

Fodring med fedt, nitrat og 3-NOP som metanreducerende tilsætningsstoffer, alene og i kombination med hinanden

Rådgivningsnotat fra DCA – National Center for Fødevarer og Jordbrug

Forfatter: Morten Maigaard Sørensen

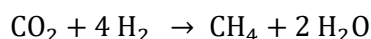
Institut for Husdyrvidenskab, Århus Universitet

Datablad

Titel:	Fodring med fedt, nitrat og 3-NOP som metanreducerende tilsætningsstoffer, alene og i kombination med hinanden
Forfatter:	Ph.D.-stud. Morten Maigaard Sørensen, Institut for Husdyrvidenskab
Fagfællebedømmelse:	Professor Peter Lund, Institut for Husdyrvidenskab
Kvalitetssikring, DCA:	Specialkonsulent Klaus Horsted, DCA Centerenheden
Rekvirent:	Fødevarerstyrelsen
Dato for bestilling/levering:	09.05.2022/ 12.05.2022
Journalnummer:	2022-0370760
Finansiering:	Besvarelsen er udarbejdet som led i "Rammeaftale om forskningsbaseret myndighedsbetjening" indgået mellem Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri (FVM) og Aarhus Universitet under ID nr. 22-H3-13 "Ydelsesaftale Husdyrproduktion 2022-2025".
Ekstern kommentering:	Nej.
Eksterne bidrag:	Nej.
Kommentarer til besvarelse:	Notatet præsenterer resultater, som ved notatets udgivelse ikke har været i eksternt peer review eller er publiceret andre steder. Ved en evt. senere publicering i tidsskrifter med eksternt peer review vil der derfor kunne forekomme ændringer.
Citeres som:	Sørensen, M.M. 2022. Fodring med fedt, nitrat og 3-NOP som metanreducerende tilsætningsstoffer, alene og i kombination med hinanden. Antal sider 9. Rådgivningsnotat fra DCA – Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug, Aarhus Universitet, leveret: 12.05.2022.
Rådgivning fra DCA:	Læs mere på https://dca.au.dk/raadgivning/

Introduktion

Effektive fodertilsætningsstoffer forventes at kunne bidrage betydeligt til reduktion af malkekøers emission af enterisk metan, hvilket stammer fra deres fordøjelse. Vommens iltfrie omsætning af primært kulhydrater fra foderet resulterer i produktion af kuldioxid (CO₂) og brint (H₂). Disse produkter er mellemprodukter i vommens omsætning og det er afgørende at disse kontinuerligt fjernes, for ikke at hæmme fermenteringsprocessen. Begge mellemprodukter er substrat for metanproducerende mikroorganismer (metanogener), der omdanner CO₂ og H₂ til metan (CH₄) og vand (H₂O) efter følgende formel:



Fedt som fodermiddel og nitrat og 3-NOP som fodertilsætningsstoffer virker hæmmende på køers metanudledning med forskellige virkemekanismer. Fedt bidrager direkte til køens energiforsyning, uden at danne ekstra grundlag for fermentering og dermed produktion af H₂ i vommen, og der er derfor mindre substrat til rådighed for metanogenerne når fermenterbart organisk stof erstattes med fedt i rationen. Nitrat bliver i vommen reduceret til hhv. nitrit og ammoniak i to H₂-forbrugende processer. Dermed er der mindre H₂ til rådighed for metanproduktion, som derved reduceres ved tilsætning af nitrat. Nitrat har tilsyneladende også en direkte hæmmende effekt på metandannende mikroorganismer. 3-nitrooxypropanol (3-NOP) virker specifikt ved at hæmme det sidste enzym (methyl coenzym M-reduktase) i metanproduktionen, som derved reduceres (Ermler et al., 1997). I det fedt, nitrat og 3-NOP har forskellige virkningsmekanismer til at reducere metanproduktionen, er det nærliggende at forvente, at virkemidlerne kan kombineres for at opnå en metanreducerende effekt, der som minimum er på niveau med hvad det enkelte virkemiddel kan præstere. Aarhus Universitet, AU Foulum, har derfor i perioden september 2020 til februar 2021 gennemført et forsøg, hvor formålet var at undersøge effekten af fedt, nitrat og 3-NOP, alene og i kombination med hinanden, på malkekøers foderoptagelse, mælkeproduktion og metanproduktion. Foreløbige resultater og konklusioner baseret på dette forsøg præsenteres i nærværende notat.

