

# 食品级硝酸盐在反刍动物甲烷减排中的运用

班志彬<sup>1</sup>,杨华明<sup>1</sup>,梁浩<sup>1</sup>,香艳<sup>2</sup>,赵玉民<sup>1\*</sup>

(1.吉林省农业科学院,吉林 公主岭 136100;2.吉林农业大学动物科学技术学院,长春 130118)

**摘要:**反刍动物排放的甲烷是温室气体的重要来源,这使得反刍动物养殖业对气候变化产生了广泛而深远的影响,并逐渐成为环境决策的一个主要关注因素。国外众多研究表明:食品级硝酸盐类物质,在安全剂量范围内,不但能成为反刍动物合成蛋白质的主要氮源,还具有长效抑制甲烷排放的功能。本文综合国内外的研究成果,对硝酸盐在反刍动物上的应用做一综述,为更好地在反刍动物生产中应用硝酸盐提供参考。

**关键词:**硝酸盐;反刍动物;甲烷

中图分类号:S815

文献标识码:A

## Use of Dietary Nitrates in Reducing Methane Emissions of Ruminant

BAN Zhi-bin<sup>1</sup>, YANG Hua-ming<sup>1</sup>, LIANG Hao<sup>1</sup>, XIANG Yan<sup>2</sup>, ZHAO Yu-min<sup>1\*</sup>

(1. Branch of Animal Husbandry, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100;

2. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** The methane emission from ruminants was an important source of greenhouse gases, which makes ruminant farming had a broad and far-reaching impact to climate change, and it has become a major concern of environmental decision-making factor. Studies showed that dietary nitrates with safety dose not only can become the main source of nitrogen silage for animal protein synthesis, but also have the long-term function of curbing greenhouse gas emissions. Achievements of researches on application of nitrate on ruminant at domestic and abroad were reviewed in the paper. This will provide references to better application of nitrate in ruminant production.

**Key words:** Nitrate; Ruminant; Methane

甲烷是一种生物源温室气体,其对温室效应产生的作用远高于二氧化碳和氧化亚氮。Steinfeld等<sup>[1]</sup>的研究表明:全球反刍动物每年产生约80万t的甲烷,约占人为排放量的28%。随着反刍家畜养殖规模的不断扩大,甲烷排放量也将日益增多,不仅严重污染环境,还造成饲料资源的大量浪费,因此,研究反刍家畜甲烷产生机制以及代谢调控技术是当今畜牧领域的热点问题之一。

## 1 反刍动物甲烷生成与调控机制

### 1.1 反刍动物甲烷生产机制

反刍动物产生的甲烷是由其特有的消化吸收

营养物质的方式所决定。在反刍动物瘤胃中,有大量纤维分解菌、产甲烷菌及其它厌氧微生物存在。瘤胃微生物将饲料中纤维素和半纤维素等碳水化合物经发酵转化成挥发性脂肪酸(VFA)、H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>等,VFA可为反刍动物提供所需能量的95%,H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>在甲烷菌的作用下通过CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>的还原途径(4H<sub>2</sub>+HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>+H<sup>+</sup>→CH<sub>4</sub>+3H<sub>2</sub>O)生产甲烷<sup>[2]</sup>。同时,瘤胃内的CO<sub>2</sub>在相关酶及辅酶的作用下与甲基呋喃化合,经过一系列反应,被氢和甲酸还原生成甲烷。瘤胃中82%的甲烷由H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>的还原反应生成<sup>[3]</sup>。甲烷不能被反刍动物消化利用,以嗝气的形式被排出。因此,甲烷是废物,减少甲烷损失,就会提高饲料养分的利用效率。

### 1.2 反刍动物甲烷调控机制

#### 1.2.1 调整饲养水平与饲喂方式

从甲烷的合成机制分析,可通过降低瘤胃内H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>产生量、增加VFA中丙酸浓度等适当的调控手段降低其排放量,但并不能完全消除。反刍动物

收稿日期:2014-06-22

基金项目:国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-38)

