

氢氧化钙处理对甘蔗渣化学成分及瘤胃发酵参数的影响

郭望山^{1,2} 孟庆翔^{1,2}

(1. 动物营养国家重点实验室, 北京 100094; 2. 中国农业大学 动物科技学院/ 肉牛研究中心, 北京 100094;)

摘要 采用化学分析、活体外人工瘤胃产气量法和两步法, 研究氢氧化钙处理(0、2%、4%、6%和8%(占干物质质量分数,下同))对甘蔗渣化学成分和活体外发酵参数的影响, 确定提高营养价值幅度最大时的添加剂量。结果表明: 随氢氧化钙添加水平的提高, 甘蔗渣干物质中中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和木质素含量呈二次曲线规律显著降低($P < 0.05$), 到8%添加量时, 3者分别减少了23、5和7个百分点, 钙和粗灰分含量呈二次曲线规律显著提高($P < 0.05$); 同时, DM、NDF消化率、96 h产气量和总挥发酸(VFA)产量也显著增加($P < 0.05$), DM和NDF消化率都达到了60%。综合数学模型求得本试验结论: 氢氧化钙添加水平在5.1%~6.5%范围内提高甘蔗渣干物质和细胞壁消化率的幅度最大, 最为有效地提高了发酵程度。

关键词 甘蔗渣; 氢氧化钙; 化学处理; 化学成分; 瘤胃发酵

中图分类号 S 816.2; S 816.34

文章编号 1007-4333(2006)03-0065-05

文献标识码 A

Effect of treatment of sugar cane bagasse with calcium hydroxide on its chemical components and ruminal fermentation traits in vitro

Guo Wangshan^{1,2}, Meng Qingxiang^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100094, China;

2. College of Animal Science and Technology/Beef Cattle Research Center, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract This study was conducted to examine the nutritional value of sugar cane bagasse fibers treated with calcium hydroxide (CH) and ensure the economical addition level based on measurements of changes in chemical components, gas production and two stage technique in vitro. Bagasse was treated with calcium hydroxide at 5 addition levels (0, 2%, 4%, 6%, and 8% of dry materials). As CH addition level increased, bagasse had quadratically increased contents of calcium and ash ($P < 0.05$), but quadratically decreased contents of NDF, ADF and lignin ($P < 0.05$), and increased ($P < 0.05$) digestibilities of DM, NDF, potential gas production and total VFA production. At the calcium hydroxide dose of 8%, the contents of NDF, ADF and lignin decreased by 23%, 5% and 7% respectively, the digestibilities of DM and NDF got up to 60%. In conclusion, calcium hydroxide treatment can enhance the fermentation of sugar cane bagasse by rumen microorganisms, with the effective level of calcium hydroxide added at 5.1 to 6.5% of dry bagasse.

Key words sugar cane bagasse; calcium hydroxide; chemical treatment; chemical components; in vitro rumen fermentation

甘蔗渣是制糖工业的副产品,是廉价的粗饲料,但由于其木质化程度高,消化率较低,所以不直接做反刍动物饲料。国内外尝试各种方法处理甘蔗渣,其中碱处理最为有效,添加氢氧化钙最为经济、安全。用不同质量分数氢氧化钙溶液处理皮、髓质混

合蔗渣和髓质蔗渣,其干物质和粗纤维的尼龙袋消化率均随氢氧化钙溶液浓度的递增而逐次提高。用8%氢氧化钙溶液处理的皮髓质混合蔗渣与菠萝渣青贮混合物,其体外干物质消化率达61.53%^[1]。甘蔗渣经尿素、氢氧化钙、氢氧化钠溶液处理后,中

收稿日期: 2005-05-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270944)

作者简介: 郭望山, 硕士研究生; 孟庆翔, 教授, 博士生导师, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: qxmeng@cau.edu.cn

性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和木质素含量均不同程度下降,其中经尿素和氢氧化钙溶液处理后,活体外有机物质消化率可以达到小麦秸的水平^[2]。甘蔗渣经化学处理后,纤维降解以及甲烷和挥发性脂肪酸产量显著提高^[4]。在100℃下,用10%氢氧化钙溶液浸泡甘蔗渣1h后,使瘤胃48h的干物质消化率从30.8%提高到62.7%^[5]。添加氢氧化钙可以提高瘤胃甘蔗渣的酶解程度,如木质素含量降低14个百分点,证明每克干物质中添加0.1g氢氧化钙为最宜^[6]。经氢氧化钙溶液处理后的甘蔗渣,其糠醛、羟甲基糠醛的含量明显下降,而有机酸(乙酸,甲酸和乙酰丙酸)含量没有变化。上述试验证明氢氧化钙处理能改善甘蔗渣的营养价值,但在适宜添加量上并未达成共识,且未指出在何种添加量下,单位剂量氧化钙提高消化率的幅度最大^[7]。

