

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Jeg er født og oppvokst i en blokkleilighet i Oslo med verandakasse som hage. Likevel er det alltid dyr og natur som har interessert meg. Min videregående utdanning tok jeg på Natur videregående skole, hvor jeg gikk ut etter fire år med studiekompetanse og agronomutdannelse. Det var drøvtyggere som viste seg å være min lidenskap, så på UMB har jeg spesialisert meg innen nettopp drøvtyggere og ernæring. Det har vært fem lærerike år, samt et intenst siste halvår på lesesalen hvor jeg har sittet fordypet i litteratur og skriving.

I skriveprosessen har familien vært en stor støtte for meg hvor de tålmodige har stått ved min side selv om jeg utallige ganger har måttet takke nei til middager og hytteturer med begrunnelsen ”jeg MÅ på lesesalen”. Jeg ønsker å takke dem for tålmodigheten, samt mine gode venninner på lesesalen for mange hyggelige te- og kakepauser på verandaen på tårn, min private datatjeneste, Anders Myhr, som har hjulpet meg med alle tekniske utfordringer en masteroppgave har å by på. Mine korrekturlesere; Tove Grøndahl, Torgeir Reierstad og sist men ikke minst Kornelius Paulsen som har fungert både som korrekturleser, inspirator, klagemur, pådriver og trofast støttespiller gjennom hele skriveprosessen.

Til tross for sene prøvesvar og derfor tre måneders utsettelse, har min veileder Erling Thuen og min biveileder Odd Magne Harstad veiledet meg til å skrive denne masteren, og Steffen Adler har stilt med resultater til alle døgnets tider. Tusen takk til dere.

Det er to ”veiledere” som ikke står på noe papir, men som jeg ønsker å rette en spesiell takk til. Det er Arild Helberg, som har guidet meg gjennom prøvetagningen i fjøset og alltid var på telefon om det var noe jeg lurte på, og Tonje Marie Storlien som har hjulpet meg med tolking av prøvesvarene og alltid ønsket mine spørsmål velkommen.

Tusen takk alle sammen for deres støtte og tålmodighet.

Ås, august 2010

Kine Anethe Grøndahl

Sammendrag

Formålet med oppgaven var å se på effekten av botanisk sammensetning i surfôr på metanproduksjon hos melkekyr. Dette ble gjort som en del av et PhD studie og det var markørmetoden SF₆ som ble brukt for å måle metanproduksjonen.

Forsøket ble utført på Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB) under Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap i perioden november 2009 til februar 2010. De fire forsøkskyrne fikk tildelt fire forskjellige surfôrtyper; kløverblanding, engblanding, raigras og timotei i et 4x4 latinsk kvadrat. Alle kyrne fikk under hele forsøket tildelt lik mengde kraftfôr, som besto av bygg, melasse og mineraler.

Kyr fôret med raigras hadde lavest metanproduksjon, med 25g/kg tørrstoffinntak mot rødkløver med 51 g/kg tørrstoffinntak. Det var stor variasjon i datasettet, og sikkerheten rundt dataene er det derfor stilt spørsmål ved.

Utarbeidete likninger som skal kunne estimere metanproduksjonen hos drøvtyggere ble testet opp i mot resultatene i dette forsøket. Det var liten sammenheng mellom estimerte og observerte verdier. Det var stor variasjon i dataene, den høyeste sikkerheten (R^2) var 0,25 og den oppgitte R^2 til likningen var 0,54.

Resultatene fra forsøket på UMB viser at det kan være en sammenheng mellom botanisk sammensetning i surfôret og metanproduksjon. Dataene viser tidvis store variasjoner, men det var en trend at dyrene som fikk raigrassurfôr slapp ut minst metan. Det er derfor grunn til å anta at det er en sammenheng mellom botanisk sammensetning av surfôret og metanproduksjonen hos melkekyr.

Hypotesen *"Det forventes en lavere metanproduksjon hos de kyrne som får kløversurfôr enn de som får de resterende fôrslagene"* kan ikke bekreftes i dette forsøket, da kyrne som fikk kløver var de som produserte mest metan. Dette var derimot ikke ventet, da litteraturstudiet viste at kløver er det fôrslaget som skulle gitt lavest metanproduksjon.

Hypotesen *"Det forventes gode korrelasjoner mellom faktiske målinger og predikerte resultater ved bruk av likninger"* kan heller ikke bekreftes i dette forsøket, da R^2 varierte fra 0,0002 til 0,25. I forsøkene som ble sett på i litteraturstudiet var det en relativt høy R^2 som varierte fra 0,54-0,75. En mulig forklaring er at grunnlaget for likningene har et annet fôrgrunnlag enn hva som er brukt i dette forsøket.

Abstract

The main purpose of this master thesis was to study the effects of botanical composition of silage and the methane emission from dairy cows. This thesis was a part of a PhD study, and for methane collection it was the SF₆ tracer method that was used.

The study was sustained at the University of Life Sciences under the Department of Animal and Aquaculture Sciences and lasted from November 2009 until February 2010. The four cows were introduced to four different silages; clover, pasture, ryegrass and timothy in a 4x4 Latin square. They received equal amount of concentrate, which consisted of barley, molasses and minerals, throughout the whole study.

Cows fed ryegrass had the lowest methane emission (25 g/kg dry matter intake) and red clover had the highest emission (51 g/kg dry matter intake). It was considerable variation in the data set.

Some equations have been made to be able to estimate the methane emission in ruminants. These were tested against the results in this study, and the findings were unexpected. There was low correlation between estimated and observed values. R² varied a lot, the highest was 0,25, and the given R² was 0,54.

Results from this study shows that there may be a correlation between composition of silage and methane emission. There are great variations in the data set, but there was a trend that the animals who received ryegrass had the lowest methane emission. There are reasons to believe that there is a connection between the botanical composition of silage and methane emission in dairy cows.

The hypothesis “It is expected that the cows receiving clover will have the lowest methane emission” could not be confirmed in this study, when the cows receiving clover were the ones with highest emission. This result was not expected, when the literature study showed that clover is the feed that should have given the lowest methane emission.

The hypothesis “It is expected that the results from this experiment will correlate with the results when using the equations” cannot be confirmed in this study. R² ranged from 0,0002-0,25. The literature study showed that the results from the equations correlated with a R² of 0,54-0,75. One explanation might be that the feed used for preparation of the equations have a different composition than the feed in this study.

Innholdsfortegnelse

3.0 Innledning.....	5
4.0 Metanproduksjon hos drøvtyggere.....	7
4.1 Fordøyelsessystemet til drøvtyggere.....	7
4.2 Fermenteringsprosessen.....	8
4.2.1 pH.....	8
4.2.2 Metanogenesen.....	9
4.3 Faktorer som påvirker metanproduksjonen.....	10
4.3.1 Faktorer ved fôr og fôring.....	10
4.3.2 Bestanddeler i fôret.....	16
4.3.3 Faktorer ved dyret.....	20
4.4 Ulike metoder for metanmåling.....	20
4.4.1 Markørmetoden.....	21
4.4.2 Respirasjonskammer.....	21
4.4.3 Likninger.....	22
4.5 Produktivitet.....	25
5.0 Egne undersøkelser.....	27
5.1 Materialer og metoder.....	27
5.1.1 Forsøksdyr.....	27
5.1.2 Forsøksopplegg.....	28
5.1.3 Fôr og fôring.....	28
5.1.4 SF ₆ som metode.....	29
5.1.5 Prøvetagning av metan.....	29
6.0 Resultater.....	33
6.1 Fôrsammensetning.....	33
6.2 CH ₄ produksjon.....	35
6.3 Estimering av metanproduksjon ved hjelp av utarbeidete likninger.....	39
7.0 Diskusjon.....	43
7.1 Variasjon og sikkerhet.....	43
7.2 Effekt av fôrets botaniske sammensetning på metanproduksjonen.....	44
7.3 Likningenes samsvar med faktiske observasjoner.....	45
8.0 Konklusjon.....	46
9.0 Litteraturliste.....	47

3.0 Innledning

Det har i de siste årene vært stor interesse for klimagasser, spesielt de menneskeskapte, også kalt antropogene utslipp. En økende konsentrasjon av disse gassene i atmosfæren fører til at en mindre del av den infrarøde strålingen fra jordoverflaten slipper ut gjennom atmosfæren. Dette resulterer i global oppvarming med en estimert økning av gjennomsnittstemperaturen på 1 – 2 °C innen år 2030 (Moss et al. 2000). De viktigste klimagassene er karbondioksid (CO₂), metan (CH₄) og nitrogen oksid (N₂O) (Moss et al. 2000), og konsentrasjonen av disse gassene i atmosfæren har økt dramatisk de siste 150 årene (Monteny et al. 2006). Lenge før global oppvarming var et allment kjent tema, ble det fattet interesse for metanproduksjon hos storfe da det ble klart at metanproduksjonen reduserer energiutnyttelsen av fôret (Johnson & Johnson 1995; O'Mara 2004).

Jordbruket står for 60 % av metanutslippet i Europa. Det er drøvtyggerne som står for store deler av utslippet, da den anaerobe fordøyelsen i formagene fører til at kyrne raper opp betydelige mengder CH₄. Enmagede dyr slipper ut veldig lite til sammenligning, (Moss et al. 2000). Selv om fermentering i tarm er en av de store utslippskildene av klimagasser i husdyrholdet, da antallet enmagede dyr er veldig stor (O'Mara 2004). CH₄ er både en klimagass og et energirikt biprodukt fra vomfermenteringen hos drøvtyggere (McDonald et al. 2002). Den er en potent klimagass, da CH₄ er 21 ganger kraftigere enn CO₂. Det betyr at en kg CH₄ tilsvarer 21 kg CO₂ (O'Mara 2004). Det er vanlig å regne om CH₄ i CO₂ ekvivalenter, da dette er mer sammenlignbart.

16.februar 2005 trådte Koyotoavtalen i kraft (Miljøstatus 2009). Norge har i den forbindelse forpliktet seg til å se til at totalt utslipp av klimagasser i perioden 2008-2012 ikke overstiger 52,5 millioner tonn CO₂ ekvivalenter i året (Utenriksdepartementet 2001). I 2008 var det et samlet utslipp på 53,7 millioner tonn, mens i 2009 var utslippet 50,8 millioner tonn CO₂ ekvivalenter, hvorav 4,0 millioner var fra landbruket (SSB 2010). De viktigste kildene til metanutslipp i verden er husdyrhold, rismarker, søppelfyllinger, produksjon og transport av naturgass og utvinning av kull (Forurensningsdirektoratet 2003). På verdensbasis produserer drøvtyggere omtrent 80 millioner tonn CH₄ årlig, hvilket utgjør rundt 28 % av antropogene utslipp (Beauchemin et al. 2008).

Drøvtyggeren er en viktig ressurs for menneskeheten. Dette er fordi den kan omdanne botanisk materiale til høyverdige proteinkilder som mennesket kan utnytte, da enmagede dyr ikke klarer å omdanne store mengder botanisk materiale effektivt. I fordøyelsesprosessen av

botanisk materiale er det hos drøvtyggere mikrober som bryter ned og omorganiserer næringsstoffene så drøvtyggeren kan ta det opp (Greathead 2003). Denne prosessen foregår i et anaerobt miljø i vomma, og det dannes H^+ som binder seg til karbon (C) og danner CH_4 (Tsuda et al. 1991).

Opptil 12 % av bruttoenergien (BE) i fôret tapes som metangass hos drøvtyggere (Johnson & Johnson 1995). Dette er energi som i teorien kunne blitt brukt til melkeproduksjon eller kjøttproduksjon, og er et tap som ønskes redusert til det minimale. Økt effektivitet i melkeproduksjonen vil føre til behov for færre dyr, og dermed lavere utslipp per produktenhet (O'Mara 2004). Metanproduksjonen kan påvirkes av eksempelvis rasjonssammensetning og fôringsstrategier. Det er gjort forsøk som viser at fett (Beauchemin et al. 2009), tanniner (Greathead 2003) og saponiner (Holtshausen et al. 2009) i fôret har negativ innvirkning på metanproduksjonen. Tannin er et polyfenol, som vil si at de har mer enn en fenolgruppe per molekyl. Tanniner brukes til å behandle proteinerike fôrslag så de ikke skal kunne brytes ned i vomma, men passere til tykktarmen hvor enzymer skal kunne nyttgjøre seg av næringsstoffene (McDonald et al. 2002). Tanniner og saponiner finnes i belgvekster, som eksempelvis kløver. En annen viktig faktor som påvirker metanproduksjonen er grovfôr/kraftfôr forholdet (Beauchemin et al. 2008).

Denne oppgaven består av to deler. Den første er en litteraturred hvor det kommer frem hvordan CH_4 produseres hos drøvtyggere og hvilke faktorer som påvirker dette. Den andre delen består av egne undersøkelser i forsøket D-150, hvor melkekyr ved Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap på Universitetet for miljø- og biovitenskap i perioden november 2009 til februar 2010 fikk tildelt fire forskjellige grovfôrtyper; kløverblanding, engblanding, raigras og timotei. Det ble under forsøket målt CH_4 med markørmetoden SF_6 , for å se de respektive fôrslagenes utslag på metanproduksjonen.

Problemstilling:

Er det noen effekt av botanisk sammensetning av surfôr på metanproduksjonen hos melkekyr?

Hypoteser:

- Det forventes en lavere metanproduksjon hos de kyrne som får kløversurfôr enn de som får de resterende grovfôrslagene.
- Det forventes gode korrelasjoner mellom faktiske målinger og predikerte resultater ved bruk av likninger.

4.0 Metanproduksjon hos drøvtyggere

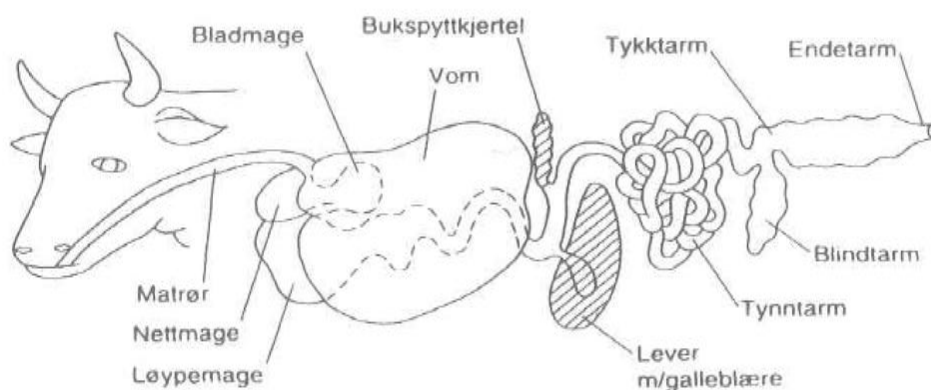
CH₄ er et avfallsstoff fra den mikrobielle fermenteringen i vom.