作者简介:班志彬(1983-),男,研究实习员,从事畜禽能量代谢研究。

通讯作者:赵玉民,男,研究员,博士生导师,E-mail:zhaoym-02-12@vip.163.com

采食粗饲料后,瘤胃内纤维降解菌大量增殖,瘤胃主要进行乙酸发酵,并产生大量的 $H_2$ ,刺激甲烷菌大量增殖,使 $CH_4$ 产量增加。而当反刍动物采食富含淀粉或可溶性碳水化合物日粮后,瘤胃内丙酸产量增加,乙酸和丙酸的比例下降,丙酸作为 $H_2$ 的受体,可使甲烷产量降低。Harper等<sup>[4]</sup>研究报道:牛采食低质粗饲料后产生的甲烷约是采食高比例谷物日粮时的4倍左右。樊霞等<sup>[5]</sup>研究报道:在能量摄入水平相同的情况下,以稻草为粗饲料,研究饲料中稻草比例为25%、60%、100%时对肉用公牛甲烷产生量的影响,结果表明,甲烷排放量分别为174.38、190.34和238.57L/d。韩继福等<sup>[6]</sup>用呼吸代谢室,测定饲料中含羊草100%、75%、50%、25%对阉牛甲烷排放量的影响,结果表明,甲烷排放量为:208.13、201.26、194.17、170.99 L/d。李建新等<sup>[7]</sup>的研究认为:调控甲烷合成必须从控制产甲烷菌数量,降低 $CO_2$ 和 $H_2$ 的产生,减少日粮在瘤胃内的滞留时间、提高瘤胃食糜流出速度等。Johnson等<sup>[8]</sup>研究认为:日粮加工调制和粒度影响甲烷合成,经过粉碎和制粒后的日粮瘤胃食糜流出速度加快,减少了在瘤胃内停留时间,从而减少甲烷产生量。说明增加日粮中精料比例及提高日粮消化率,有助于减少甲烷排放量。

### 1.2.2 添加饲料添加剂

大量研究表明反刍动物饲料添加剂能减少甲烷排放量的主要原因包括:1. 改变瘤胃VFA比例,提高日粮消化及能量水平,改善动物生产性能,从而抑制甲烷的产生。如:脂肪、脂肪酸类物质、酶制剂等。2. 通过毒害瘤胃内产甲烷菌及原虫来降低甲烷排放量。如:植物提取物单宁、皂苷、茶皂素和丝兰提取物等。3. 改变瘤胃内微生物生物膜的离子流量,从而改变微生物代谢活动,通过抑制瘤胃原虫和纤维分解菌间接地影响甲烷的产生量。如:离子载体莫能菌素等。4. 促进瘤胃内有益微生物生长,增强瘤胃发酵功能,进而减少甲烷排放量。如:酵母及酵母培养物。5. 提供新的电子转移途径,并且与甲烷菌竞争利用 $H_2$ ,抑制甲烷生成。如:丙酸前体物质富马酸和苹果酸及硝酸盐类物质<sup>[9-11]</sup>。

## 2 硝酸盐类物质简介

硝酸盐大量存在于自然界中,主要来源是固氮菌固氮形成,或在闪电的高温下空气中的氮气与氧气直接化合成氮氧化物,溶于雨水形成硝酸,再与地面的矿物反应生成硝酸盐。自然界中的硝酸菌,会把一部分硝酸盐变成亚硝酸盐。所以,几乎自然的任何角落都能找到亚硝酸盐,我们日常饮食,

水、肉、蔬菜、水果等都不可避免地含有硝酸盐或亚硝酸盐。亚硝酸盐为一类无机化合物总称,主要指亚硝酸钠。19世纪人们认识到亚硝酸盐可以作为保持食品风味和颜色的活性剂,开始将亚硝酸钠作为食品添加剂直接加入肉制品中。20世纪初,美国政府首次允许亚硝酸盐作为食品添加剂,直接运用于食品生产。亚硝酸盐具有防腐性,可作为香肠、腊肉等食品的发色剂,以维持其良好的外观。其次,亚硝酸盐还可以防止肉毒梭状芽孢杆菌的产生,提高肉制品安全性。人误食了亚硝酸盐含量高的食品,会引起亚硝酸盐类急性中毒。为保证食品安全性,1994年联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)规定,人亚硝酸盐每日允许摄入量0.2 mg/kg。我国GB2760-2007《食品添加剂使用标准》规定,直接在食品中使用亚硝酸盐的剂量为0.15 g/kg,残留量为不大于30 mg/kg。

## 3 硝酸盐在反刍动物体内的代谢途径及中毒原因

### 3.1 硝酸盐在反刍动物体内代谢途径

非蛋白氮等含氮化合物之所以能代替反刍动物的部分蛋白质饲料,其原理是反刍动物瘤胃内存在着特有的微生物群类。这些微生物群类的种类组成极其复杂,主要包括细菌和原虫两大类,它们大部分能够利用非蛋白氮(如尿素)等含氮化合物作为氮源,并利用碳水化合物分解后产生的有机酸作为能源,在瘤胃中大量生长和繁殖合成单细胞的菌体蛋白。这种单细胞菌体蛋白大量生成后,随食物进入真胃,在酶的作用下进行水解,变成可以被反刍动物胃肠道吸收利用的肽类和氨基酸。这种反刍动物与其瘤胃微生物群落的共生关系,成为尿素等含氮化合物被反刍动物利用的生物学基础。