我国年产甘蔗渣1800多万t,目前主要用途是造纸和燃料,而作为饲料应用的比例很少,这主要与缺少经济有效的加工处理方法有关。本研究旨在探索有效的处理方法,确定单位剂量提高消化率幅度最大时氢氧化钙的添加量,提供甘蔗渣在反刍动物饲养中有效利用的理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源与处理方法

按占干物质0.2%、4%、6%和8%的比例,称量氢氧化钙(北京化学试剂公司,化学纯,含钙69.5%)用一定量蒸馏水(调整甘蔗渣最终含水率为35%所需的水量)溶解,并添加到鲜甘蔗渣(含水率28.5%)中。将氢氧化钙水溶液与甘蔗渣混合均匀后装入体积为1L的广口瓶中,压紧后用胶塞密封,在室温(25℃)下静置处理40d。上述每个处理的甘蔗渣均进行2个重复。在完成处理后打开广口瓶,取出所处理饲料在室温下干燥。用锤片式粉碎机粗粉碎(孔径约2mm)后再用旋风磨(0.5mm;Perten Laboratory Mill 3100)进一步细粉碎,并置于封口塑料袋中供进一步分析测定。

1.2 活体外发酵

1) 活体外人工瘤胃产气量测定。采用Menke等^[8]的活体外产气法进行体外试验。将0.2g处理甘蔗渣放入100mL特制的培养管中,39℃预热。于晨饲前通过瘤胃瘘管分别采集4头本地杂交黄牛的瘤胃内容物,等体积混合后,以4层纱布过滤,并

迅速加入装有经CO₂饱和并预热39℃的缓冲液中,配制成混合培养液(瘤胃液与缓冲液配比为1:2)。用自动加液器向各培养管加入30mL混合培养液,迅速放入已预热(39℃)的人工瘤胃培养箱中培养,分别记录培养1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、56、64、72、80、88和96h各培养管活塞的刻度值(mL)。

2) 活体外两阶段法消化率测定。采用Tilley与Terry^[9]的方法进行两阶段法体外培养。分别称取0.5g风干样品于2个特制纤维袋中(孔径400目,本实验室制),并装入培养管。配制由瘤胃液与缓冲液组成的混合培养液(瘤胃液与缓冲液配比为1:1)。在厌氧条件下用自动加液器向各培养管加入70mL混合培养液,迅速盖好装有本森阀的橡胶盖,放入39℃恒温水浴箱中培养48h后迅速取出纤维袋用冷水冲洗,而后加入胃蛋白酶盐酸溶液(0.2%(质量分数)胃蛋白酶溶解在0.1mol/L HCl,活性1:10000),继续在39℃培养48h。取出洗净,烘干,计算DM消化率,袋内残渣直接用于测定NDF含量,计算NDF消化率。

1.3 主要检测指标及分析方法

样本化学成分测定包括水分(105℃烘干)、CP(AOAC 990.03)、NDF、ADF、木质素^[10]、Ca、P和灰分含量^[3]。NH₃-N含量测定采用Broderick和Kang方法^[11]。VFA含量采用3420气相色谱仪(北京分析仪器厂)进行分析。色谱条件:PEG20M+H₃PO₄玻璃填充柱,2m×6mm×2mm,柱温145℃,载气为氮气,流速30mL/min,FID检测器,温度200℃。进样口温度200℃,进样量0.6μL。

1.4 统计处理

对化学成分、活体外消化率、瘤胃发酵参数用SAS(SAS System for Windows, Release 6.12, SAS 1996, Institute. Inc, Cary, N. C.)统计软件进行方差分析(GLM)和多重比较(SNK),并对上述指标的平均数受不同氢氧化钙添加水平的影响进行直线(L)和二次曲线反应(Q)趋势分析。计算0.2000g甘蔗渣DM活体外净产气量(96h),并根据数学模型 $GP = B \times (1 - \exp(-c \times (t - lag)))$,利用SAS(1996)统计软件中NON-LINEAR方法计算样本的动态产气参数,式中:GP为t时间点0.2000g底物DM的产气量,mL;B为0.2000g底物DM的理论最大产气量,mL;c为样本产气速度/h;lag为样本的产气延滞期,h;t为活体外培养时间,h。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度氢氧化钙处理对甘蔗渣化学成分的影响