Forsøget

Forsøget blev gennemført på Danmarks Kvægforskningscenter, hvor der indgik 48 malkekøer (Dansk Holstein), ligeligt fordelt mellem førstekalvs- og ældre køer. Køerne blev fodret ad libitum med en grundration, der så vidt muligt afspejlede en typisk dansk ration. Rationen indeholdt 50 % grovfoder (tørstof (TS)-basis), hvoraf 48 % var kløvergræsensilage og 52 % var majs-helsædsensilage. Behandlingerne var arrangeret således, at der var to niveauer af hvert virkemiddel (fedt, nitrat og 3-NOP), hhv. lav/høj fedt (valset rapsfrø; 30 vs. 63 g råfedt/kg TS), +/- nitrat (calcium ammonium nitrat; 0 vs. 10 g nitrat/kg TS) og +/- 3-NOP (0 vs. 80 mg 3-NOP/kg TS). I alt var der 8 behandlinger (tabel 1). Indholdet af nitrat i rationen blev øget på bekostning af urea, og således at rationerne have samme indhold af kvælstof (N).

Tabel 1. Oversigt over behandlinger med fedt, nitrat og 3-NOP som metanhæmmende virkemidler.

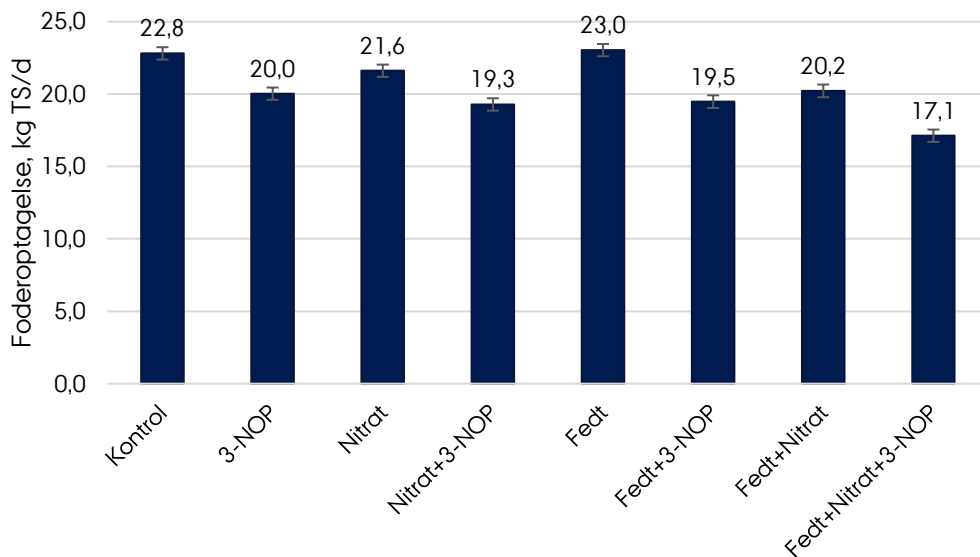
Behandling	Fedtniveau	Nitrat	3-NOP
Kontrol	Lav	-	-
3-NOP	Lav	-	+
Nitrat	Lav	+	-
Nitrat + 3-NOP	Lav	+	+
Fedt	Høj	-	-
Fedt + 3-NOP	Høj	-	+
Fedt + Nitrat	Høj	+	-
Fedt + Nitrat + 3-NOP	Høj	+	+

Forsøgsdesignet var et ukomplet romerkvadratforsøg, der bestod af 6 forsøgsperioder, der hver varede 21 dage. Hver ko testede derved 6 ud af 8 forskellige behandlinger.