4.1 Fordøyelsessystemet til drøvtyggere

Fôret til drøvtyggere består i hovedsak av fiberrike produkter som gras og grasprodukter, hvor karbohydrater er det kvantitativt viktigste hovednæringsstoffet og utgjør i snitt tre firedeler av tørrstoffet. Enkelte av næringsstoffene i gras er utilgjengelige, og organiske komponenter må brytes ned for at de skal være tilgjengelige for dyret. Det er under denne nedbrytningen det dannes CH₄.

Drøvtyggere tygger som kjent fôret flere ganger, og etter drøvtygging er partiklene 3-4 mm når de forlater vomma (McDonald et al. 2002). Desto mindre partiklene i vomma er, jo lettere er det for mikrobenes å få tilgang til og bryte ned de organiske komponentene. Små partikler fører til raskere nedbrytning, mer propionsyre, som igjen fører til lavere metanproduksjon. Spyttet til drøvtyggeren er lett basisk og fungerer, i tillegg til å smøre svelget, som buffer mot syrene som produseres i vom.

Mikrobenes i vomma deles inn i tre kategorier: bakterier, protozoer og sopp (McDonald et al. 2002). Drøvtyggeren og mikrobenes lever i symbiose, og er avhengig av hverandre for å overleve (Hobson & Stewart 1997). De viktigste sluttproduktene fra fermenteringen til mikroorganismene er frie fettsyrer (VFA), CO₂, CH₄, ammoniakk (NH₃) og adenosine tri fosfat (ATP).



Figur 1 Fordøyelseskanalen til en drøvtygger (Gjefsen 1991).

4.2 Fermenteringsprosessen

Det er en rik mikrobielflora i vomma, denne består av mange arter som er spesialiserte til å leve under de forhold som er i vomma. Nedbrytningen av fôret hos drøvtyggere skjer ved hjelp av mekanisk, mikrobiell, og enzymatisk nedbrytning (McDonald et al. 2002).

Mekanisk nedbrytning er når dyret tygger fôret. Partiklene får en større overflate og blander seg med spytt som fungerer som smøremiddel for enklere å kunne transportere fôrpartiklene ned svelget (McDonald et al. 2002).

Mikrobiell nedbrytning foregår i vomma og noe i tykktarm. Her finnes det mikroorganismer som bryter ned fôrpartiklene til hovedsakelig VFA som tas opp i vomma, CH₄ og CO₂, ATP og NH₃ som mikrobene bruker til å bygge eget kroppsprotein (Hobson & Stewart 1997; McDonald et al. 2002).

Kjemisk nedbrytning foregår i tynntarmen og noe i vom, og enzymene bryter ned fôrpartiklene og mikrobemassen fra vomma til substanser som kan absorberes i tynntarm, eksempelvis aminosyrer (McDonald et al. 2002).

Mikrobenes oppgave er å bryte ned proteiner, stivelse og cellevegger til peptider, aminosyrer og sukker som igjen brytes ned til VFA. VFA er den viktigste energikilden til drøvtyggeren, og består hovedsakelig av smørsyre, eddiksyre og propionsyre som absorberes gjennom vomveggen. Under fermenteringen dannes det avfallsstoffer som H₂ og CO₂. Disse stoffene brukes av metanogene bakterier til å produsere CH₄, som er en energifylt forbindelse, og blir et direkte tap for dyret når det rapes opp. Metanproduksjonen utgjør 2-10 % av bruttoenergien i fôret (Johnson & Johnson 1995). Dette varierer med sammensetning av og størrelse på fôrresjonen, samt hvordan komponentene i fôret påvirker den mikrobielle aktiviteten i vomma (Volden 2009). Frigjort NH₃ fra proteinnedbrytningen brukes av mikrobene til å bygge kroppsprotein. Mikrobene følger vominnholdet til tynntarmen hvor de fordøyes sammen med resten av komponentene fra fôret, og er en vesentlig andel av aminosyretilførselen til drøvtyggeren.

4.2.1 pH

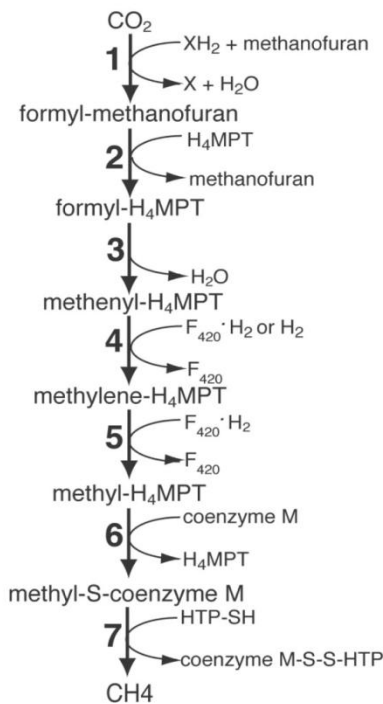
Vomma har et anaerobt miljø og en pH som normalt varierer mellom 5.5 og 6.5 etter ytre påvirkninger som fôringshyppighet, rasjonsstørrelse og sammensetning av fôret (McDonald et al. 2002). pH i vom er avgjørende for nedbrytningen av celleveggskarbohydrater, da nedbrytningen svekkes ved lav pH (Kristnesen et al. 2003). Lett tilgjengelige karbohydrater i

fôret kan føre til lavere pH i vom. Dette er fordi de amylolyttiske bakteriene, som i hovedsak bryter ned stivelse, tar overhånd og senker pHen ved produksjon av propionsyre. De cellulolyttiske bakteriene, som i hovedsak bryter ned cellulose, hemmes vesentlig dersom pH synker til under 6,2, men en lav pH fører også til en lav CH₄ produksjon. Ved mye lett tilgjengelige karbohydrater i fôret økes passasjehastigheten, og mange av de cellulolyttiske og metanogene bakteriene hemmes eller vaskes ut. Hemming av cellulolyttiske bakterier forsterker effekten av sur vom (Thuen 2009). For lav pH i vom er ikke gunstig, da dette fører til dårligere fermentering og fôrutnyttelse, og kan føre til vomacidose (Kristnesen et al. 2003).

Under fermenteringen produseres det mye VFA, dette skulle i teorien gjort vomma veldig sur med en pH på 2.5-3.0. Spyttet til drøvtyggeren inneholder derfor fosfat og bikarbonat som fungerer som buffer, kombinert med raskt opptak av de frie fettsyrene gjennom vomveggen fører dette til at miljøet i vomma holder seg stabilt rundt pH 5.5-6.0 (McDonald et al. 2002). Syrene i vomma vaskes ut, og erstattes med nye, det er derfor behov for kontinuerlig tilførsel av buffer. Dette sikres ved at fôret drøvtygges flere ganger, og spyttproduksjonen er dermed stor. Ved store mengder finmalt fôr vil det ikke være behov for drøvtygging i samme grad som ved grovmalt fôr, og pH i vom vil da senkes på grunn av minkende spyttproduksjon (Kristnesen et al. 2003).

4.2.2 Metanogenesen

Det er hovedsakelig strikt anaerobe metanogene bakterier og protozoer som står for metanogenesen i vomma (O'Mara 2004). De metanogene bakteriene tilhører en undergruppe av *Archaeobakterien* (Woese et al. 1990). De fleste metanogene bakterier trives best når pH er mellom 6 og 8, men det er noen ekstreme som trives fra 3 til 9,2. Metanogene bakterier syntetiserer tre koenzymer som til nå ikke er blitt funnet i noen andre mikroorganismer, og bruker CH₄ produksjonen til å generere energi til vekst og hjelper dermed til å holde H₂ konsentrasjonen i vomma nede (Boadi et al. 2004). Som tidligere nevnt utgjør metanproduksjonen 2-10 % av bruttoenergien i fôret (Johnson & Johnson 1995).



Figur 2 Metanogenesen (John et al. 1997).

CH_4 produseres i vom for å fjerne H_2 slik at produksjonen av H^+ kan foregå uforstyrret. CH_4 produksjonen kan dempes ved å styre fermenteringen mot propionsyre, noe som vil redusere reduksjonen fra CO_2 til CH_4 . Dersom vomfermenteringen forstyrres eller manipuleres, vil den alltid gå tilbake til opprinnelig mønster så snart det er mulighet til dette (McAllister & Newbold 2008).

4.3 Faktorer som påvirker metanproduksjonen

4.3.1 Faktorer ved fôr og fôring

I Norge består rasjonen til drøvtyggere hovedsaklig av surfôr, da det er store arealer som ikke egner seg til korndyrking på grunn av jordsmonn, klima og beliggenhet. Kanaliseringspolitikken ble innført på 1950-tallet som virkemiddel for at Norge skulle bli mer selvforsynte med jordbruksvarer. Det ble gitt strategiske tilskudd så dyrking av korn ble konsentrert der det er best dyrkingsforhold, og melke- og kjøttproduksjonen ble styrt til områder med røffere klima eller ugunstig jordsmonn.

4.3.1.1 Type karbohydrat

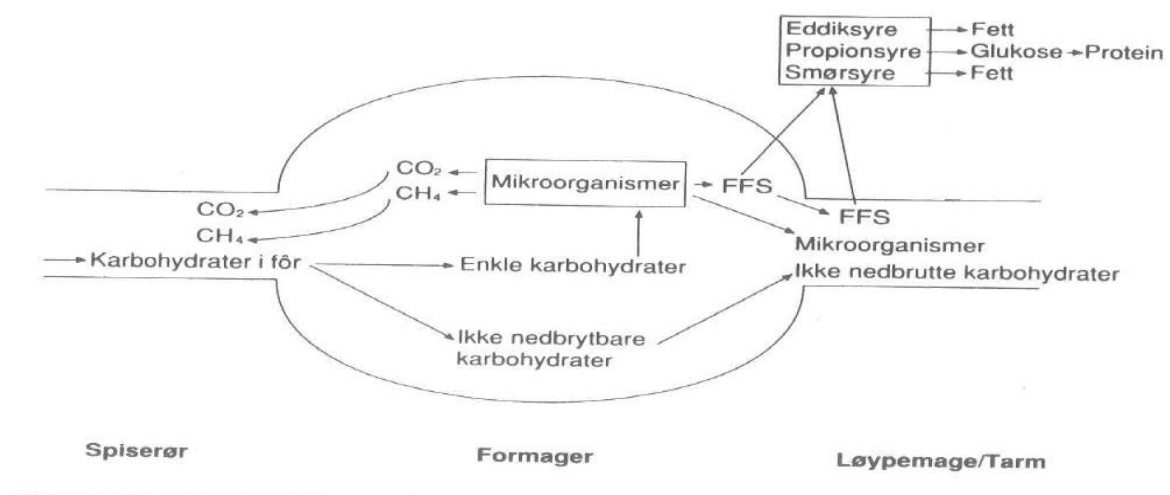
Karbohydrater er det kvantitativt viktigste næringsstoffet for den mikrobielle omsetningen i vom, og utgjør 75 % av det organiske materialet i fôret. I gruppen karbohydrater inngår stoffer som finnes i cellene som sukker (mono-, di- og oligosakkarider), stivelse og fruktaner,

og stoffer som finnes i celleveggene som pektiner, cellulose og hemicellulose (Weisbjerg et al. 2003).

Som tidligere nevnt er det vist at økt stivelseandel i kraftfôret, og rasjonen som helhet, kan redusere metanproduksjonen hos drøvtyggere (O'Mara 2004). Forklaringen på dette er at lettfordøyelige karbohydrater fører til høyere produksjon av propionsyre. Dette senker pH i vom og fører til lavere metanproduksjon, da propionsyreproduksjonen er en konkurrerende reaksjon til metanproduksjonen (Moss et al. 2000). Tungtfordøyelige karbohydrater derimot fører til økt produksjon av eddiksyre, noe som fører til høyere pH og høyere produksjon av CH₄ (Moss et al. 2000).

Metanproduksjonen blir i større grad påvirket av type karbohydrat dersom dyra har et høyt fôropptak (Moe & Tyrrell 1979). Når passasjehastigheten øker, som følge av høyere opptak, mye lett tilgjengelige karbohydrater, eller små partikler i fôret, minker metanproduksjonen (Okine et al. 1989).

Karbohydrater som når vomma i form av sukker fermenteres og tas raskt opp av mikroorganismer, det er derfor så godt som ikke noe fritt sukker i vomvæska (McDonald et al. 2002).



Figur 3 Karbohydratomsetningen i vom. FFS = frie fettsyrer (Gjefsen 1991).

Tilgjengeligheten av stivelse, cellulose og hemicellulose i vom er variabel (Tabell 1). Dette kommer av at cellulosen er innkapslet i lignin som har bundet seg til hemicellulose, da kommer ikke mikrobene til cellulosen, og fordøyeligheten synker. Lignininnholdet økes med

plantens utviklingstrinn og gjør planten stivere og mindre attraktiv for dyret (Weisbjerg et al. 2003).

Tabell 1 Oversikt over karbohydrattilgjengeligheten i forskjellige deler av fordøyelseskanalen hos drøvtyggere (Weisbjerg et al. 2003).

	Vom	Tynntarm	Blind-tykktarm
Celleinnholdskarbohydrater			
Monosakkarider	høy	(høy) ¹⁾	(høy) ¹⁾
Disakkarider	høy	(avhengig av disakkarid) ¹⁾	(høy) ¹⁾
Oligosakkarider	høy	?	(høy) ¹⁾
Stivelse	variabel-høy	variabel	variabel
Fruktaner	høy	(?) ¹⁾	(høy) ¹⁾
Celleveggskarbohydrater			
β-glukaner	høy	0	(høy) ¹⁾
Pektiner	høy	0	(høy) ¹⁾
Cellulose	variabel	0	variabel
Hemicellulose	variabel	0	variabel

¹⁾ = Veldig lite vil nå nedre tarmavsnitt

Nedbrytningen av karbohydrater i vom kan deles i to hoveddeler; ekstracellulær og intracellulær nedbrytning.

Ekstracellulær nedbrytning, hvor polysakkarider angripes av mikrobielle enzymer i vomvæska og komplekse karbohydrater brytes ned til monosakkarider. Cellulose brytes ned til cellobiose som videre brytes ned til glukose eller glukose 1-fosfat. Stivelse brytes ned til maltose eller isomaltose som igjen omdannes til glukose. Glukosen omdannes gjennom flere reaksjoner til pyruvat.