表1列出了分别添加2%、4%、6%和8%氢氧化钙对化学指标影响的结果。随氢氧化钙添加量的提高,甘蔗渣中钙和灰分含量都呈二次曲线规律($P < 0.05$)增加,但磷含量受氢氧化钙添加水平的影响不显著($P = 0.059$)。NDF和ADF含量随氢氧化钙添加量的增加呈二次曲线规律下降($P < 0.05$),其中NDF含量在4%氢氧化钙添加比例下就有显著下

降,此后氢氧化钙的添加量每增加2个百分点,甘蔗渣NDF含量下降大约7个百分点,到8%添加量时效果最好,较未处理组降低了23个百分点。ADF含量在2%~6%氢氧化钙添加水平下较未处理组均没有显著差异,只有氢氧化钙添加水平达到8%时才有显著差异($P < 0.05$)。处理后甘蔗渣的木质素含量随氢氧化钙添加水平的提高呈二次曲线规律下降($P < 0.05$),其中在氢氧化钙添加量达到8%时才出现显著差异($P < 0.05$)。NDF、ADF和木质素不同程度的下降与毛华明等^[2]所得结果一致。

表1 氢氧化钙处理后甘蔗渣化学成分变化

Table 1 Effect of calcium hydroxide treatment at various levels on the chemical components of bagasse

| 化学成分 | $w(\text{Ca}(\text{OH})_2)/\%$ | | | | | SEM | P | P | |
|------------|--------------------------------|--------|--------|-------|-------|------|---------|---------|---------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | | | L | Q |
| 干物质 DM | 92.1b | 91.8bc | 91.6bc | 92.9a | 91.3c | 0.16 | 0.004 | 0.089 | 0.069 |
| 粗蛋白 CP | 2.57 | 2.44 | 2.37 | 2.31 | 2.28 | 0.10 | 0.281 | 0.040 | 0.598 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 91.0a | 89.0b | 82.0c | 74.7d | 68.0e | 0.38 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 56.7a | 56.2ab | 55.4bc | 55.5c | 51.6d | 0.20 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| 木质素 lignin | 19.4a | 19.0a | 18.9a | 18.0a | 12.8b | 0.48 | 0.000 | 0.001 | 0.002 |
| 灰分 ash | 4.70e | 6.48d | 8.90c | 13.8b | 16.4a | 0.14 | <0.0001 | <0.0001 | 0.000 |
| Ca | 0.70e | 1.65d | 2.82c | 4.23b | 5.41a | 0.03 | <0.0001 | <0.0001 | 0.002 |
| P | 0.05 | 0.10 | 0.05 | 0.06 | 0.07 | 0.00 | 0.059 | 0.845 | 0.714 |

注:同行数字具有不同字母者差异显著($P < 0.05$),下同。

2.2 不同含量氢氧化钙处理对甘蔗渣动态产气参数和消化率的影响

从添加不同水平氢氧化钙处理的甘蔗渣动态产气量曲线(图1)来看,与未处理相比,2%和4%氢氧化钙添加水平的产气量提高幅度较小。数据拟合非

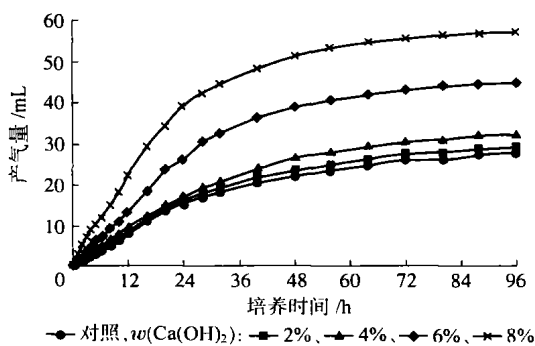


图1 氢氧化钙处理后甘蔗渣的产气趋势

Fig. 1 Dynamic change of cumulative gas production of bagasse treated with calcium hydroxide

线性回归方程得出各发酵参数值(表2)。与未处理的对照组相比,2%和4%氢氧化钙处理的甘蔗渣96h产气量分别提高1.2和4.3mL,而6%和8%氢氧化钙添加水平的产气量分别提高16.8和29.2mL。理论估测的最大产气量与96h产气量相接近。随氢氧化钙添加量的提高,处理甘蔗渣的产气速度加快,而产气延滞期明显缩短($P < 0.05$),其中8%氢氧化钙添加水平的产气延滞期最短。