Køerne blev desuden malket to gange dagligt og produktion af metan blev målt ved hjælp af GreenFeed-udstyr (C-Lock inc, Rapid City, SD). I opgørelsen af data for foderoptagelse, mælkeproduktion og metanproduktion anvendtes data fra de sidste 7 dage af hver periode for hver individuel ko, for at sikre at hver ko var adapteret til den pågældende behandling. I alt indgik 278 observationer i opgørelsen.

Resultater

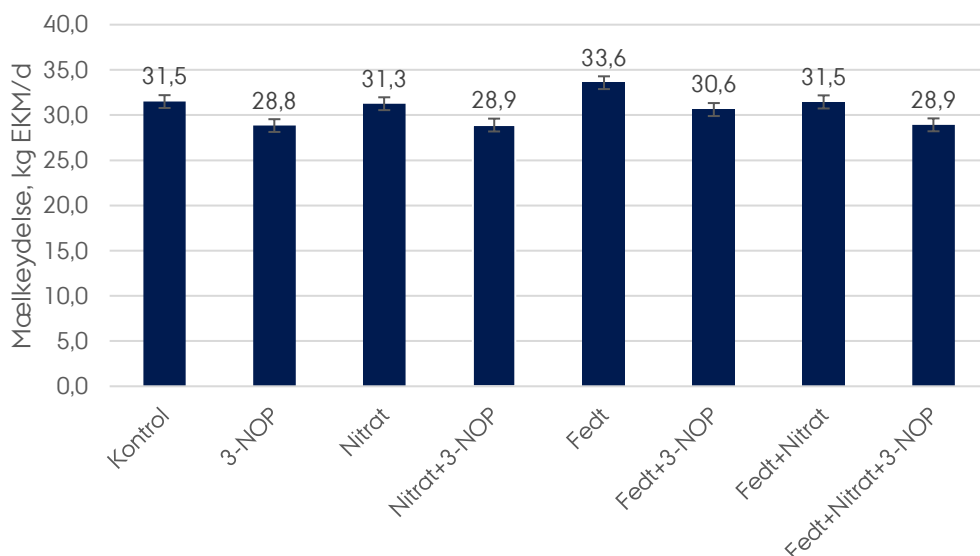
I det følgende præsenteres foreløbige resultater af foderoptagelse, mælkeydelse (energikorrigeret mælk; EKM) og metanproduktion. Eventuelle effekter af fedt, nitrat og 3-NOP er primært præsenteret som hovedeffekter, der er vurderet på tværs af de øvrige behandlinger. Eventuelle vekselvirkninger baseres på parvise sammenligninger af behandlingsgrupper.



Figur 1. Gennemsnitlig daglig foderoptagelse pr. ko (kg TS/d) for hver af de 8 behandlingsgrupper.

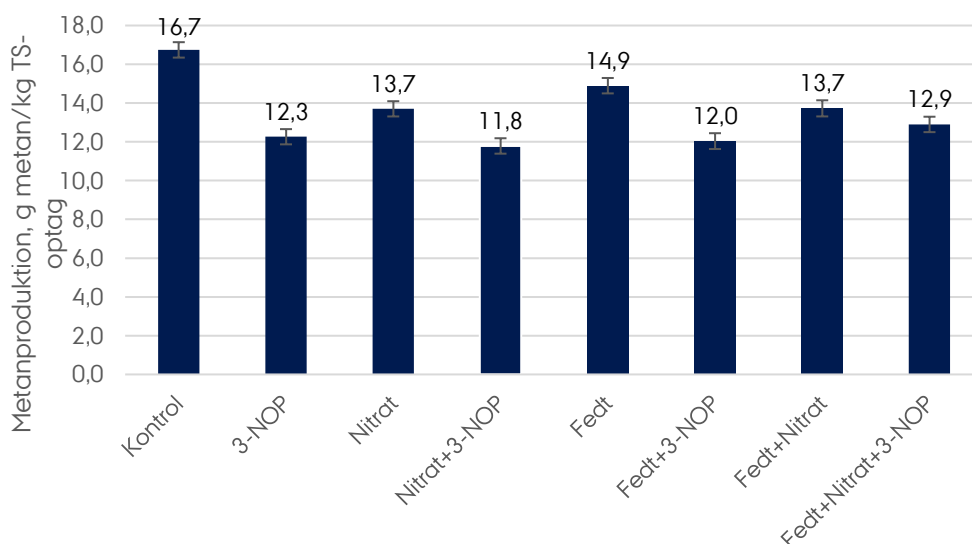
Af figur 1 fremgår det, at køernes foderoptagelse blev påvirket af behandlingerne. Overordnet set reducerede tilsætning af hhv. fedt, nitrat og 3-NOP foderoptagelsen med hhv. 4, 8 og 13 % ($P < 0,01$). Der var desuden en vekselvirkning mellem fedt og nitrat ($P < 0,01$), der viste at reduktionen i foderoptagelse var større (-12,6 %), når fedt og nitrat blev fodret i kombination sammenlignet med kun at tildele nitrat (-4,7 %) (data ikke vist). Fodres virkemidlerne alene (uden kombination), var det kun 3-NOP der reducerede foderoptagelsen signifikant (-12 % sammenlignet med kontrol). Tildeltes både fedt, nitrat og 3-NOP i kombination var effekten på foderoptagelse additiv, og denne behandlingsgruppe reducerede foderoptagelsen med 25 % i forhold til kontrolgruppen.