Intracellulær nedbrytning, hvor monosakkaridene som produseres ekstracellulært, tas opp av mikrober og omdannes til pyruvat. Pyruvat danner grunnlaget for å produsere eddiksyre, propionsyre, smørsyre, CO₂ og CH₄ (Formel 1) (McDonald et al. 2002).

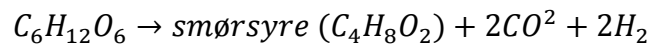
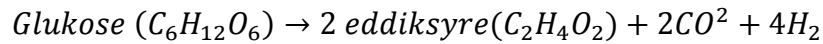
Formel 1 Reaksjonen fra hexoser til endeprodukt i vom (McDonald et al. 2002).

57 Hexoser → 114 Pyruvat

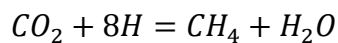
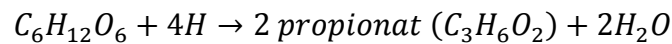
→ 65 Eddiksyre + 21 Propionsyre + 14 Smørsyre + 20CO₂ + 73 CH₄

Faktiske verdier av VFA i vom vil avvike fra mengdene i Formel 1, da det i tillegg til hexoser er flere typer karbohydrater, og aminosyrer, som brytes ned samtidig og vil påvirke konsentrasjonene.

Formel 2 Hydrogen produserende reaksjon (Cunningham 2002).

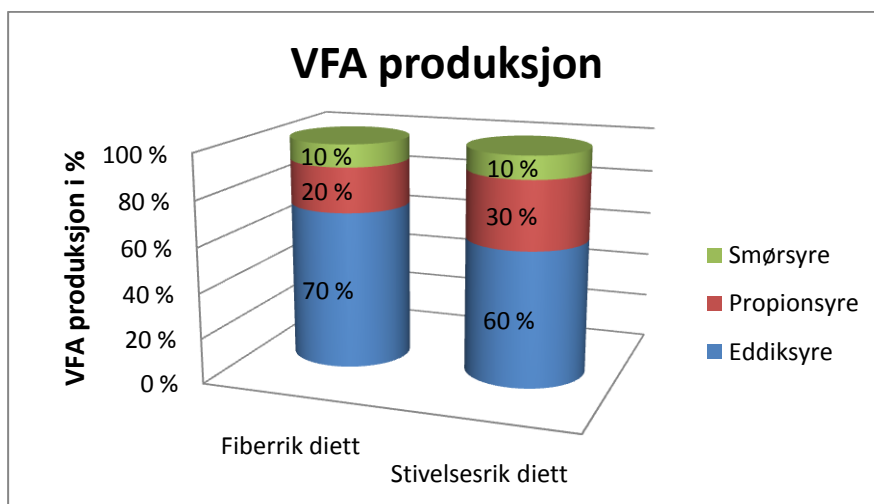


Formel 3 Hydrogen anvendende reaksjon (Cunningham 2002).



Produksjonen av propionsyre fører ikke til nettosyntese av ATP, men bruk av H_2 , og har derfor stor innflytelse på hvor mye energi som går tapt gjennom metandannelse (Kristnesen et al. 2003).

Produksjon av eddiksyre og smørsyre fra glukose hydrogenproduserende reaksjoner (Formel 2), mens produksjon av propionsyre er en hydrogenanvendende reaksjon (Formel 3) (Cunningham 2002). Dersom rasjonen består av mye grovfôr vil eddiksyre være den dominerende VFA i vom, består rasjonen av mye kraftfôr (lett tilgjengelige karbohydrater) vil propionsyreproduksjonen øke.



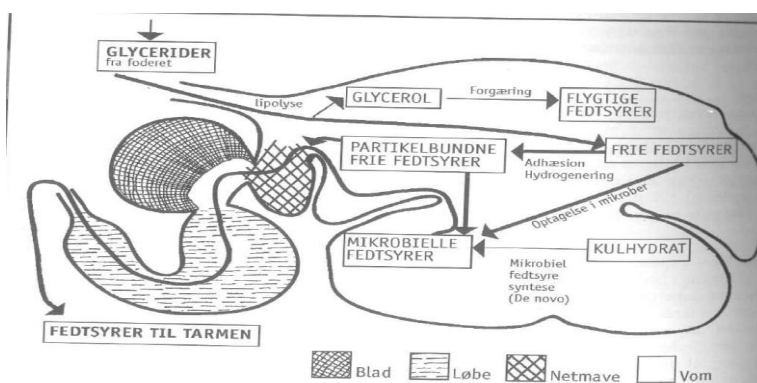
Figur 4 Produksjonen av VFA i vomma (Thuen 2009).

4.3.1.2 Flyktige fettsyrer

Et av hovedavfallsstoffene fra den mikrobielle omsetningen er VFA. VFA absorberes gjennom vomveggen og hastigheten på absorpsjonen er viktig for regulering av pH i vom (Cunningham 2002), som er den viktigste energitilførselen for drøvtyggeren, da 60 – 80 % av fordøyd energi kommer herfra (Cunningham 2002). Eddiksyre er den dominerende VFA i vom, og utgjør 50-70 %, propionsyre utgjør 15-40 %, mens smørsyre utgjør kun 5-20 % av VFA konsentrasjonen i vomvæsken hos melkekyr (McDonald et al. 2002). Laktat er kun en liten del av VFA i vom, men spiller allikevel en rolle som redox elektronfanger (Kristnesen et al. 2003).

4.3.1.3 Fett i fôret

Innholdet av fett i en drøvtygger sin naturlige diett er lav (mindre enn 50 g/kg). Dersom mengden fett økes til 100 g/kg eller mer vil mikrobeaktiviteten reduseres (McDonald et al. 2002). Fettsyrer fermenteres ikke i vom, men det skjer en omfattende omsetning og mesteparten av fettsyrene tas opp som triglyserider, glykolipider og fosforlipider. Umettet fett vil kunne virke toksisk på protozoer og cellulolytiske bakterier, og senke fordøyeligheten av cellulose og hemicellulose (Børsting et al. 2003). I fettomsetningen i vom spaltes glyserider til glyserol og frie fettsyrer ved lipolyse (hydrolyse) (Figur 5). Lipolysen er en rask prosess, men dersom pH i vom er lav vil dette føre til en forsinkelse av reaksjonen (Børsting et al. 2003). Demeyer et al., (1995) har gjort forsøk med måling av pH i vom ved fôring med soya olje, og de fant ut ved pH under 6,3 blir lipolysen hemmet. De kunne ikke si ut i fra sine forsøk om det var selve lipaseaktiviteten, eller veksten av lipolytiske bakterier som ble hemmet (Demeyer & Van Nevel 2005).



Figur 5 Omsetningen av fett i vomma (Børsting et al. 2003).

Glyserol og galaktose brukes som energikilde til mikroorganismene og omdannes til propionsyre og andre kortkjedete flyktige fettsyrer. Mikrobene i vomma metter umettede

fettsyrer ved biohydrogenering, som er en hydrogenforbrukende reaksjon. Mengden mettede fettsyrer i fôret påvirker derfor aktiviteten i vomma mindre enn umettede fettsyrer som kan føre til dårligere omsetning av karbohydrater og videre nedsatt fôropptak.

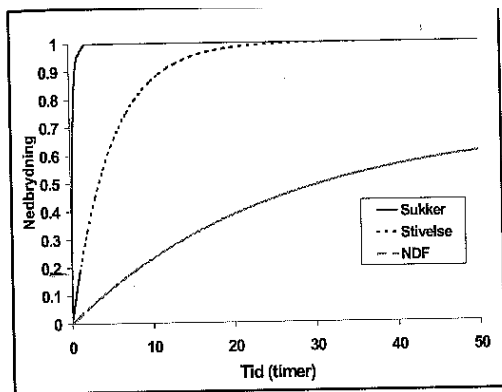
Kortkjedede fettsyrer tas opp gjennom vomveggen, men langkjedede fettsyrer kan ikke tas opp i vom, og må fraktes til tynntarmen (McDonald et al. 2002). Det er ikke alltid hydrogeneringen ferdigstiller metningen til stearinsyre, men at mellomproduktet; transfettsyrene går videre i fordøyelsessystemet. Mettet fett og transfett er derfor kjennetegn på drøvtyggerfett (Børsting et al. 2003).

4.3.1.4 Behandling av kraftfôret

Stivelsen kan være godt beskyttet og vanskelig å få tak i for mikroorganismene, derfor finnes det metoder som gjør det enklere å komme til stivelsen i kornet. Valsing, maling og varmebehandling er metoder som brukes i fôrindustrien for å gjøre stivelsen mer tilgjengelig. Ved valsing og maling økes kornets overflate slik at mikrobene har en større overflate å jobbe på. Varmebehandling på 60-80 °C fører til gelatinisering av stivelseskornene slik at hydrogenbindingene i krystallstrukturen brytes, og stivelsen blir mer tilgjengelig for mikrobene (Weisbjerg et al. 2003). Maling og pelletering fører til en nedgang i CH₄ produksjonen på 20 – 40 % per enhet fôr inntatt ved høyt fôrinntak, og kan forklares med en lavere fiberfordøyelse på grunn av raskere passasjehastighet (Boadi et al. 2004).

4.3.1.5 Behandling av grovfôret

Det er vel kjent at sent høstet gras har høyere innhold av stengel og neutral detergent fiber (NDF) enn tidlig høstet. NDF har lav fordøyelighet, og fører til en økt oppholdstid i vom. Dersom fôropptaket økes vil oppholdstiden reduseres, men fordøyeligheten vil ikke svekkes, da mikrobene blir mer effektive når fôropptaket økes. Dette vil kunne gå utover de metanogene bakteriene, da de har et lengre generasjonsintervall enn de andre bakteriene i vomma, og CH₄ produksjonen vil kunne reduseres på grunn av dette.



Figur 6 Nedbrytningsprofiler for sukker (k_d 300 %/time), byggstivelse (k_d 20 %/time), og NDF ved sent høstet engsurfôr (k_d 4 %/time, potensiell fordøyelighet 70%). (Weisbjerg et al. 2003).

4.3.2 Bestanddeler i fôret

4.3.2.1 Saponiner

Saponiner finnes naturlig i forskjellige plantedeler som i røtter, knoller, bark, blader, frø og frukt. Deres oppgave er å beskytte plantene mot insekter (Francis et al. 2002). De er tungt fordøyelige, og har varierende påvirkning på fordøyelsen, VFA- og metanproduksjonen. Det er gjort en rekke forsøk på å påvise saponiners påvirkning på fordøyelsen, men resultatene spriker, og noen konkret konklusjon er vanskelig å trekke. Påvirkningen er trolig styrt av mengde og type saponin, samt rasjonssammensetningen til dyret (Hart et al. 2007). En spesiell type saponin kalt *Y. schidigera* skal være positiv for drøvtyggerses vekst, fôrutnyttelse og helse (Francis et al. 2002).

Det er flere som omtaler saponiner som metanhemmende (Francis et al. 2002; Hess et al. 2003; Pen et al. 2006) og at de har en negativ effekt på cellulolytiske bakterier. Noen har sett på spesifikke typer saponiner, og de fra familiene *yucca schidigera* og *Quillaja saponaria* er det vist at de gir lavere metanproduksjon (Holtshausen et al. 2009). Wina et al. (2006) fant ingen sammenheng, og det ble i Goel et al. (2007) heller ikke funnet noen sammenheng mellom saponiner i fôret og metanproduksjon.

4.3.2.2 Tanniner

Som allerede beskrevet er tannin er et polyfenol som finnes naturlig i planter. Det brukes i fôrindustrien til å behandle proteinerike fôrslag så proteinene ikke skal kunne brytes ned i vomma. Tanniner danner pH reversible bindinger med fôrproteinene så proteinet skal passere til tykktarmen hvor enzymer skal kunne nyttgjøre seg av det (McDonald et al. 2002). Tanniner finnes i belgvekster, som eksempelvis kløver. I forsøk gjort av Van Dorland et al.

(2006) kommer det frem at hvit- og rødkløver har samme effekt på nitrogen- og metantap hos melkekyr. Dersom kløver tilføres et proteinrikt raigras kan dette føre til økte nitrogentap og ingen endring i metanproduksjonen. Det er vist at tannin tilskudd i surfôr kan føre til lavere produksjon av CH₄ (Hess et al. 2006; Puchala et al. 2005). I et forsøk gjort på geiter fikk dyra to behandlinger; en med et relativt høyt innhold-, og en med lavt innhold av kondenserte tanniner kom det frem at geitene som fikk mye kondenserte tanniner også slapp ut mindre CH₄ (Puchala et al. 2005).

Tabell 2 Metanproduksjon på geiter fôret på tanninrike- og tanninfattige vekster (Puchala et al. 2005).

	Tanninrik vekst <i>(Lespedeza cuneata)</i>	Tanninfattig vekstblanding <i>(Digitaria ischaemum og Festuca arundinacea)</i>
Råprotein innhold, %	10,3	13,0
In vitro tørrstoff fordøyelse, %	64,5	75,3
Kondenserte tanniner, %	17,7	0,5
CH₄ produksjon, g/dag	7,4	10,6
CH₄ produksjon, g/kg TS	6,9	16,2

4.3.2.3 Botanisk sammensetning

Ramirez-Restrepo og Barry skrev i 2005 om komponenter i alternative fôrmidler som kunne påvirke metanproduksjonen. I den forbindelse tok de for seg flerårig raigrasbasert beite, luserne, sulla, rødkløver, sikori og tiriltunge (Tabell 3) (Ramirez-Restrepo & Barry 2005). Flerårig raigras har høyere sukkerinnhold enn de tradisjonelle grasartene, og brukes som kvalitetsfôr til høytstående kyr (Dyrhaug). Luserne er en nitrogenfikserende belgvekst som er lite utbredt i Norge, men mye brukt på verdensbasis (Lunnan & Schäerer 2007). Sulla er en nektarrik, flerårig plante som er mye brukt som fôr i sør europa (Miller 2009). Rødkløver er en mye brukt nitrogenfikserende engbelgvekst, og blandes ofte med timotei og engsvingel i engblandinger (Marum). Sikori er en flerårig plante i kurvblomstfamilien og brukes ikke hva meg bekjent som fôrplante i Norge (Caplex 2004). Tiriltunge er en flerårig plante som har lange tradisjoner som fôrplante i Norge (Engan).

Tabell 3 Sammensetning, fordøyelse og metanproduksjon hos sauer. Fôrrasjonene besto av flerårig raigrasbasert beite, luserne, sulla, rødkløver, sikori og tiriltunge (Ramirez-Restrepo & Barry 2005).