由图2、3可见,氢氧化钙处理能够显著提高($P < 0.05$)甘蔗渣DM和NDF消化率。与未处理相比,2%氢氧化钙添加水平的DM和NDF消化率没有显著变化($P > 0.05$)。从4%添加量开始,氢氧化钙水平每增加2个百分点,DM和NDF消化率平均增加近16个百分点。当添加量达到8%时,其DM消化率达到60%,该结果与Gandi等^[4]采用10%氢氧化钙溶液浸泡的效果相近。当氢氧化钙添

表2 氢氧化钙处理甘蔗渣活体外产气动态参数的变化

Table 2 Effect of calcium hydroxide treatment on the kinetics of *in vitro* gas production of bagasse

| 指标 | $w(\text{Ca}(\text{OH})_2)/\%$ | | | | | SEM | P | P | |
|-----------------------|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|------|----------|----------|----------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | | | L | Q |
| 96 h 产气量/mL | 27.8 d | 29.0 d | 32.1 c | 44.6 b | 57.0 a | 0.99 | <0.000 1 | <0.000 1 | <0.000 1 |
| 最大产气量/mL | 29.0 d | 30.3 d | 34.7 c | 47.1 b | 58.3 a | 0.99 | <0.000 1 | <0.000 1 | <0.000 1 |
| 产气速度/ h^{-1} | 0.032 b | 0.032 b | 0.028 c | 0.034 b | 0.043 b | 0.00 | <0.000 1 | 0.000 1 | <0.000 1 |
| 产气延滞期/h | 1.00 a | 0.92 a | 0.36 a | 0.71 a | 0.19 b | 0.15 | 0.006 | 0.003 | 0.968 |

加到一定量,其增加的碱性或钙离子对瘤胃微生物可能具有毒害作用,因此消化率的增加幅度下降。将DM和NDF消化率与添加量进行3次曲线模拟后进行数学求导计算,DM和NDF消化率曲线的拐点分别出现在6.5%和5.1%氢氧化钙添加水平上。本试验结果说明,8%氢氧化钙添加量虽能使DM和NDF消化率达到最高,但经数学模型求得

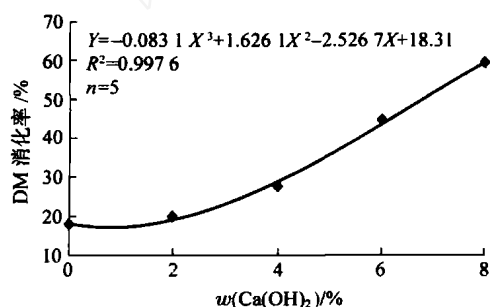


图2 不同添加量氢氧化钙处理对甘蔗渣活体外干物质消化率的影响

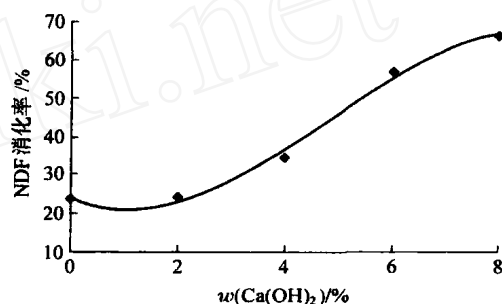
Fig. 2 Effect of treatment of bagasse with calcium hydroxide at various levels on its *in vitro* DM digestibility

图3 不同水平氢氧化钙处理对甘蔗渣活体外细胞壁消化率的影响

Fig. 3 Effect of treatment of bagasse with calcium hydroxide at various levels on its *in vitro* NDF digestibility

出,添加水平在5.1%~6.5%范围内甘蔗渣营养价值的提高幅度最大,单位剂量添加效果最好。

2.3 不同含量氢氧化钙处理对甘蔗渣瘤胃pH、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和VFA的影响

表3列出了氢氧化钙添加水平对瘤胃发酵参数影响的结果。随氢氧化钙添加水平的提高,瘤胃发酵pH和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈线性规律下降($P < 0.05$),