Det høje fedtniveau i fedtrationer har betydet, at disse rationer har været mere energirige (+4%; beregnet). Det kan forklare nedgangen i foderoptagelse ved tildeling af fedt. Fra relevant litteratur har der ikke umiddelbart været indikationer af, at tildeling af nitrat påvirker foderoptagelsen. I et tidligere dansk forsøg med nitrat (Olijhoek et al., 2016) blev der ikke fundet nogen reduktion i foderoptagelse ved tildeling af 5,3, 13,6 eller 21,1 g nitrat/kg TS og det samme gør sig gældende i et Hollandsk forsøg (van Zijderveld et al., 2011). For 3-NOP har der ikke tidligere været påvist en reduktion i foderoptagelse ved malkekøer ved en dosis på 80 mg/kg TS (Kim et al., 2020), men et nyligt publiceret forsøg fra Holland har indikeret, at der er en dosisrelateret negativ sammenhæng mellem dosis af 3-NOP og foderoptagelse (van Gastelen et al., 2022), der muligvis kan understøtte de danske resultater.



Figur 2. Gennemsnitlig daglig mælkeydelse pr. ko (kg EKM/d) for hver af de 8 behandlingsgrupper.

Gennemsnitlig mælkeydelse (EKM) var også negativt påvirket af 3-NOP-behandlingerne (figur 2), angiveligt som følge af den reducerede foderoptagelse. Derimod responderede køer på et højt fedtniveau med en 6,9 % højere mælkeydelse, men en vekselvirkning mellem fedt og nitrat ($P < 0,01$) viste, at denne positive effekt forsvandt, når tildeling af fedt og nitrat blev kombineret. Umiddelbart viser disse resultater, at foderoptag var mere påvirket end mælkeproduktionen, som følge af især 3-NOP-behandlingerne. Dette kan angiveligt skyldes at responset i mælkeproduktion helt generelt er forsinket i forhold til responset i foderoptagelse, hvilket gør at de absolutte ændringer i mælkeproduktion bør evalueres i et forsøg af længere varighed.