硝酸盐进入瘤胃后先被还原为亚硝酸盐,亚硝酸盐再被转化成氨。氨和瘤胃中的有机酸作为营养物质能促进瘤胃内部分蛋白合成菌的繁殖和发育,再同碳、氧、硫等元素合成氨基酸,进一步合成自己的菌体蛋白。当饲料经过网胃、瓣胃到达真胃时,瘤胃微生物被胃液杀死,与饲料一同被消化吸收,供畜体利用。过量的氨进入血液,然后进入尿中以尿素形式排出体外。可见,硝酸盐类物质在瘤胃内的代谢途径与尿素等非蛋白氮相似,理论上可以替代尿素作为反刍动物氮源。

### 3.2 硝酸盐中毒原因

当瘤胃消化大量的含有硝酸盐的饲料后,部分硝酸盐不能立刻转化成亚硝酸盐和氨,造成了瘤胃

内硝酸盐与亚硝酸盐的蓄积,硝酸盐不断地从瘤胃内消化的食物中释放出来,这就使瘤胃内硝酸盐的蓄积量增加而瘤胃内亚硝酸盐含量超过了微生物将其转化为氨的能力时,就会造成亚硝酸盐中毒。硝酸盐和亚硝酸盐通过瘤胃进入血液,而亚硝酸盐却是有毒性的,亚硝酸盐与血红蛋白( $\text{Fe}^{2+}$ )结合成高铁血红蛋白( $\text{Fe}^{3+}$ ),血红蛋白能够携带氧到身体各部组织,高铁血红蛋白却不能。当血红蛋白被转变成高铁血红蛋白时,动物开始缺氧。进入血液的硝酸盐,不会首先发生中毒,通过唾液和肠液再返回到瘤胃内,进入瘤胃后可以被转化为亚硝酸盐、再重新进入血液,从而引起中毒。

#### 4 硝酸盐对反刍动物甲烷排放的影响

反刍动物瘤胃内甲烷的产生,主要依靠  $4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$  的还原途径,是消耗瘤胃内多  $\text{H}_2$  的重要途径。硝酸盐类物质进入瘤胃后,首先被还原成亚硝酸盐再被还原为氨,在这一过程中需消耗瘤胃内部分  $\text{H}_2$ ,同时硝酸根离子具有较强氧化性,与甲烷菌  $\text{CO}_2\text{-H}_2$  的还原途径相比更有利于被  $\text{H}_2$  还原。卢德勋等<sup>[11]</sup>的研究同样认为:硝酸盐类物质进入瘤胃后作为电子受体,可降低甲烷排放量。

硝酸盐在反刍动物中的应用多见于国外的研究报道。Leng 等<sup>[12]</sup>的研究认为:硝酸盐作为强氧化性强电子受体,被还原成氨的过程中减少甲烷产量。Takabashi 等<sup>[13]</sup>研究发现:在绵羊粗饲料中添加硝酸盐类物质,竞争性地减少瘤胃内甲烷菌所能利用的氢原子数量,从而显著降低瘤胃甲烷排放量。Zijderveld 等<sup>[14]</sup>研究认为:食品级硝酸盐可作为非蛋白氮为绵羊瘤胃微生物提供氮源,同时能长效降低甲烷排放量。Zijderveld 等<sup>[15]</sup>通过比较尿素和食品级硝酸盐对哺乳期的黑白花奶牛生产性能及甲烷排放的影响发现:硝酸盐对试验奶牛生产性能影响与尿素差异不显著( $P>0.05$ ),但甲烷排放量降低 16%。L 等<sup>[16]</sup>研究发现:在 4 月龄羔羊日粮中添加硝酸钙,瘤胃 VFA 浓度及瘤胃微生物蛋白流出量均有提高趋势,同时每千克增重甲烷排放量降低 17.3%,日粮每千克干物质甲烷排放量降低 35.4%。Hegarty 等<sup>[17]</sup>的研究表明:低氮(日粮干物质为基础粗蛋白含量 11.9%)日粮条件下,添加硝酸钙对试验组与对照组相比采食量差异不显著( $P>0.05$ ),饲料转化率显著高于尿素组( $P<0.05$ )。高氮(日粮干物质为基础粗蛋白含量 13.6%)日粮条件下,添加硝酸钙的试验牛采食量、日增重、饲料转化率均有下降趋势。