表3 氢氧化钙处理对甘蔗渣活体外瘤胃发酵参数的影响

Table 3 Effect of calcium hydroxide treatment of bagasse on its rumen fermentation traits *in vitro*

| 指标 | $w(\text{Ca}(\text{OH})_2)/\%$ | | | | | SEM | P | P | |
|------------------------|--------------------------------|---------|----------|--------|---------|------|----------|----------|-------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | | | L | Q |
| pH | 6.85a | 6.77b | 6.77b | 6.75b | 6.73 b | 0.01 | 0.002 | 0.000 | 0.184 |
| (氨态氮)/(mg/100 mL) | 23.4 a | 22.7 ab | 21.0 abc | 18.8 c | 19.7 bc | 0.80 | 0.011 | 0.001 | 0.416 |
| c(总挥发性脂肪酸)/(mmol/L) | 16.2 c | 17.0 c | 34.6 b | 40.9 a | 44.2 a | 1.09 | <0.000 1 | <0.000 1 | 0.177 |
| c(挥发性脂肪酸)/(mol/100 mL) | | | | | | | | | |
| 乙酸 | 65.8 | 67.4 | 68.6 | 70.3 | 69.6 | 1.47 | 0.317 | 0.068 | 0.498 |
| 丙酸 | 16.9 | 16.8 | 17.3 | 16.2 | 16.4 | 0.64 | 0.785 | 0.470 | 0.687 |
| 异丁酸 | 2.5 | 2.0 | 1.5 | 1.5 | 1.3 | 0.29 | 0.152 | 0.026 | 0.439 |
| 丁酸 | 10.6 | 10.4 | 9.9 | 9.2 | 10.5 | 0.44 | 0.285 | 0.330 | 0.136 |
| 异戊酸 | 4.2 | 3.4 | 2.8 | 2.7 | 2.2 | 0.48 | 0.158 | 0.026 | 0.539 |
| 乙/丙 | 3.9 | 4.0 | 4.0 | 4.3 | 4.2 | 0.21 | 0.600 | 0.191 | 0.962 |

而总挥发性脂肪酸产量呈线性规律增加 ($P < 0.05$), 在 Kivaisi 等^[3]的研究中也有与此相一致的报道, 反映了氢氧化钙处理能够提高瘤胃微生物对甘蔗渣的发酵程度。本试验结果与处理甘蔗渣 NDF 和 ADF 含量变化的结果相一致。各种挥发酸的摩尔比例及乙酸/丙酸摩尔比例基本上不受氢氧化钙添加水平的影响 ($P > 0.05$), 这与 Martinez 等^[6]的结果一致。

3 结 论

用质量分数为 0.2%、4%、6% 和 8% 的氢氧化钙溶液处理甘蔗渣后, 其 NDF、ADF 和木质素含量随氢氧化钙浓度的增加而逐渐降低, 干物质和细胞壁消化率大幅度提高。虽然在 8% 氢氧化钙添加比例下处理甘蔗渣降低纤维组分和改善瘤胃发酵参数的效果最好, 但以提高瘤胃干物质和细胞壁消化率为衡量指标, 结合数学模型计算发现, 处理甘蔗渣的氢氧化钙添加水平在 5.1% ~ 6.5% 范围内提高营养价值的幅度最大。

参 考 文 献

- [1] 杨家晃, 秦黎梅. 处理方法对甘蔗渣干物质和粗纤维消化率的影响[J]. 广西农业科学, 1998, (3): 144-147
- [2] 毛华明, 邓卫东, 冯仰廉. 化学处理提高甘蔗渣营养价值的研究[J]. 动物营养学报, 2000, 12(2): 62-64
- [3] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1999
- [4] Kivaisi A K, Eliapenda S. Pretreatment of bagasse and coconut fibers for enhanced anaerobic degradation by rumen microorganisms [J]. Climate Change, Energy and Environment, 1994, 5(5~8): 791-795
- [5] Gandi F, Holtzaple M T, Ferrer A, et al. Lime treatment of agricultural residues to improve rumen digestibility [J]. Animal Feed Science and Technology, 1997, 68: 195-211
- [6] Change V S, Nagwani M, Holtzaple M T. Pretreatment of crop residues baasse and wheat straw [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1998, 74(3): 135-159
- [7] Martinez A, Rodriuez M E, York S W, et al. Effects of Ca(OH) sub (2) treatments ("overliming") on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2000, 69(5): 526-536
- [8] Menke K H, Raab L, Salewski A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro [J]. J Agric Sci, 1979, 93: 217-222
- [9] Tilly J M A, Terry R A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crop [J]. J Br Grassland So, 1963, 18: 104-111
- [10] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition [J]. J Dairy Sci, 1991, 74: 3583-3597
- [11] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and amino acids in ruminal fluids and in vitro media [J]. J Dairy Sci, 1980, 63: 64-75