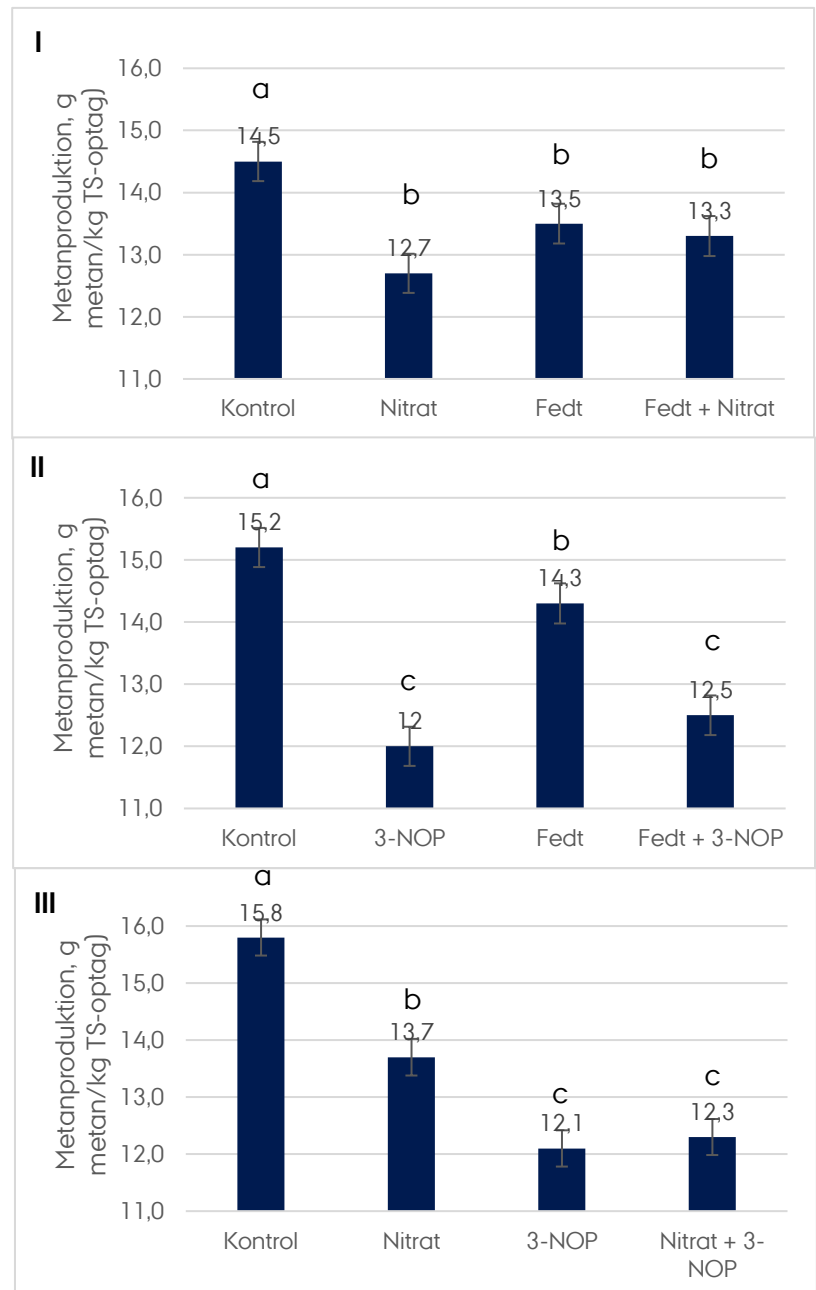
Figur 3. Gennemsnitlig daglig metanproduktion pr. ko relativt til gennemsnitlig foderoptagelse (kg metan/kg TS-optag) for hver af de 8 behandlingsgrupper.

Da køers metanproduktion er positivt korreleret til foderoptagelse, og da behandlingerne i dette forsøg påvirkede foderoptagelsen, bør metanproduktionen korrigeres herfor (g metan/kg TS-optag). Af figur 3 ses det, at fedt, nitrat og 3-NOP, fodret alene, reducerede

metanproduktionen signifikant. Analysen viste dog betydelige to-vejs vekselvirkninger mellem de tre virkemidler (hhv. fedt og nitrat, fedt og 3-NOP, samt nitrat og 3-NOP), der gør at effekten af kombinationer af virkemidler må vurderes som en parvis sammenligning af de pågældende behandlingsgrupper.