	Rai-beite	Luserne	Sulla	Rødkløver	Sikori	Tiriltunge
Råprotein	185	240	175	244	123	264
g/kg TS						
NSC g/kg TS	135	152	232	111	148	113
NDF g/kg TS	444	314	202	342	127	293
Forholdet	0,30	0,48	1,15	0,32	1,17	0,39
NSC:NDF						
Kondenserte	0	0	68	3	0	53
tanniner						
g/kg TS						
TS	0,74	0,71	0,73	0,76	0,79	0,70
fordøyelighet						
Metan g CH₄	25,7	20,6	17,5	17,7	16,2	11,5
/kg TSI)						

TS = tørrstoff, NSC = ikke-strukturelle karbohydrater, NDF = neutral detergent fibre, CH₄ = metan, TSI = tørrstoff inntak

Gjennomsnittsverdiene i g CH₄/kg TS inntatt var for flerårig raigrasbasert beite 26, luserne 21, sulla, rødkløver og silkori 16-18 og tiriltunge 11,5. Deres forsøk forsterker teorien om at mye ikke-strukturelle karbohydrater og et høyere innhold av kondenserte tanniner fører til en lavere metanproduksjon (Ramirez-Restrepo & Barry 2005).

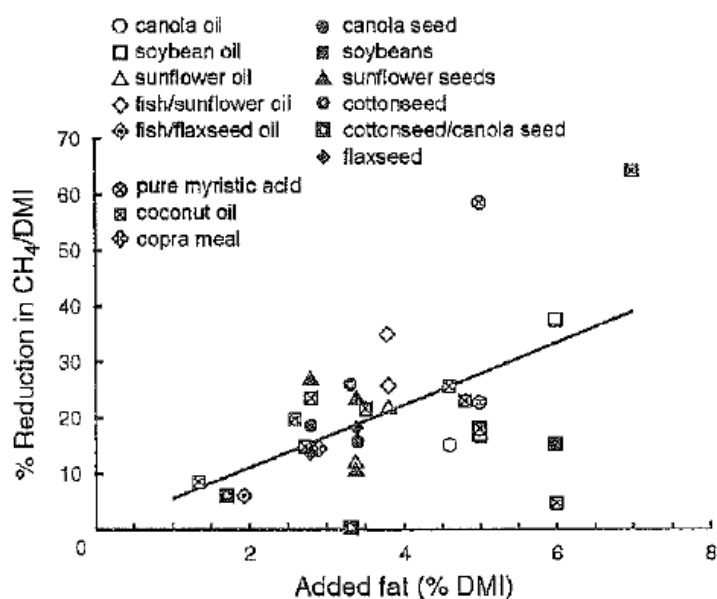
Hvordan kondenserte tanniner reduserer metanproduksjonen er ennå uvisst. Sikori har en rask nedbrytningstid og lav oppholdstid i vom, da den har et høyt innhold av lett nedbrytbare karbohydrater. Dette kan forklare reduksjonen i metanproduksjon og høyere ytelse ved fôring av sikori. En økning i de organiske syrene malat og fumarat kan senke metanproduksjonen, da malat fremmer propionatproduksjonen, og fumarat fungerer som en intermediær elektronakseptor. Det kan tenkes at det kan lønne seg å avle for høyere innhold av malat og fumarat i planter som brukes mye i fôr til drøvtyggere (Ramirez-Restrepo & Barry 2005).

Tabell 4 Den kjemiske sammensetningen og tørrstoffinntaket i fôret, samt melkeytelse, melkeproteinkonsentrasjon og metanproduksjon hos melkekyr i sen laktasjon som går på raigras beite, eller blir fôret med sulla (Ramirez-Restrepo & Barry 2005).

Kjemisk sammensetning (g/kg TS)	Raigras	Sulla	Standardfeil
Løselige karbohydrater	57	192	3,9
Råproteiner	212	266	6,6
NDF	483	147	9,5
Kondenserte tanniner	0	27	
TS inntak (kg/ku/dag)	10,7	13,1	0,6
Melkeytelse (kg/ku/dag)	8,35	11,24	0,35
Melkeproteinkonsentrasjonen (g/kg)	37,6	40,5	0,6
Metanproduksjon			
g CH₄/kg TSI	24,6	19,5	1,6

4.3.2.4 Fett og oljer

Fett og oljer kan påvirke fermenteringen i vomma til å produsere mindre CH₄. Calsamiglia et.al (2007) har tatt for seg mange forsøk som er gjort på forskjellige oljetyper og deres påvirkning på CH₄ produksjonen i vomma, og konkludert med at de fleste essensielle oljer har påvirkning på CH₄ produksjonen dersom det blir gitt i vesentlige mengder. De har også kommet frem til at det er metanogenesisen som hemmes av oljene (Calsamiglia et al. 2007).



Figur 7 Effekten av tilsatt fett på reduksjon av metanproduksjon. Sammensetning av 33 forsøk. (Beauchemin et al. 2008).

Produksjonen av CH₄ reduseres når mengden fett i fôret øker (Figur 7).

4.3.3 Faktorer ved dyret

CH₄ produksjonen starter ikke før dyret begynner å ta til seg fast føde i fire ukers alderen (Anderson et al. 1987). Det er allerede da store individuelle forskjeller i mengde CH₄ produsert, da alder, vekt, mikrobeflora (Münger & Kreuzer 2006), rase, fôropptak, ytelse og laktasjonsstadiet påvirker produksjonen i varierende grad (Boadi et al. 2004). Det ble i Münger & Kreuzer (2006) undersøkt om det var noen forskjeller på metanproduksjon mellom Simmental, Holstein og Jersey. Per kg tørrstoffinntak var det ingen raseforskjeller, men per kg energikorrigert melk viste det seg at Simmental slapp ut mer CH₄ enn Holstein og Jersey.

Det er individuelt hvor store mengder metanogener som finnes i vomma, og mange metoder er prøvd for å hemme dem, men en del av disse har også vist seg å være skadelige for enten drøvtyggeren eller resten av mikrobepopulasjonen i vomma eller at de metanogene bakteriene kun midlertidig blir satt tilbake inntil de er immune, og populasjonen deretter blomstrer opp igjen (Moss et al. 2000).

4.4 Ulike metoder for metanmåling

Det finnes flere metoder å måle eller estimere metanproduksjon på. Noen av dem er presentert her.

4.4.1 Markørmetoden

En metode som er mye brukt er gassmarkørmetoden SF₆ (svovel hexafluorid) som ble utviklet ved Washington State University av Johnson et al (1994). Det legges en ampulle inn i nettmagen på kua (enten via vom fistel eller ved hjelp av en sonde ned gjennom svelget) som slipper ut en fast mengde SF₆ i døgnet. Ved hjelp av markøren kan det regnes ut hvor stor metanproduksjonen er (Formel 4) (Garmo et al. 2009).

Formel 4 Viser hvordan emisjonsraten Q_{CH₄} kan regnes ut (Iwaasa 2004).

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times ([CH_4]_{sample} - [CH_4]_{ambient}) / ([SF_6]_{sample} - [SF_6]_{ambient})$$

Q_{SF₆} er den kalibrerte utslippsmengden fra SF₆ ampullen og [CH₄] og [SF₆] er konsentrasjoner i oppsamlingsbeholderene, heretter omtalt som yokene, og konsentrasjonen i lufta rundt. Med ambient menes lufta rundt dyrene.

Denne metoden innebærer at kua har på seg en grime med en slange som går fra over neseborene og opp til en yoke hvor utåndingslufta samles opp i intervaller på 24 timer. I fjøset henger en yoke som ikke er koplet til noen ku, men som tar prøve av omgivelseslufta for å kunne korrigere for bakgrunns CH₄ og SF₆. Markørmetoden kan brukes i fjøs, hvor yoken henges opp i innredningen, eller på beite, hvor yoken festes over nakken til kua (Iwaasa 2004). Dette fører til at dyret kan ha fri bevegelighet og følge normale bevegelsesmønstre (Johnson & Johnson 1995).

Markørmetoden er en metode som Beauchemin (2010) omtaler som en veldig variabel metode. Det er variasjon mellom dyrene, og på samme dyr fra dag til dag. Hun anbefaler også å ikke bruke markørmetoden på vom fistulerte kyr, da det kan lekke fra fistelen, og føre til variable resultater. Det er derfor viktig med så mange målinger som mulig for å få et godt resultat (Beauchemin 2010).

4.4.2 Respirasjonskammer

En annen metode som brukes til å måle CH₄ er respirasjonskammer hvor dyrene står i et rom med styrt ventilering (Boadi & Wittenberg 2001). Total luftgjennomstrømning gjennom systemet kontrolleres, og konsentrasjonen av CH₄ blir målt i inn- og utluft for så å kunne regne ut differansen (Johnson & Johnson 1995). Respirasjonskammeret fanger opp CH₄ fra tykktarmfermenteringen, noe markørmetoden ikke gjør. Det er ca 10 % av produsert CH₄ som dannes i tykktarmen, men 90 % av dette tas opp i blodet og slippes ut gjennom utåndingslufta. Dette fører til at ca 1 % av CH₄ produsert av kyrne slippes ut via rektum (Tsuda et al. 1991).

McGinn et. al gjennomførte i 2006 et studie på hvor god SF₆ som markørmetode er i forhold til respirasjonskammer hvor kyrne fikk flere forskjellige dietter, og deretter sammenlignet resultatene fra de to metodene. Gjennomsnittlig viste SF₆ teknikken 4 % lavere metanproduksjon enn respirasjonskammeret, dette kan forklares med noe fermentering og dermed utslipp fra tykktarmen. Det kom frem av forsøket at SF₆ teknikken var mest presis når rasjonen besto hovedsakelig av grovfôr og dyrene fikk begrenset fôrtilgang. Deres konklusjon var at markørmetoden kunne brukes med stor sikkerhet på beite, da rasjonen hovedsakelig består av grovfôr, men når rasjonen består av store mengder kraftfôr vil metoden være noe mer usikker. Dersom forholdet mellom utslipp fra vom og fordøyelse i tarm endrer seg vil markørmetoden kunne over- eller underestimere metanproduksjonen, da utslippene fra rektum ikke fanges opp her.

Forholdet mellom produsert CH₄ i vom og i tykktarmen kan variere med fôringsrelaterte påvirkninger som mindre partikkelstørrelse, økt fôropptak, varmebehandlet fôr og bruk av resistent stivelse kan øke fordøyelsen i tarmavsnittet (Tsuda et al. 1991).

4.4.3 Likninger

Det å kunne predikere metanproduksjon ved å ha kun noen få data på dyrene er svært ønskelig, da det er tidkrevende og mye arbeid å måle produksjonen til hver enkelt ku for å finne total produksjonsmengde per gård eller land. For å kunne predikere produksjonen er det viktig å finne faktorer som er enkle å måle og som korrelerer godt med metanproduksjonen.

Det er utarbeidet flere likninger som ved hjelp av variabler kan beregne estimert metanproduksjon per ku per døgn. Modellene for utregning av metanproduksjon kan deles inn i to grupper. En, statistiske modeller hvor næringsinntak relateres direkte til metanproduksjon. To; dynamiske modeller hvor det er gjort forsøk på å simulere metanproduksjonen basert på matematiske forklaringer av vomfermenteringens biokjemi. De dynamiske modellene er gode, men krever omfattende informasjon om individene, og fører til at de er lite praktiske å bruke. De statistiske modellene krever mindre informasjon, og leverer raske resultater, men ikke alle gir like korrekte svar (Mills et al. 2003).

Nes og Volden (2009) tok for seg de internasjonale retningslinjene, Tier 1 og Tier 2, som FN's klimapanel har utviklet. De har lagt disse til grunn for å utvikle Tier 3 som inkluderer informasjon fra kukontrollen om besetninger i Norge, noe som gjør at Tier 3 vil kunne beregne metanproduksjonen under norske forhold på en mer presis måte enn Tier 1 og Tier 2.

I Norge består rasjonene av en større andel grovfôr enn det gjør i andre land, og likninger som ikke er tilpasset norske forhold vil feilestimere produksjonen (Nes & Volden 2009).

Formel 5 og 6 Likninger som er utarbeidet til å estimere metanproduksjon hos melkekyr (Nes & Volden 2009).

$$GEI = 150,8 + 0,0205 * melk_{305} + 0,3651 * kraftfôrandel$$

$$Y_m = 10,0 - 0,0002807 * melk_{305} - 0,02304 * kraftfôrandel$$

GEI = daglig opptak av bruttoenergi i MJ/dag, Y_m = hvor stor andel av bruttoenergien som omdannes til CH_4 i %, $melk_{305}$ = 305 dagers melkeytelse og kraftfôrandel = prosentandel kraftfôr i totalrasjonen beregnet på nettoenergibasis.

Når Tier 3 (Formel 5 og 6) ble sammenlignet med Tier 1 og Tier 2 viste det seg at Tier 3 gir høyere metanproduksjon. Dette forklares med forskjeller i beregningsgrunnlaget, og at Tier 1 og Tier 2 er beregnet ut i fra en stor gruppe estimater samlet fra flere land og derfor ikke er skreddersydd for norske rasjoner slik som Tier 3 (Nes & Volden 2009).

Basert på forsøk gjort av Mills et al. (2003) er det utarbeidet to ligninger basert på tørrstoffinntak (TSI) og opptak av omsettelig energi (MEI). De kom frem til at bestemmelse av metanproduksjon best kan gjøres på grunnlag av TSI, og ikke av MEI (Mills et al. 2003).

Formel 7 Utregning av metanproduksjon vha tørrstoffopptaket (Mills et al. 2003).

$$Metan (MJ/d) = 5,93 + 0,92 * DMI(kg/d)$$

Formel 8 Utregning av metanproduksjon vha metabolsk energi inntak (Mills et al. 2003).

$$Metan (MJ/d) = 8,25 + 0,07 * MEI (MJ/d)$$

Yan et al. (2006) har utarbeidet en rekke likninger som kan predikere CH_4 produksjonen hos melkekyr (Tabell 5).

Tabell 5 Formler utarbeidet for beregning av metanproduksjon og tilhørende sikkerheter (Yan et al. 2006).