Sar 等<sup>[18]</sup>的研究中,以绵羊为试验动物,实验组比对照组晚 30 min 摄入硝酸盐,结果试验组甲烷抑制效果推迟 30 min 左右才出现,有力地证明了硝酸盐能抑制反刍动物甲烷产生。

#### 5 反刍动物日粮中添加硝酸盐类物质安全性分析

反刍动物亚硝酸中毒通常有以下几点原因:反刍动物在过度饥饿状态下,一次采食或连续采食大量的富含硝酸盐的饲料,如各种叶菜类和块根类饲料以及各种野菜和牧草、作物秧苗等,特别是日粮中含糖饲料不充足时,更易使饲料中硝酸盐还原为亚硝酸盐,致使动物发生中毒;反刍动物一次饮大量含硝酸盐高的水,也是不可忽视的引起亚硝酸盐中毒的原因。如含硝酸钾 200~500 mg/L 的饮水可引起牛羊中毒。过量施用氮肥地区的田水、井水,以及厩舍、垃圾堆附近地面水或水泡子水(含硝酸盐高达 17~30 mg/L),牛羊饮了这种水,极易引起中毒;当直接饲喂因堆放、踩踏而发生腐烂变质的叶菜类,也可直接引起亚硝酸盐中毒。

根据硝酸盐类物质在反刍动物体内的代谢途径分析,硝酸盐分解系统处于平衡状态时,畜体内并没有过量亚硝酸盐。Crawford 等<sup>[19]</sup>进行小母牛的饲养试验时发现,直接注入瘤胃硝酸根的致死剂量为 1g/kg。国外众多的研究中,硝酸盐类物质的添加剂量多为每天 0.20~0.25 g/kg,且 15~30 d 的适应期内添加剂量逐步提高。Alaboudi 等<sup>[20]</sup>的研究认为:在一定剂量范围内逐步提高反刍动物硝酸盐摄入量,相关瘤胃微生物数量及酶活性均有所提高。L 等<sup>[16]</sup>的研究中使用 3% 的硝酸钙代替 1.5% 的尿素添加于试验动物日粮,4 周适应期内硝酸盐添加量逐渐增加,试验过程中未观察到试验动物中毒现象。Zijderveld 等<sup>[15]</sup>的研究中,在 4 周的适应期内,每周硝酸盐的添加剂量按照预定剂量 25% 递增,试验动物红细胞内高铁血红蛋白含量虽略有提高,但远未达中毒水平。Trinh 等<sup>[21]</sup>以羔羊作为试验动物,比较尿素和硝酸盐对其生产性能的影响,未发现硝酸盐中毒现象。Ngoc 等<sup>[22]</sup>和 Nguyen 等<sup>[23]</sup>的研究均认为:在低蛋白日粮的动物饲养试验中,硝酸盐作为唯一的或主要的非蛋白氮源,一定的剂量范围内并提供 4 周左右的适应期,对试验动物无副作用。国内对于硝酸盐类物质的研究多集中于亚硝酸盐的毒害作用。综上可知,亚硝酸盐中毒多发于短时间内大量摄入硝酸盐类,超过瘤胃微生物的调节范围。而在一定剂量范围内,逐步提高反刍动物对硝酸盐类物质的

适应,已被国外众多研究证明不但能长效抑制甲烷排量,而且是安全的。

## 6 小 结

减缓全球气候变暖已成为世界性的难题。就反刍家畜生产而言,减少甲烷排放和提高饲料利用效率同等重要,而且前者是改善后者的重要途径。随着畜牧业的迅速发展,甲烷的排放量以惊人的速度增加。鉴于甲烷的温室气体效应,有效控制反刍动物甲烷排放迫在眉睫。据统计反刍动物每产生1 t甲烷,平均消耗20万t饲料;有报道估计全球因反刍动物甲烷排放造成的饲料损失价值相当于3亿t饲料或240亿美元。由此可见,有效控制因甲烷排放造成的饲料损失,意义十分重大。硝酸盐类物质虽已被众多国外研究报道,对反刍动物甲烷排放量有长效抑制作用。但由于其使用不当会发生畜体中毒,目前还不具备在反刍动物生产中广泛推广使用的条件。如有使用,必须控制全程和初始的安全剂量,充分考虑基础日粮的含氮水平,掌握适当的适应期,选用食品级的硝酸盐,是保障畜产品安全的重要环节。如何更安全、更高效、更便捷地使用硝酸盐类物质或寻找到对环境、对动物健康及其产品安全都有益的有效调控甲烷产量的新方法,是科研工作者的重要任务。