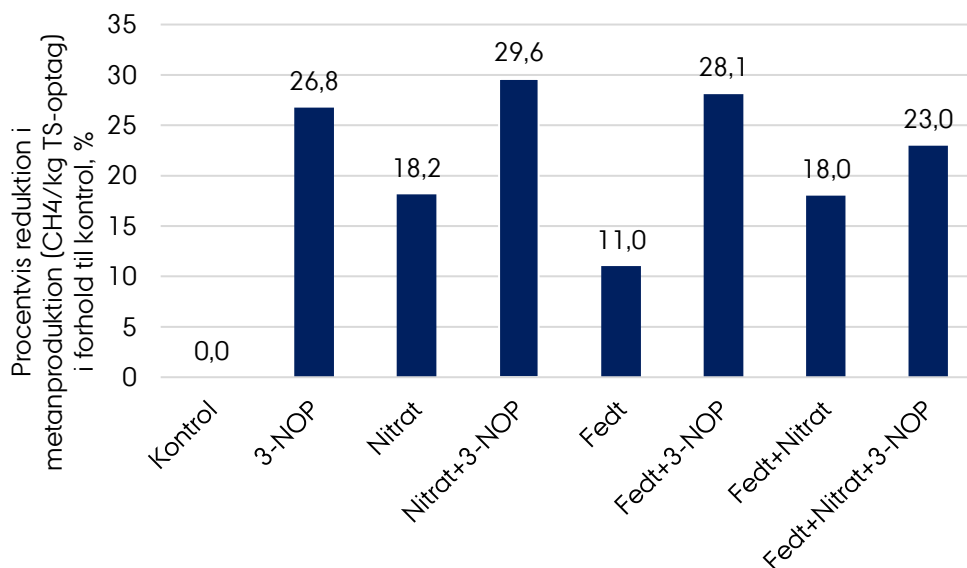
Figur 4 viser en illustration af disse vekselvirkninger. Vekselvirkningen mellem fedt og nitrat ($P < 0,01$) (figur 4I) viste at både fedt og nitrat reducerede metanproduktionen med hhv. 6,9 og 12,4 %, mens kombinationen af både fedt og nitrat ikke reducerede metanproduktionen yderligere i forhold til blot at tildele fedt eller nitrat. Vekselvirkningen mellem fedt og 3-NOP ($P < 0,01$) (figur 4II) viste samme mønster; nemlig at fedt og 3-NOP begge reducerer metanproduktionen med hhv. 5,9 og 21,1 %, men at kombinationsbehandlingen ikke førte til en signifikant merreduktion i forhold til blot at tildele 3-NOP. Endeligt viste vekselvirkningen mellem nitrat og 3-NOP ($P < 0,01$) (figur 4III) at 3-NOP reducerede metanproduktionen mere end nitrat gjorde (23,4 % vs. 13,3 %). Dog førte kombinationsbehandlingen af nitrat og 3-NOP ikke til en yderligere reduktion end hvad der blev opnået ved 3-NOP-behandlingen. Analysen viste ingen 3-vejs vekselvirkning mellem fedt, nitrat og 3-NOP, men af figur 3 kan det ses, at en kombination af fedt, nitrat og 3-NOP ikke reducerede metanudledningen yderligere i forhold til enkeltvirkemidler.

De opnåede reduktioner for virkemidlerne tildelt alene stemmer overvejende overens med de i litteraturen opnåede reduktioner for fedt og 3-NOP (fedt: Brask et al. (2013); 3-NOP: Hristov et al. (2015), van Gastelen et al. (2022)), hvorimod reduktionerne opnået i nærværende forsøg for nitrat, var højere end angivet i relevant litteratur (Olijhoek et al., 2016). Der er indtil nu ikke litteratur tilgængelig om forsøg, der har kombineret fedt fra rapsfrø, nitrat og 3-NOP, men vekselvirkningerne i nærværende forsøg indikerer manglende additivitet mellem



Figur 4. Illustration af to-vejs vekselvirkninger på metanproduktion (g metan/kg TS-optag) for vekselvirkningerne I) fedt og nitrat, II) fedt og 3-NOP og III) nitrat og 3-NOP. Bemærk at værdierne for a) er beregnet på tværs af 3-NOP behandlinger; b) er beregnet på tværs af nitrat-behandlinger og for c) er beregnet på tværs af fedt-niveauer. Søjler med forskelligt bogstav indikerer signifikant forskel.

virkemidlerne i de i forsøget anvendte dosis. Dette til trods for, at den forventede virkningsmekanisme er forskellig for hvert af de tre virkemidler, især for fedt og 3-NOP og for fedt og nitrat.