Equations	R ²	Eq. no.
$CH_4 = 47.82_{(6.98)} DMI - 0.762_{(0.212)} DMI^2 - 41_{(60)}$	0.75	(1)
$CH_4 = 0.336_{(0.057)} LW + 19.72_{(1.43)} DMI + 12_{(39)}$	0.77	(2)
$CH_4 = 0.324_{(0.056)} LW + [16.55_{(1.71)} + 0.006_{(0.002)} S/T] DMI + 14_{(39)}$	0.78	(3)
$CH_4 = 0.296_{(0.056)} LW + [23.89_{(2.96)} + 0.006_{(0.002)} S/T - 0.033_{(0.011)} CPc] DMI + 15_{(38)}$	0.79	(4)
$CH_4 = 9.07_{(2.36)} MY - 0.111_{(0.046)} MY^2 + 382_{(44)}$	0.53	(5)
$CH_4 = 0.642_{(0.063)} LW + 9.01_{(2.04)} MY - 0.123_{(0.040)} MY^2 + 24_{(53)}$	0.65	(6)

Hvor CPc = konsentrasjonen av fordøyelig råprotein, S/T = inntak av surfôr som en del av totalt tørrstoffinntak, DM = tørrstoff, LW = levendevekt, MY = melkeytelse. Enhetene for CH₄, CPc, TSI, LW, MY og S/T er henholdsvis l/dag, g/kg DM, kg/dag, kg, kg/dag og g/kg DM.

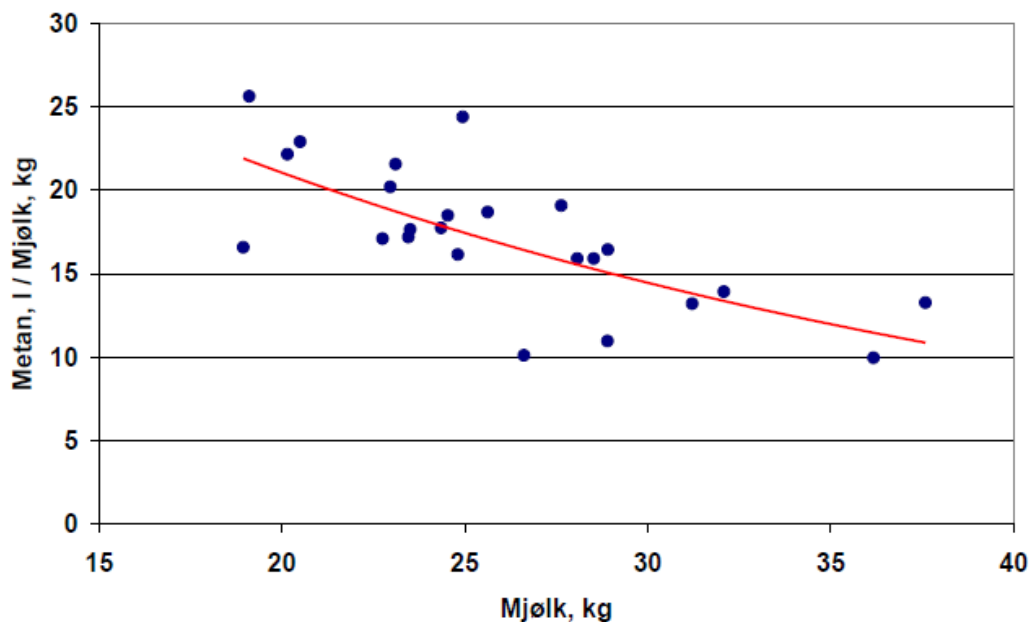
Det er sammenstilt en rekke formler for å beregne CH₄ produksjon (Tabell 5). Disse er laget ut fra 16 forsøk med 299 lakterende- og 16 tørre kyr av rasen Holstein Fresian. Dyrene har fått surfôrbaserte dietter, og det ble målt CH₄ med et indirekte kalorimetri kammer. Metanproduksjonen ble sett i sammenheng med levendevekt (LW), tørrstoffinntak (TSI), melkeytelse (MY) og fôrnivå (FL= total ME inntak/ME anbefalt til vedlikehold). Likningene har forskjellige sikkerheter ettersom hvor mange parametere som tas med, og hvor gode sammenheng disse har med metanproduksjonen, men den beste sikkerheten er 0,79, og er ganske bra. Det er hovedsakelig TSI som styrer metanproduksjonen hos melkekyr (Yan et al. 2006).

I resultatdelen vil det bli sammenlignet utregninger vha likninger med de faktiske resultater i D-150.

4.5 Produktivitet

Intensiv og ekstensiv drift er noe det er verdt å se nærmere på i forbindelse med utslipp av klimagasser. Det er generell enighet om at CO₂ produksjonen fra drøvtyggere holdes utenfor klimaregnskapet, da den karbonen som slippes ut, tas opp igjen av plantene om sommeren. Metan regnes ikke med i denne sirkelen, og er et bidrag til drivhuseffekten. (Selmer-Olsen 2007).

En løsning er å minske vedlikeholdsproduksjonen ved å øke melkeytelsen og redusere antall kyr (Figur 8). Yan et al (2006) fant ut at metanproduksjonen kan reduseres med 67 % dersom man bruker større kyr med høyere melkeytelse, mot å bruke små kyr med moderat melkeytelse.



Figur 8 Effekt av melkemengde (kg/dag) på metanemisjon (l/kg melk) hos melkeku (Garmo et al. 2009).

En reduksjon av melkekyr vil redusere metanproduksjonen, men det vil også føre til færre kalver og mindre kjøtt. Dette vil da føre til import av kjøtt eller en økning i ammekuproduksjonen, noe som ikke er lønnsomt globalt sett. Fôring av melkekyrne er derfor veldig viktig, da dette er en av de store reduksjonspostene som har virkning globalt sett.

Redusert slaktealder på oksene vil kunne redusere metanproduksjonen betraktelig, og i Nes og Volden (2007) kommer det frem at dersom slaktealderen reduseres fra 22 til 14 måneder kan metanproduksjonen reduseres med 30-40 % per slakt. Dette kan føre til en betraktelig

nedgang i metanproduksjon, spesielt om melkekubestanden opprettholdes, og effektiviteten holdes på dagens nivå (Tabell 6).

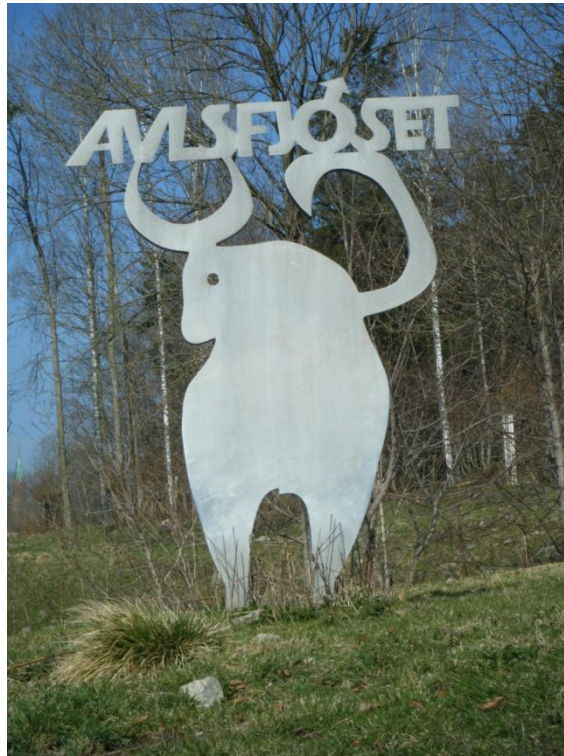
Tabell 6 Metanproduksjon ved ulik fremfôringstid for okser.

Alder ved slakting	Slaktevekt (kg)	Metan dager til 150 dager (kg)	Metan dager til 365 dager (kg)	Sum metan fra 5 mnd til 366 dager (kg)
14 mnd	290	58	13	71
14 mnd	320	58	15	73
22 mnd	290	48	62	110
22 mnd	320	55	70	125

For å oppnå slaktevekt på 14 mnd må fôringen legges til rette med godt grovfôr og/eller økt mengde kraftfôr i rasjonen.

5.0 Egne undersøkelser

Metanmålingene var en del av et større forsøk kalt ”PhytoMilk-WP3 Fatty acid rumen transformation study” som ble gjennomført på stoffskifteavdelingen under institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap som del av et PhD studie. Forsøket ble gjennomført i perioden november 2009 – februar 2010. Det overordnede målet med forsøket var å se om det er korrelasjoner mellom botanisk sammensetning i ulike typer surfôr og bihydrogenering av fettsyrer i vom og fettsyresammensetningen i melk. Denne oppgaven omhandler sammenhengen mellom botanisk sammensetning av fire ulike typer surfôr og metanproduksjon hos melkekyr. De fire surfôr typene var rødkløversurfôr (rødkløver), surfôr av allsidig eng (eng), raigrassurfôr (raigras) og timoteisurfôr (timotei).



5.1 Materialer og metoder

5.1.1 Forsøksdyr

Det var fire vomfistulerte kyr med i forsøket, samt en reserveku, hvor alle var av rasen Norsk Rødt Fe (NRF) (Tabell 7). Forsøket ble holdt i et båsfjøs med tilrettelegging for oppsamling av gjødsel og urin.

Tabell 7 Alder, laktasjonsnummer og laktasjonsuke på forsøkskyrne.

	Ku 4572	Ku 5135	Ku 4939	Ku 4759
Alder	5 år, 11 mnd	3 år, 4 mnd	3 år, 11 mnd	4 år, 10 mnd
Laktasjonsnummer	4	2	2	3
Laktasjonsuke	17	22	18	18
Vekt start (kg)	673,0	600,0	606,5	594,0
Vekt slutt (kg)	698,5	632,0	643,0	633,0
Melkeytelse start (kg/dag)	20,1	16,3	21,7	18,72
Melkeytelse slutt (kg/dag)	14,8	16,8	17,0	16,6

5.1.2 Forsøksopplegg

Det ble fulgt et 4x4 latinsk kvadrat med perioder på 21 dager hvorav 14 dager var tilvenning av fôret og resterende syv dager var til prøvetagning. For raskere tilvenning av fôret byttet alle dyra 40 kg vominnhold mellom hver prøveperiode. Eksempelvis: ku nr 4759 skulle få rødkløver i periode 2, da fikk hun vominnhold fra 4572 som hadde spist den rasjonen i periode 1.

Tabell 8 Forsøksopplegg (4x4 Latinsk kvadrat med perioder på 21 dager)

Periode	Ku 4572	Ku 5135	Ku 4939	Ku 4759
1	R	D	P	T
2	D	P	T	R
3	P	T	R	D
4	T	R	D	P

R = Rødkløver surfôr, D = Eng surfôr, P = Raigras surfôr, T = timotei surfôr

5.1.3 Fôr og fôring

Høstingstidspunktet for førsteslått var ved tidlig skyting av timotei. Andre og tredjeslått ble høstet med seks ukers intervall. Det var kun første og tredjeslått som ble brukt, da andreslått ikke var brukbar på grunn av tørke.

I tilvenningsperioden hadde kyrne fri tilgang på grovfôr, mens i prøvetagningsperioden fikk de 90 % av daglig grovfôrintak beregnet ut ifra tilvenningsperioden. Kyrne fikk tildelt fôr fire ganger i døgnet med seks timers mellomrom kl 06:00, 12:00, 18:00 og 00:00.

Kraftfôr/grovfôr forholdet var 30:70 på tørrstoffbasis. Kraftfôret ble gitt sammen med grovfôret, og inneholdt bygg, melasse og mineraler.

5.1.4 SF₆ som metode

Det ble i D-150 brukt svovelhexafluorid (SF₆) som markør på utåndingsluften. Før forsøket startet opp ble det lagt inn en ampull med SF₆ i nettmagen til hver ku. Ampullen ble veid før og etter forsøket for å se hvor mye SF₆ som var sluppet ut.

En slange ble koblet fra nesa til kua til en yoke som var vakuumert og tok en kontinuerlig prøve av lufta i 24 timer til den ble skiftet ut med en ny yoke.

Når utåndingslufta inneholder markøren, og ampullene med SF₆ er veid, kan det regnes ut hvor mye metan som er sluppet ut per ku per dag (Formel 9).

Formel 9 Likning for beregning av metanproduksjon (Garmo et al. 2009)

$$\text{Metan, l/dag} = \text{Markør (SF}_6\text{, ml/dag)} * [\text{Metan (ml/l)}/\text{Markør (SF}_6\text{, ml/l)}]$$

5.1.5 Prøvetagning av metan

Alle prøvene tilknyttet D-150 ble tatt av ansatte på stoffskifteavdelingen og to masterstudenter. Metanprøvene ble sendt til Canada for analyse på laboratoriet der, da det ikke er noen som utfører analyser på dette i Norge.

Prøveglassene ble vakuumerte før perioden startet (Bilde 1).



Bilde 1 Vakuumering av prøveglassene. Foto: Torgeir Reierstad

Metanmålingene ble utført dag 16-20 i forsøksperioden, og alle målinger ble registrert i eget skjema (Tabell 9).

Tabell 9 Eksempel på dataregistrering under metanmålinger

Skjema METAN-måling (D-150) Søndag

Dato	Per. / Dag nr	Prove / Rør nr	Ku nr	Yoke nr	Vakum -trykk (psi)	Vakum -trykk (Hg)	Trykk etter gassopp-samling (psi)	Trykk etter gassopp-samling (Hg)	Trykk etter Nitrogen tilførsel (psi)	Start Tids-punkt 21/11	Stopp Tids-punkt 22/11	Merknad
22/11	1/1	1-5	Blank Yoke	401	13,55	27,58	4,26	8,63	19,17	10:04	10:03	
22/11	1/1	6-10	5135	402	13,31	27,06	6,42	13,06	18,96	10:03	10:02	
22/11	1/1	11-15	4759	405	13,07	26,64	3,56	7,21	19,63	10:02	10:01	
22/11	1/1	16-20	4939	406	13,51	27,48	4,89	9,99	19,25	10:01	10:00	
22/11	1/1	21-25	4572	407	13,45	27,38	4,45	9,05	19,74	10:00	09:59	
22/11	1/1	26-30	FJØS									

Kl 08.00. Utstyret ble klargjort og påmontert. Kyrne hadde på seg en grime med en slange som gikk fra rett over nesebora og opp til en yoke. Yoken ble påført et vakuum på ca 13-14 psi (pounds per square inch) ved bruk av vakuumpumpe. Vakuumtrykket ble målt i psi og Hg (mm kvikksølv) med et manometer.



Bilde 2 (t.v) Oppsamlingsbeholderen for metangass (yoke).



Bilde 3 (t.h) Grime med slange som går fra kuas nese og via en lengre påkoblet slange opp til yoken.