### 参考文献:

- [ 1 ] STENINFELD H, GERBER P, WASSENAAR T. et al. Livestock's long shadow environmental issues and options[R]. 2006: 3-123.
- [ 2 ] SMITH P, MARTINO D, CAI Z, et al. Greenhouse gas mitigation in agriculture[J]. The Royal Society, 2008(363): 789-813.
- [ 3 ] Wall E, Simm G, Moran D, et al. Developing breeding schemes to assist mitigation of greenhouse gas emissions[J]. Animal Science, 2009(4): 366-376.
- [ 4 ] HARPER L A, DENMEAD O T, FRENEY J R, et al. Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle [J]. Journal of Animal Science, 1999, 77(6): 1392-1401.
- [ 5 ] 樊 霞,董红敏,韩鲁佳,等. 肉牛甲烷排放影响因素的试验研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 179-182.
- [ 6 ] 韩继福,冯仰廉,张晓明. 阉牛不同日粮的纤维消化、瘤胃内VFA对甲烷产生的影响[J]. 中国兽医学报, 1997, 17(3): 278-280.
- [ 7 ] 李建新,高腾云. 影响瘤胃甲烷气产量的因素及其调控措施[J]. 家畜生态, 2002, 23(4): 67-69.
- [ 8 ] JOHNSON K A M, HURLER H, WEST BERG B, et al. Measurement of methane emissions from ruminant's livestock using SF<sub>6</sub> tracer technique[J]. Environ Science Techno, 1994(28): 359-362.
- [ 9 ] 毛华明,张春霞. 反刍动物甲烷排放量营养调控的研究进展[J]. 饲料研究, 2009(8): 57-59.
- [ 10 ] 华金玲,张永根. 瘤胃内甲烷生成的影响因素及其调控[J]. 饲料博览, 2007(7): 20-22.
- [ 11 ] 胡红莲,卢德勋,高 民. 反刍动物甲烷排放及其减排调控技术[J]. 饲料营养研究进展, 2010(Z1): 155-122.
- [ 12 ] LENG R A, PRESTON T R. Further considerations of the potential of nitrate as a high affinity electron acceptor to lower enteric methane production in ruminants[J]. Livestock Research for Rural Development, 2010, 22(12): 221.
- [ 13 ] TAKABASHI J, YONG B A. Effect of L-cysteine on nitrate-induced alteration in respiratory exchange and metabolite in sheep[J]. Animal Feed Science and technology, 1991(35): 105-113.
- [ 14 ] ZIJDERVELD VAN S M, GERRITS W J J, APAJALAHTI J A, et al. Nitrate and sulfate effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep[J]. Journal of Dairy Science, 2010(93): 5856-5866.
- [ 15 ] ZIJDERVELD VAN S M, GERRITS W J J, DIJKSTRA J, et al. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(8): 4028-4038.
- [ 16 ] L L, DAVIS J, NOLAN J, et al. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source[J]. Animal Production Science, 2012(52): 653-658.
- [ 17 ] HEGART R S, MILLER J, ROBINSON D L, et al. Growth efficiency and carcass attributes of feedlot cattle supplemented with calcium nitrate or urea[J]. Advances in Animal Science, 2013(4): 440.
- [ 18 ] SAR C, SANTOSO B, GAMO Y, et al. Effects of combination of nitrate with  $\beta$  1-4 galacto-oligosaccharides and yeast on methane emission from sheep[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 2004(17): 73-79.
- [ 19 ] CRAWFORD R F, KENNEDY W K, DAVISON K L. Factors influencing the toxicity of forages that contain nitrate when fed to cattle[J]. Cornell Veterinary Medicine, 1966(56): 3-17.
- [ 20 ] ALABOUDI A R, JONES G A. Effect of acclimation to high nitrate intakes on some rumen fermentation parameters in sheep [J]. Can. J. Anim. Science, 1985(65): 841-849.
- [ 21 ] TRINH PHUC HAO, HO QUANG DO, PRESTON T R, et al. Nitrate as a fermentable nitrogen supplement for goats fed forage based diets low in true protein[J]. Livestock Research for Rural Development, 2009(21): 10.
- [ 22 ] NGOC HUYEN LE THI, DO HQ PRESTON T R, Leng R A. Nitrate as fermentable nitrogen supplement to reduce rumen methane production[J]. Livestock Research for Rural Development, 2010(22): 146.
- [ 23 ] NGUYEN NGOC ANH, KHUCH THI HUW, DUONG NHUYEN KHANG, et al. Effect of calcium nitrate as NPN source on growth performance and methane emissions of goats fed sugar cane supplemented with cassava foliage[C]. Proceedings MEKARN Conference 2010 Live stock production, climate change and resource depletion[A]. 2010.