Figur 5. Procentvis reduktion i metanproduktion (g CH₄/kg TS-optag), angivet som %-vis reduktion i forhold til kontrolbehandlingen for hver af de 8 behandlinger.

Figur 5 angiver den procentvise metanreduktion (CH₄/kg TS-optag) i forhold til kontrolbehandlingen, der blev opnået ved behandlingerne. Her ses det også, at kombinationsbehandlingerne ikke resulterede i reduktioner der var større, end hvad det enkelte, mest effektive, virkemiddel kunne præstere.

Konklusion

På baggrund af det i notatet beskrevne forsøg kan det konkluderes, at fedt, nitrat og 3-NOP som metanreducerende virkemidler er effektive til at reducere metanudledningen, når de fodres alene, i en typisk dansk ration. Forsøget viste desuden, at tildeling af virkemidlerne i de anvendte dosis, havde en uventet negativ effekt på produktionsparametre som foderoptagelse og mælkeproduktion. Fortsatte undersøgelser er nødvendige for at afklare, om tilfredsstillende metanreducerende effekt, uden negative følgevirkninger på produktionsparametre, kunne være opnået ved anvendelse af lavere dosis af særligt 3-NOP og nitrat.

Forsøget var designet til at kunne påvise eventuelle vekselvirkninger mellem de enkelte metanreducerende tilsætningsstoffer. Kombinationsbehandling af fedt og nitrat, fedt og 3-NOP samt nitrat og 3-NOP viste alle, at virkemidlerne ikke har en additiv effekt på metanreduktionen og at ingen kombinationer af virkemidler er mere effektive end de pågældende enkeltvirkemidler. Tværtimod viste resultaterne en markant negativ, omend additiv, effekt på køernes foderoptagelse og mælkeydelse, når de blev tildelt både fedt, nitrat og 3-NOP i kombination, der på lang sigt vurderes at være skadelig for køernes sundhed.

Det er med forsøget ikke muligt at vurdere, om virkemidlerne eventuelt måtte have haft en additiv effekt, hvis dosis af især 3-NOP og nitrat havde været lavere, eller hvis den negative effekt på produktionsparametre kunne have været afhjulpet på anden vis.

Referencer

Brask, M., P. Lund, M. R. Weisbjerg, A. L. F. Hellwing, M. Poulsen, M. K. Larsen, and T. Hvelplund. 2013. Methane production and digestion of different physical forms of rapeseed as fat supplements in dairy cows. *J Dairy Sci* 96(4):2356-2365.

Ermiler, U., W. Grabarse, S. Shima, M. Goubeaud, and R. K. Thauer. 1997. Crystal Structure of Methyl-Coenzyme M Reductase: The Key Enzyme of Biological Methane Formation. *Science* 278 (5342):1457-1462.

Hristov, A. N., J. Oh, F. Giallongo, T. W. Frederick, M. T. Harper, H. L. Weeks, A. F. Branco, P. J. Moate, M. H. Deighton, S. R. Williams, M. Kindermann, and S. Duval. 2015. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(34):10663-10668.

Kim, H., H. G. Lee, Y.-C. Baek, S. Lee, and J. Seo. 2020. The effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, rumen fermentation, and production performance in ruminants: a meta-analysis. *J Anim Sci Technol* 62(1):31-42.

Olijhoek, D. W., A. L. F. Hellwing, M. Brask, M. R. Weisbjerg, O. Højberg, M. K. Larsen, J. Dijkstra, E. J. Erlandsen, and P. Lund. 2016. Effect of dietary nitrate level on enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99(8):6191-6205.

van Gastelen, S., J. Dijkstra, J. M. L. Heck, M. Kindermann, A. Klop, R. de Mol, D. Rijnders, N. Walker, and A. Bannink. 2022. Methane mitigation potential of 3-nitrooxypropanol in lactating cows is influenced by basal diet composition. *J Dairy Sci* 105(5):4064-4082.

van Zijderveld, S. M., W. J. Gerrits, J. Dijkstra, J. R. Newbold, R. B. Hulshof, and H. B. Perdok. 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. *J Dairy Sci* 94(8):4028-4038.