Kl 10.00 ble yokene koplet til gasslangene som førte ned til neseåpningen. Vakuemet i yoken førte til et jevnt sug i enden av slangen, og deler av lufta som ble pustet ut, blandet med markøren samt lufta som var i fjøset, ble samlet opp i yoken. Etter 24 timer ble yoken byttet

ut med en ny vakuumert yoke. Den brukte yoken ble tatt til side, og det ble målt trykk i psi og Hg. Det målte vakuumet skulle ligge på 4-5 psi, dersom det var null tydet dette på en lekkasje, dersom det var høyere tydet dette på en tett slange.



Bilde 4 (t.v) og Bilde 5 (t.h) Ku med metanmålingsutstyret påmontert.

Etter måling av trykk ble det tilført nitrogengass (1 bar) i yoken og målt trykk i psi. Yokene sto i 45 min før prøvetaking begynte.

Til prøvetakingen ble det brukt en 30 ml sprøyte (BD Plastipak®) med tynn sprøytespiss (BD Microlance™ 3, 0,5x16mm) og første fylling av sprøyta på hver yoke ble tømt i lufta for å unngå forurensning i prøvene. Det ble tatt ut 20 ml prøve som ble overført til vakuumerte prøveglass (5,9 ml glass med ekstra membran ved navn CHROMACOL LTD) som var merket med prøvenummer.



Bilde 6 (t.v) Uttagning av metangassprøve av yoke.

Bilde 7 (t.h) Prøveglassene med metangass.

Det ble tatt fem prøver av hver yoke. Hver ku hadde hver sin yoke, i tillegg var det en blank yoke som ikke var tilkoblet, men som bare tok prøve av fjøslufta. Det ble også tatt fem prøver rundt om i fjøsrommet der kyrne sto (en i hvert hjørne og en midt i rommet). Da alle 30 prøvene var tatt ble yokene tømt og rensset med nitrogengass (trykk på 2 bar) tre ganger. Mengde CH₄ produsert per døgn ble deretter regnet ut ved å korrigere prøveresultatene for gassene i fjøset.

6.0 Resultater

6.1 Fôrsammensetning

Den botaniske sammensetningen av de fire surfôrtypene er vist i Tabell 10. Timoteisurfôret hadde over 95 % timotei, raigrassurfôret hadde over 85 % raigras og enga var en god blanding av forskjellige grasarter. Rødkløver har timotei og rødkløver som hovedvekster hvor de er representert med hhv 42 og 36 %.

Tabell 10 Botanisk sammensetning i de fire surfôrblendingene i fortørket materiale (% av fortørket materiale).

	Rødkløver	Eng	Raigras	Timotei
Timotei	42	17,6	0	95,7
Engsvingel	0	10,8	0	0
Raigras flerårig	1,2	1,2	87,3	0
Engrapp	0	25,7	0	0
Kveke	8,5	3,8	0	0
Markrapp	0	2,7	0	0
Rødkløver	36,3	1,5	0	0
Løvetann	0	9,5	0	0
Høymole	12	1,9	0	0
Krypsoleie	0	9,0	0	0
Groblad	0	1,6	0	0
Hvitkløver	2,7	9,0	0	0
Dødt materiale	5,8	3,7	3,8	3,8
Annet	2,4	2,1	8,9	0,5
Sum	100	100	100	100

Verdier under 1 % er definert som 0, disse verdiene sammenlagt ligger under annet.

Det ble tatt ut en prøve til kjemisk analyse av hvert surfôr for hver periode, så det er fire prøver som ligger til grunn for hvert av middeltallene (Tabell 11). Standardavvikene viser at det jevnt over er godt samsvar mellom prøvene med mindre avvik.

Tabell 11 Kjemisk sammensetning av de fire surfôrtypene (g/kg TS).

	Rødkløver		Eng		Raigras		Timotei		Kraftfôr	
	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil
TS g/kg	325	0,06	272	0,05	293	0,08	320	0,19	901	0,02
Parameter										
g/kg TS										
Aske	80	2,5	97	26,4	85	2,3	69	2,3	45	4,0
Org.mat	920		903		915		931		955	
NDF	394	7,4	400	9,5	380	11,7	493	12,7	168	3,5
Kjeldahl-N	21	1,3	20	0,2	22	0,9	17	0,3	20	0,1
Råfett	30	5,4	39	2,6	38	3,5	36	1,9	20	2,1
Stivelse	32	3,4	17	1,4	20	2,6	30	24,2	510	11,3
Råprotein	138	8,19	122	6,62	147	5,87	106	7,09		
Melkesyre	31	2,04	63	1,25	60,8	2,06	34,4	10,74		
Eddiksyre	6,30	0,56	10	0,39	9,90	0,49	6,40	0,47		
Smørsyre	0,80	0,28	0,90	0,21	0,61	0,08	0,50	0,34		
Maursyre	6,70	0,30	7,30	1,56	7,50	1,84	4,10	1,08		
Propionsyre	0	0	0	0	0	0	0	0		
NH₃-N	1,3	0,10	1,6	0,06	2,00	0,21	1,60	0,11		
NH₃-N g/kg	60,8	2,99	82	7,14	83,3	7,54	96,3	11,24		
N										
Etanol	14,8	2,13	18,6	2,69	19,7	2,64	16,1	2,12		
Kjeldahl-N	22,0	1,31	19,6	1,06	23,5	0,94	16,9	1,14		
pH	4,5	0	4,4	0,06	4,5	0,05	4,7	0,17		

Det var en jevnt over normal tørrstoffprosent i alle sufrôrtypene med lite variasjon. Ut ifra syreinnholdet og pH tyder det på at surfôrgjæringen har vært tilfredsstillende. NDF innholdet i rødkløver er normalt noe lavere enn i gras. Her ligger det på samme nivå som eng, noe høyere enn raigras, men fortsatt godt under timotei (Tabell 11).

Tørrstoffopptaket varierte lite mellom fôrtypene (Tabell 12).

Tabell 12 Opptaket av tørrstoff (TS), neutral detergent fibre (NDF) og bruttoenergi (BE) i grovfôr, kraftfôr og totalt per dyr og dag for de fire surfôrtypene.

Opptak	Rødkløver		Eng		Raigras		Timotei	
TS	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil
Grovfôr	11,87	1,81	11,59	2,01	11,46	1,22	11,18	1,19
Kraftfôr	5,15	0,74	5,31	0,63	5,13	0,59	4,92	0,55
Totalt	17,02	2,53	16,91	2,54	16,59	1,72	16,10	1,68
kg NDF	4,7		4,8		4,5		5,5	
Fordøyd	4,03	0,96	3,61	0,96	4,21	0,72	4,64	0,53
NDF kg								
Opptak	313,1	46,6	311,1	46,8	305,3	31,6	296,2	30,9
BE MJ								

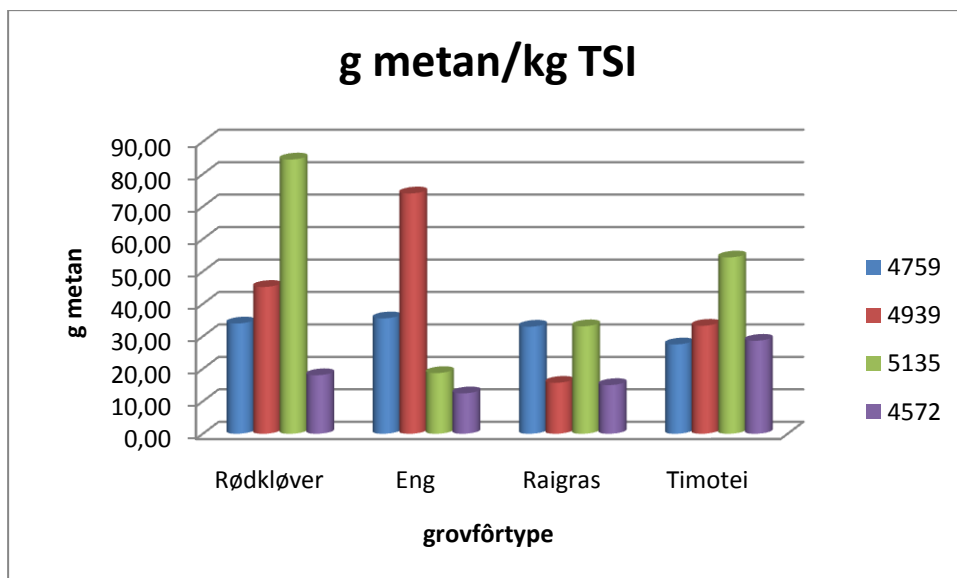
Opptaket av TS, NDF og BE varierer lite mellom fôrslagene. Opptaket av BE varierer en del mellom kyrne (Tabell 12).

6.2 Metanproduksjon

Produksjon av CH₄ knyttes til ulike parametere i forskjellig litteratur. I Tabell 13 og Figur 10-14 er metanproduksjonen fra kyr gitt de fire surfôrslagene sett i sammenheng med TSI, melkeytelse (MY), BE og NDF.

Resultatene for metanproduksjonen i D-150 hadde noen verdier som fra laboratoriet i Canada var merket som tvilsomme. De mente at verdien var for avvikende fra de andre verdiene på samme individ, og at det kan ha vært en analysefeil. En mye brukt selektering av ekstremverdier er dersom verdien avviker to standardavvik fra gjennomsnittet skal den fjernes. Det var også to ekstremverdier som ikke ble selektert vekk av laboratoriet, men som jeg har fjernet etter nøye vurdering, da de påvirket resultatet i vesentlig grad (Vedlegg 1).

Det er store individforskjeller, noe som gir utslag på gjennomsnittet i figurene under (Figur 9). Standardfeilene for hver parameter går frem av Tabell 13, og gir et bilde på at det enkelte steder er stor variasjon i tallene.

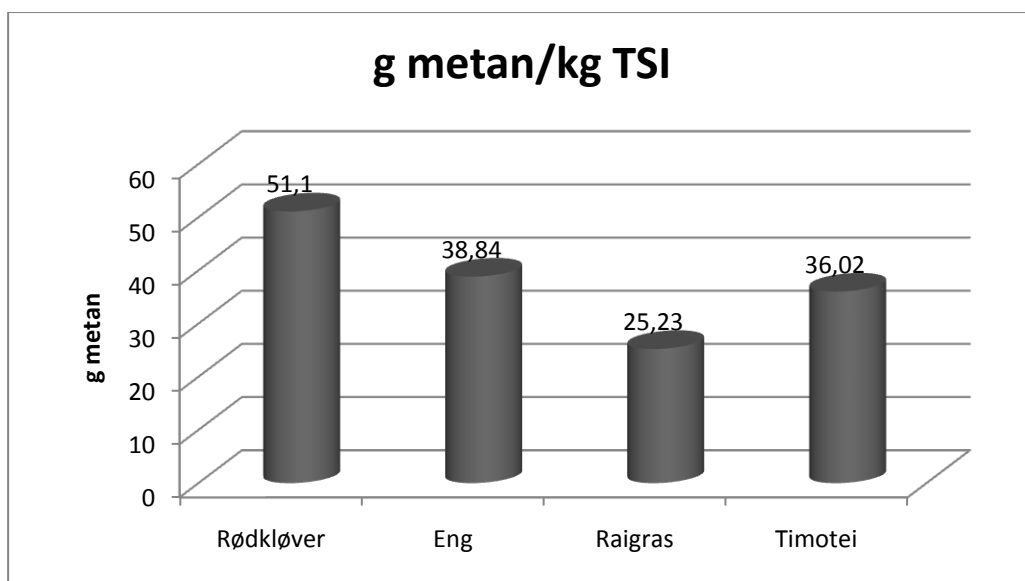


Figur 9 Metanproduksjonen til hver av kyrne på forsøksfôrene.

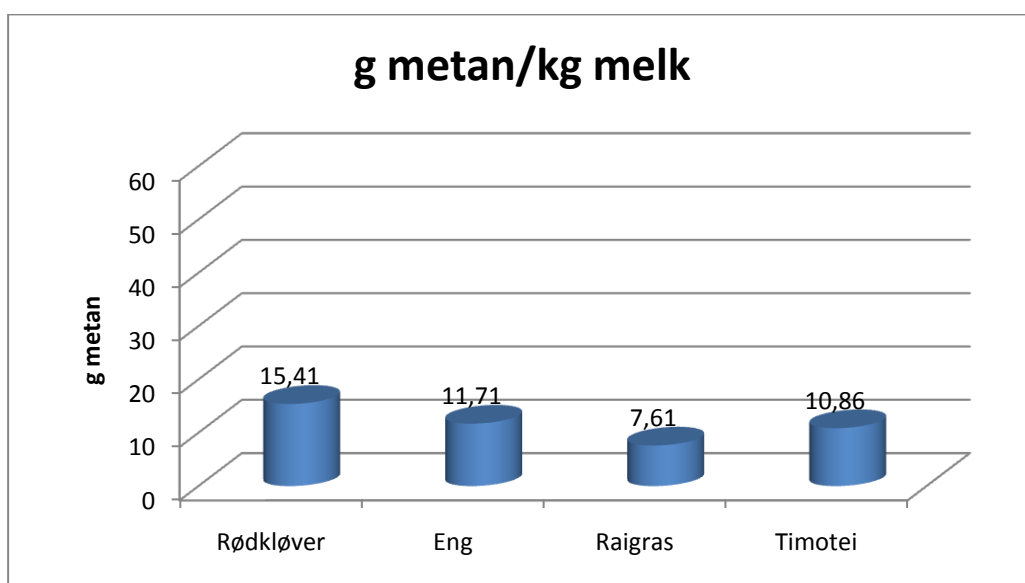
Tabell 13 Metan sett i forhold til forskjellige parametre

	Rødkløver		Eng		Raigras		Timotei	
	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil	Snitt	St.feil
gCH₄/	833		630		413		572	
ku/dag								
g CH₄/	51,10	53,23	38,84	42,38	25,23	10,11	36,02	28,52
kg TSI								
g CH₄/	49,58	51,78	39,34	42,84	23,95	9,09	33,02	26,32
kg melk								
g CH₄/	44,57	47,58	33,69	36,06	20,98	9,20	31,99	27,48
kg EKM								
CH₄ %	15,41	16,06	11,71	12,78	7,61	3,05	10,86	8,62
av BE								
(Y_m)								
g CH₄/	219		175		98		123	
kg NDF								
(fordøyd)								

