料采样，参见图A.6。

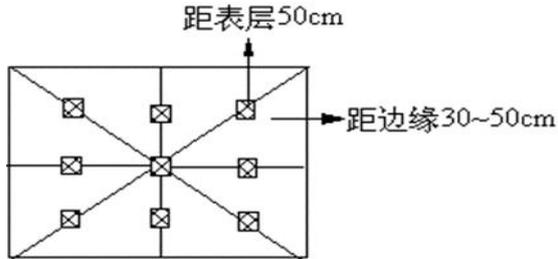


图 A.6 沟式窖青贮取样的选择

注：取样时将表面50 cm的青贮料除去，原始样重通过四分法缩至0.5 kg~1 kg（以干物质计）。

A.7 田间作物秸秆类饲料

田间作物秸秆类采样采用五点法，参见图A.7。

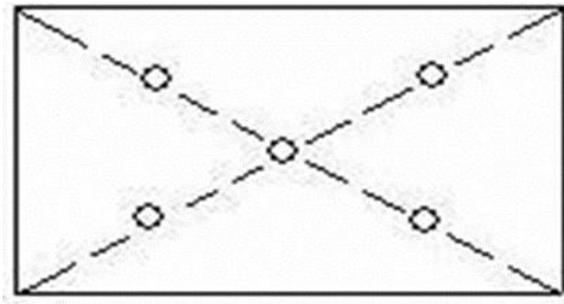


图 A.7 田间作物秸秆类采样点的选择

A.8 田间牧草类饲料

田间牧草类采样点的选择见图A.8，采用样方采样。

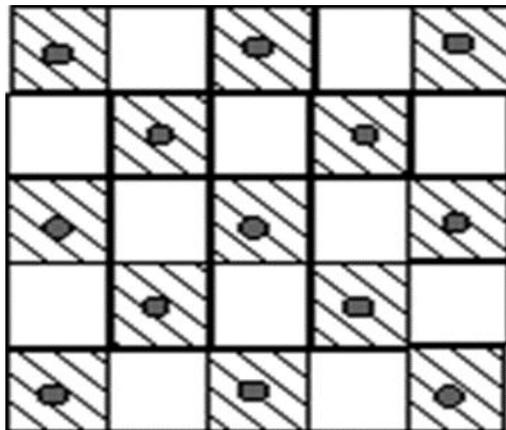


图 A.8 田间牧草类采样点的选择

附录 B
(规范性)
饲料样品标签卡

表 B.1 样品标签卡

样品编号		采样人姓名、电话	
样品名称		采样时间	
样品储存方式		采样单位	
样品采食量/kg		采样地址	
样品描述			
备注			

注：样品存储方式包括散装、袋装、其它（其它需在备注里面详细说明）。

表 B.2 样品标签卡

样品编号		采样人姓名、电话	
样品名称		采样时间	
样品品种		采样单位	
样品施肥情况		采样地址	
样品收割方式		样品储存方式	
采样时样品状态		样品采食量/kg	
株高/cm		样品描述	
样品播种时间			
样品收割时间			
备注			

注：储存方式指地里未收割、散放、无棚堆放、有棚堆放、其它（其它需在备注里面详细说明）。

附录 C
(资料性)
尼龙袋的固定

A. 9 PVC 半软管的处理

材质为PVC半软管，长度30 cm~35 cm，直径1.2 cm~1.5 cm。



图 C.1 PVC 半软管的处理

A. 10 橡皮塞的处理

规格为11号，在橡皮塞上三分之一处做一凹槽，橡皮塞中间用粗铁丝穿透折成环形固定。



图 C.2 橡皮塞的处理

A. 11 尼龙袋的固定

将装有待测样品的尼龙袋用尼龙绳扎紧袋口，然后紧紧固定在橡皮塞的凹槽内，确保其不渗漏、不脱落，每个橡皮塞上固定15个左右的尼龙袋。将带有尼龙袋的橡皮塞按培养时间顺序挂在PVC半软管的环扣上，每根PVC半软管挂7~8个橡皮塞。



图 C.3 橡皮塞固定到 PVC 半软管上

附录 D
(资料性)
饲料瘤胃外流速率的测定—铬标记法

1 原理

利用铬在动物消化道内基本不被消化的特性，将待测饲料样品与重铬酸钾按一定比例均匀混合，并使二者良好结合，借此将待测饲料样品用铬标记。将用铬标记的饲料样品定量饲喂给试验动物，在规定的不同时间点收集试验动物排出的粪便，并测定粪便中铬的含量，得到待测饲料样品的排出量与时间之间的关系曲线。采用适当的数学模型，计算出待测饲料样品在瘤胃内的实际停留时间或瘤胃外流速率。

2 试验动物与饲养管理

除瘤胃瘘管为非必须外，其他要求与饲料瘤胃降解率测定技术规程 4.1 和 4.2 中的要求基本相同。在条件允许时，建议使用测定饲料瘤胃降解率的试验动物测定瘤胃的外流速率。

3 铬标记饲料的制备

- 3.1 铬标记饲料中铬用量占待测饲料干物质的 4%~14%。
- 3.2 称取相当于以上铬用量的重铬酸钾，溶于温水中。
- 3.3 将溶解后的重铬酸钾溶液倒入装有待测饲料的搪瓷盘内，搅拌均匀至稠粥状，加盖，置于恒温干燥箱内，100℃加热 24 h。
- 3.4 将烘干的铬标记饲料放入底部装有细筛网（孔径 236 μm）的桶中，用自来水冲洗至水澄清。
- 3.5 将冲洗后的铬标记饲料放入塑料盆中，加入适量蒸馏水，将饲料悬浮于水中。加入适量抗坏血酸，搅拌均匀，使 pH 下降至 4.0，静置 12 h。
- 3.6 用水将铬标记饲料冲洗至水清亮，恒温干燥箱内 65℃烘干。
- 3.7 铬标记饲料的稳定性以 24 h 的瘤胃干物质消失率低于 10%为标准。

4 测定步骤

- 4.1 将铬标记饲料于晨饲时与精料混合一起喂给试验动物。牛的喂量为 300 g/头。
- 4.2 于饲喂后 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、54、60、72、84、96、108、120 h 用直肠采样法采集粪样。
- 4.3 将采集的粪样在恒温干燥箱内 65℃烘干至恒重后经 1.0 mm 筛粉碎，置于样品瓶中保存备测。
- 4.4 用原子吸收分光光度计法或比色法测定粪样中铬的含量。

5 结果计算

应用下式计算待测饲料的瘤胃外流速率：

$$f = C_0 \times e^{-kt}$$

式中： c_0 为粪中铬的初始浓度（粪中铬浓度最高时铬浓度），mg/kg；

f 为粪中铬达到高峰后的浓度，mg/kg；

t 为采样时间点，h；

k 为待测饲料的瘤胃外流速率，%/h。