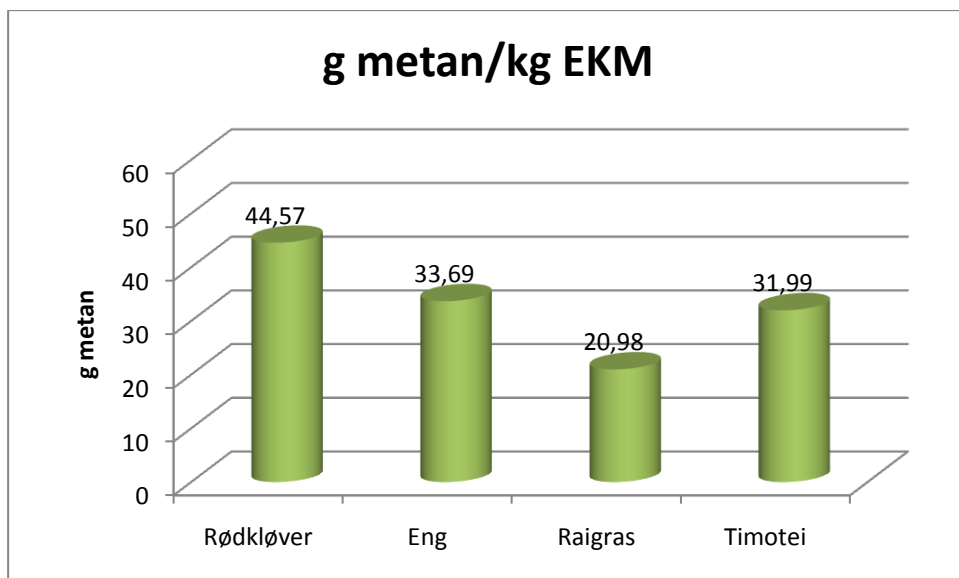
CH₄ = metan, TSI = tørrstoffinntak, EKM = energikorrigert melk, BE = bruttoenergi, NDF = neutral detergent fibre



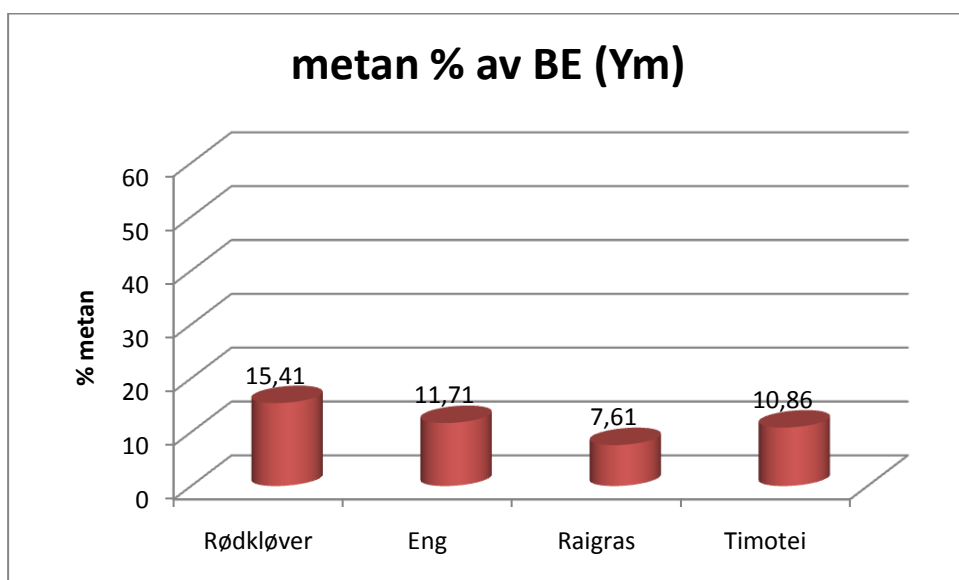
Figur 10 Gjennomsnittlig metanproduksjon for hver surfôrtype per kg tørrstoffinntak (TSI). (g/kg tørrstoffinntak)



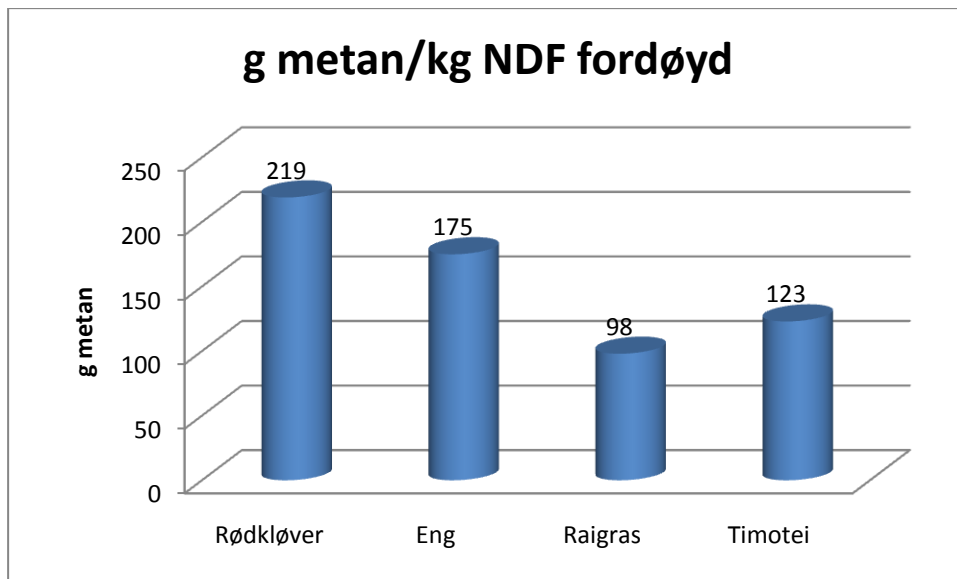
Figur 11 Gjennomsnittlig metanproduksjon for hver surfôrtype per kg melk. (g/kg melk)



Figur 12 Gjennomsnittlig metanproduksjon for hver surfôrtype per kg energikorrigert melk (EKM). (g/kg torrstoffinntak)



Figur 13 Gjennomsnittlig metanproduksjon for hver surfôrtype som metan oppgitt som % av bruttoenergien (BE). (metan % av BE) også omtalt som Ym.



Figur 14 Gjennomsnittlig metanproduksjon for hver surfôrtype per kg neutral detergent fibre (NDF). (g/kg NDF)

Trenden viser at produksjonen av CH_4 er mindre per kg TSI, melk, EKM, NDF og som % av BE når dyra fôres med raigras. Deretter følger timotei, eng og rødkløver med økende produksjon av CH_4 per enhet. På rødkløver og eng er standardavvikene ganske høye. (Tabell 13)

6.3 Estimering av metanproduksjon ved hjelp av utarbeidete likninger

Det er likninger for å kunne estimere metanproduksjonen hos drøvtyggere. De aller fleste likningene er utarbeidet med sikte på rasjoner som ikke stemmer overens med norske forhold.

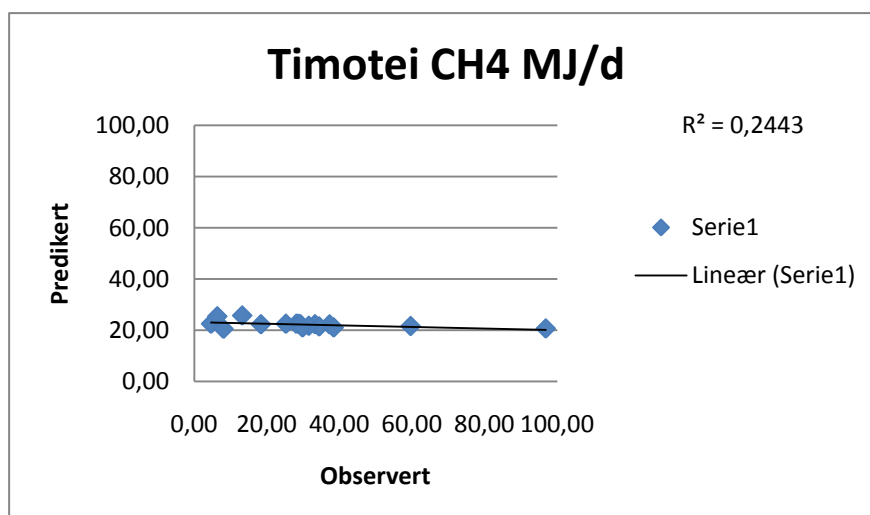
Tabell 14 Utarbeidete likninger for estimering av metanproduksjonen hos melkeku.

	Benevning	Likning	Referanse
Likning 1	CH ₄ (l/d)	$47,82*TSI-0,762*TSI^2-41$	(Yan et al. 2006)
Likning 2	CH ₄ (l/d)	$0,324*LW+[16,55+0,006*S/T]+14$	(Yan et al. 2006)
Likning 3	CH ₄ (MJ/d)	$3,23+0,81TSI$ (kg/d)	(Ellis et al. 2007)
Likning 4	CH ₄ (MJ/d)	$0,92*Tot.F\hat{o}ropptak(kg\ ts/d)+5,93$	(Mills et al. 2003)
Likning 5	CH ₄ (MJ/d)	$10,27*Grovf\hat{o}r(kg\ ts/d)/Tot.F\hat{o}ropptak(kg\ ts/d)+0,87*Tot.f\hat{o}ropptak(kg\ ts/d)+1,06$	(Mills et al. 2003)
Likning 6	CH ₄ (MJ/d)	$1,21*TSI_t(kgts/d)-0,825TSI_k(kgts/d)+12,8*[NDF(kg/d)/TSI_t(kg\ ts/d)+1,36$	(Yates et al. 2000)

TSI = tørrstoffinntak, _t = totalt fôropptak, _k = kraftfôropptak, LW = levendevekt, NDF = neutral detergent fiber og S/T = TS inntaksurfôr som en proposjon av totalt TS inntak.

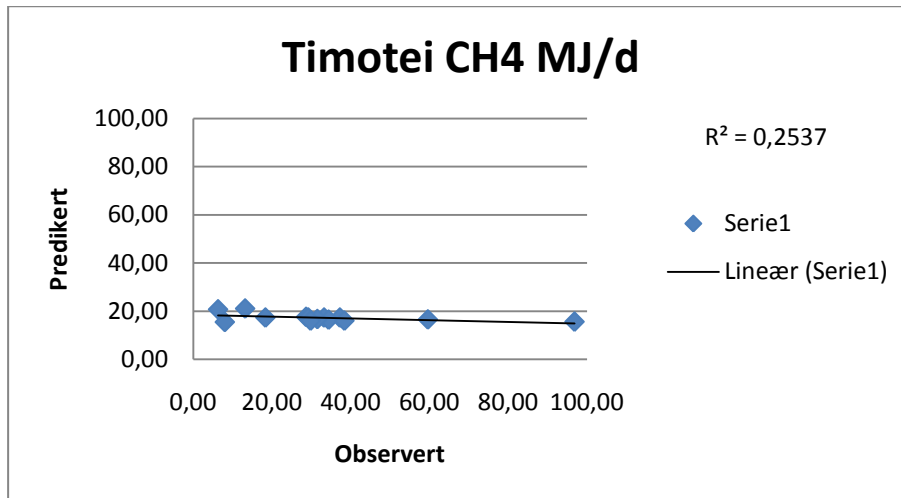
For å illustrere sammenhengen mellom predikert og observert verdi er timotei brukt som eksempel i figurene 15 og 16.

Ved bruk av likning 5 fra Tabell 14 til å beregne metanproduksjonen til forsøksdyrene som fikk surfôr av timotei ble sikkerheten (R^2) 0,2443 (Figur 15).



Figur 15 Sammenhengen mellom observert og predikert metanproduksjon fra D-150 og Mills et al (2003).

Ved bruk av likning 9 fra Tabell 14 til å beregne metanproduksjonen til forsøksdyrene som fikk surfôr av timotei ble sikkerheten (R^2) 0,2537 (Figur 16).



Figur 16 Metanproduksjon beregnet utifra Yates et al. (2000) og satt i sammenheng med de observerte resultatene.

Sikkerheten til likningene sammenlignet med resultatene i D-150 er lave sammenlignet med de sikkerhetene som ble oppgitt for likningene (Tabell 15).

Tabell 15 Sammenhengen (R^2) mellom observerte og predikerte verdier for metanproduksjon.

	Rødkløver	Eng	Raigras	Timotei	Oppgitt sikkerhet (R^2)	Referanse
Likning 1	0,0238	0,0002	0,1106	0,2255	0,75	(Yan et al. 2006)
Likning 2	0,0285	0,0007	0,1817	0,1663	0,78	(Yan et al. 2006)
Likning 3	0,0325	0,0008	0,1596	0,229	0,65	(Ellis et al. 2007)
Likning 4	0,0325	0,0008	0,1596	0,229	0,60	(Mills et al. 2003)
Likning 5	0,0362	0,0025	0,134	0,2443	0,57	(Mills et al. 2003)
Likning 6	0,0368	0,0035	0,1298	0,2537	0,54	(Yates et al. 2000)

Nes og Volden (2009) har utviklet en likning for å beregne metanproduksjonen under norske forhold (Formel 5 og Formel 6). Disse har det dessverre ikke vært mulig å prøve ut, da vi manglet en av parametrene i likningene.

7.0 Diskusjon

Det var forventet en forskjell i produksjon av CH₄, da den kjemiske sammensetningen i fôret har innvirkning på fermenteringsmønsteret i vomma. Det er spesielt innhold av NDF, tanniner og saponiner som kan være utslagsgivende med tanke på metanproduksjon.

7.1 Variasjon og sikkerhet på metanmålingene

Innen hvert fôrslag var det stor variasjon i metanproduksjonen mellom kyrne (Figur 9), noe som har påvirket resultatet. Variasjonene og variasjonsbredden, oppgitt i g metan/kg TSI, er 28-54 for timotei, 15-33 for raigras, 13-74 for eng og 18-85 for rødkløver (Figur 9). Dette er store variasjoner som gjør utslag på resultatene. To av kyrne (4759 og 4572) var ganske jevne i metanproduksjonen hele veien, mens de to andre (4939 og 5135) varierte betydelig mellom fôrslagene (Figur 9). Boadi & Wittenberg (2001) og Grainger et al. (2007) anbefaler å ta et stort antall prøver av hver ku, da dette vil kunne gi sikrere resultater med SF₆ teknikken.

Når det er så stor variasjon både mellom kyrne og innen samme ku over de forskjellige periodene er det vanskelig å trekke sammenhenger. I datasettet for D-150 er det noen ekstremverdier, de fleste av disse ble anbefalt fjernet av laboratoriet i Canada. Datasettet inneholder også noen verdier som det er usikkert om skal fjernes eller ikke, da de kun skiller seg litt ut fra resten. Det er vanskelig å vurdere om det er en målefeil eller en faktisk høy produksjon det døgnet. Hadde det vært et større datasett ville ikke enkeltmålinger gitt så stort utslag, men ettersom det var kun fire kyr gir, ekstremverdier store utslag på verdien. Grainger et al. (2007) fant i sitt forsøk at markørmetoden var suksessfull i 88 % av tilfellene, de resterende 22 % var blokkerte slanger eller ødeleggelse på utstyret. De opplevde også noen målinger med unormalt høye eller lave verdier som ikke kunne forklare med tette slanger eller lekkasje. Dette viser at metoden har svakheter, og kan forklare at resultatene i D-150 er sprikende.

Vom pH ble målt til 6-6,5 og har derfor ingen påvirkning på metanproduksjonen. Målingene ble utført kontinuerlig i 24 timer hver prøveperiode.

Standardavviket for g CH₄/ kg energikorrigert melk, kg melk og tørrstoffinntak er generelt høyere enn for CH₄ som % av bruttoenergi (Y_m) (Tabell 13). Dette viser at % opptaket av bruttoenergien er bedre korrelert med metanproduksjonen enn de tre andre faktorene. Rødkløver og eng har høyere standardavvik enn raigras og timotei, noe som kan skyldes at de to førstnevnte surfôrene er blandinger av flere arter, og at det kan være større variasjon i de

enkelte rasjonene enn i raigras og timotei hvor den dominerende arten er representert med nesten 100 %.

7.2 Effekt av fôrets botaniske sammensetning på metanproduksjonen

Sammenlignet med grasarter har belgvekster en høyere ernæringsmessig verdi, da de brytes raskt ned i vomma, og fører til kortere oppholdstid og høyere fôropptak (Tabell 4). Utviklingsstadiet på plantene er viktig fordi NDF innholdet øker med utviklingsstadiet, og fordøyeligheten synker.

Rødkløversurfôret i D-150 besto i hovedsak av timotei (42 %) og rødkløver (36 %) (Tabell 10). Dette er et veldig vanlig blandingforhold i Norge, og gir derfor et godt bilde av den norske rasjonen. Det er lite tilgjengelige data for metanproduksjon på surfôrbaserte rasjoner, så det er få data å sammenligne resultatene fra D-150 med.

Ramirez-Restrepo & Barry (2005) kom frem til at gjennomsnittsverdiene i g CH₄/kg tørrstoffinntak var 26 for flerårig raigrasbasert beite, 21 for luserne, 16-18 for sulla, rødkløver og sikori og 11,5 for belgveksten *Lotus pedunculatus* (Ramirez-Restrepo & Barry 2005).

Det er rødkløversurfôret som står for den største metanproduksjonen i D-150 (Figur 9-12). Dette var ikke ventet, da forsøk andre har gjort med kløver eller tannin-rike vekster har vist det motsatte (Ramirez-Restrepo & Barry (2005); Carulla et al. (2005); Hess et al (2006)). Ramirez-Restrepo & Barry (2005) kom frem til at rødkløver hadde en produksjon på 17,7, mens det i D-150 ble målt til 51,10 g CH₄/kg tørrstoffinntak. Dette kan være fordi det er så liten andel kløver i blandingen at det ikke har noe utslag på metanproduksjonen. Det ble heller ikke analysert for innhold av tanniner i surfôret, og det er derfor vanskelig å si om det har vært tilstrekkelig mengde tanniner til at det skulle ha hatt noen effekt.

Engsurfôret besto av over 13 arter, hvor engrapp, timotei og engsvingel sto for hhv 25,7, 17,6 og 10,8 % av blandingen. Hvitkløver var representert med 9,0 %, og bidro med nitrogen til engvekstene, og tanniner i fôret. Eng var det surfôret med nest høyest metanproduksjon (Tabell 13).

Resultatene målt på raigras i D-150 stemmer overens med resultatene fra forsøkene til Ramirez-Restrepo & Barry (2005). Produksjonene var hhv 25,2 og 25,7 g CH₄/kg tørrstoffinntak. Forsøksfôret i D-150 var raigras surfôr mens det hos Ramirez-Restrepo & Barry (2005) var raigras beite. Det kan være forskjellig fôrgrunnlag selv om fôret heter det samme. Det var ventet at raigras og timotei skulle gi en høyere produksjon av CH₄ enn

rødkløver slik som i forsøket til Ramiez-Restrepo & Barry (2005) hvor dyr fôret med belgvekster slapp ut mindre CH₄ enn de som fikk raigras beite (Tabell 3).

7.3 Likningenes samsvar med faktiske observasjoner

Det er utarbeidet flere likninger for å kunne estimere metanproduksjonen hos melkekyr (Tabell 14). Likningene bygger på et stort datagrunnlag (43-299 kyr) og i hovedsak en annen botanisk sammensetning i surfôret enn det som er vanlig under norske forhold. Det er heller ikke oppgitt kjemisk sammensetning i kraftfôret, noe som gjør det vanskelig å sammenligne med D-150.

Beregningene av metanproduksjonen ved hjelp av likningene samsvarer dårlig med de målingene som er gjort i D-150 (Tabell 14 og 15). De oppgitte sikkerhetene (R^2) i likningene ligger alle på over 0,50, når en bruker likningene på dataene i D-150 er R^2 under 0,25 (Tabell 15). Dette kan skyldes at rasjonen inneholder en annen type surfôr som er forskjellig fra den som produseres i Norge med gras som basis. En annen mulig forklaring er det lave antallet kyr i D-150 og fører til at individuelle forskjeller påvirker resultatet betraktelig. Raseforskjeller og ytelsesnivå kan også spille inn her, da denne informasjonen ikke er oppgitt i flere av artiklene som er lag til grunn for sammenligningen.

8.0 Konklusjon

Resultatene fra D-150 viser at det kan være en sammenheng mellom botanisk sammensetning i surfôret og metanproduksjon. Dataene viser tidvis store variasjoner, men det er en trend at dyrene som får raigrassurfôret slipper ut minst metan. Det er derfor grunn til å anta at det er en sammenheng mellom botanisk sammensetning av surfôret og metanproduksjonen hos melkekyr.

De sammenstilte tallene av analysene i D-150 peker mot at det er dyrene som får rødkløversurfôret som slipper ut mest metan. På grunn av store variasjoner i datamaterialet er det ikke mulig å si om tallene er representative for fôrslaget. På bakgrunn av mine resultater i D-150 avkreftes hypotesen *”Det forventes en lavere metanproduksjon hos de kyrne som får kløversurfôr enn de som får de resterende fôrslagene”*.

Utrekningene med likningene som er utarbeidet for å estimere metanproduksjon hos drøvtyggere viste seg å ha en lav korrelasjon med de resultatene som ble funnet i D-150. På bakgrunn av mine resultater i D-150 kan hypotesen *”Det forventes gode korrelasjoner mellom faktiske målinger og predikerte resultater ved bruk av likninger”* avkreftes.

9.0 Litteraturliste

- Anderson, K., Nagaraja, T., Morrill, J., Avery, T., Galitzer, S. & Boyer, J. (1987). Ruminant Microbial Development in Conventionally of Early-Weaned Calves. *J. Animal Science*, 64: 1215-1226.
- Beauchemin, K. (2010). *An Update on Enteric Methane Research from the Lethbridge Research Centre*, Ås, Norway.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F. & T.A., M. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 21-27.
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C. & Holtshausen, L. (2009). Crushed sunflower, fax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *American Dairy Science Association*, 92: 2118-2127.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J. & Masse, D. (2004). Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Can. J. Anim. Sci*, 84: 319-335.
- Boadi, D. A. & Wittenberg, K. M. (2001). Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF6) tracer gas technique. *Canadian journal of animal science*: 201-206.
- Børsting, C. F., Weisbjerg, M. R. & Hermansen, J. E. (2003). *Kvægets ernæring og fysiologi*. Fedtomsætningen i mave-tarmkanalen utg. Bind 1 - Næringsstofsomsætning og fodervurdering, b. 53. Tjele: DigiSource Danmark A/S. 642 s.
- Calsamiglia, S., Busquet, P. W., Castillejos, L. & Ferret, A. (2007). Invited Review: Essential Oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Anim Sci*, 90: 2580-2590.
- Caplex. (2004). *Sikori*. I: forlag, J. W. C. (red.). Oslo:
<http://www.caplex.no/Web/ArticleView.aspx?id=9331983> (lest 05.05).
- Cunningham, J. G. (2002). *Textbook of veterinary physiology*. 3rd utg. Pennsylvania: W.B. Saunders company. 575 s.
- Demeyer, D. I. & Van Nevel, C. J. (2005). Transformations and effects of lipids in the rumen: three decades of research at gent university. *Arch. Animal Nutrition*, 48: 119-134.
- Dyrhaug, M. *Raigras - en allsidig vekst*. I: nord-norge, F. i. (red.):
<http://nordland.lfr.no/Docs/00002513.html> (lest 05.05).
- Ellis, J. L., Kebreab, E., Odongo, N. E., McBride, B. W., Okine, E. K. & France, J. (2007). Prediction of Methane Production from Dairy and Beef Cattle. *J Dairy Science* 90: 3456-3467.
- Engan, G. *Tiriltunge - blomst med mange navn*. Oslo:
http://www.skogoglandskap.no/Artsbeskrivelser/tiriltunge_bloomst_med_mange_navn (lest 05.05).

Forurensningsdirektoratet, K. o. (2003). *Klimagasser*:

<http://www.klif.no/no/Aktuelt/Nyheter/2003/Desember/Klimagasser/> (lest 06.05).

Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88: 587-605.

Garmo, T. H., Thuen, E., Nes, S. K., Krizsan, S. J., Volden, H., Ollila, V. & Harstad, O. M. (2009). *Effekt av grovfôrkvalitet og kraftfôrnivå på metanemisjon hos mjølkeku*: Husdyrforsøksmøtet 2009.

Gjefsen, T. (1991). *Fôringslære*. Otta: Landbruksforlaget. 360 s.

Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 279-290.

Hart, K. J., Yanez-Ruiz, D. R., Duval, S. M., McEwan, N. R. & Newbold, C. J. (2007). Plants extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147 (1-3): 8-35.

Hess, H. D., Kreuzer, M., Diaz, T. E., Lascano, C. E., Carulla, J. E., Soliva, C. R. & Machmüller, A. (2003). Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*, 109: 79-94.

Hess, H. D., Tiemann, T. T., Noto, F., Carulla, J. E. & Kreuzer, M. (2006). Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock. *International congress series* 1296: 164-167.

Hobson, P. N. & Stewart, C. S. (1997). *The rumen microbial ecosystem*.

[http://books.google.no/books?id=--](http://books.google.no/books?id=--OAI30q6NgC&printsec=frontcover&dq=the+rumen+microbial+ecosystem&source=bl&ots=082-CzXHkB&sig=peGHDI7unbPCGvAXpXChMGb8-Ks&hl=no&ei=az2eS_b2BtDz-QaT6rXnAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CA8Q6AEwAA#v=onepage&q=&f=false)

[OAI30q6NgC&printsec=frontcover&dq=the+rumen+microbial+ecosystem&source=bl&ots=082-CzXHkB&sig=peGHDI7unbPCGvAXpXChMGb8-Ks&hl=no&ei=az2eS_b2BtDz-](http://books.google.no/books?id=--OAI30q6NgC&printsec=frontcover&dq=the+rumen+microbial+ecosystem&source=bl&ots=082-CzXHkB&sig=peGHDI7unbPCGvAXpXChMGb8-Ks&hl=no&ei=az2eS_b2BtDz-QaT6rXnAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CA8Q6AEwAA#v=onepage&q=&f=false)

[QaT6rXnAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CA8Q6AEwAA#v=onepage&q=&f=false](http://books.google.no/books?id=--OAI30q6NgC&printsec=frontcover&dq=the+rumen+microbial+ecosystem&source=bl&ots=082-CzXHkB&sig=peGHDI7unbPCGvAXpXChMGb8-Ks&hl=no&ei=az2eS_b2BtDz-QaT6rXnAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CA8Q6AEwAA#v=onepage&q=&f=false), b. page 3-8. London: Blackie Academic & Professional (lest 15.03.2010).

Holtshausen, L., Chaves, A. V., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., McAllister, T. A., Odongo, N. E., Cheeke, P. R. & Benchaar, C. (2009). Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *American Dairy Science Association*, 92: 2809-2821.

Iwaasa, A. D. (2004). The use of the sulphur hexafluoride (SF6) tracer technique to evaluate methane production from beef cattle grazing different forages. *Ruminant Nutrition Research scientist*: 1-6.

John, N. R., Jörk, N., Roderick, M. M. & Douglas, R. S. (1997). Methanogenesis: Genes, Genomes, and Who's on First? *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 179 (19): 5975-5986.

Johnson, K. & Johnson, D. (1995). Methane emissions from cattle. *J. Animal Science*, 73: 2483-2492.

- Kristnesen, N. B., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. & Nørgaard, P. (2003). *Kvægets ernæring og fysiologi*. Mikrobiel omsætning i formaverne utg. Bind 1 - Næringsstofomsætning og fodervurdering, b. 53. Tjele: DigiSource Danmark A/S. 642 s.
- Lunnan, T. & Schärer, J. (2007). *Luserne - alternativ til kløver*. I: Bioforsk (red.): <http://www.forskning.no/artikler/2007/mars/1172740956.17> (lest 05.05).
- Marum, P. *Molstad rødkløver - medalje for frødyrking*: Norsk intuitutt for skog og landskap (lest 05.mai).
- McAllister, T. A. & Newbold, C. J. (2008). Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 7-13.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A. (red.). (2002). *Animal nutrition*, b. 6th ed. Glasgow: Bell & Bain Ltd.
- Miljøstatus. (2009). *Kyotoavtalen*: <http://www.miljostatus.no/Tema/Klima/Klima-globalt/Tiltak--for-a-reducere-utslipp-av-klimagasser/Kyotoavtalen/> (lest 06.05).
- Miller, G. A. (2009). *WordNet - About Us.* WordNet. Princeton University. [leksikon]: <http://wordnet.princeton.edu> (lest 23.04).
- Mills, J. A. N., Kebreab, E., Yates, C. M., Crompton, L. A., Cammell, S. B., BDhanoa, M. S., Agnew, R. E. & France, J. (2003). Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *J Anim Sci*, 81: 3141-3150.
- Moe, P. & Tyrrell, H. (1979). Methane Production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* , 62: 1583.
- Monteny, G.-J., Bannink, A. & Chadwick, D. (2006). Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112: 163-170.
- Moss, A. R., Jouany, J.-P. & Newbold, J. (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* , 49: 231-253.
- Münger, A. & Kreuzer, M. (2006). Methane emission as determined in contrasting dairy cattle breeds over the reproduction cycle. *International Congress Series*, 1293: 119-122.
- Nes, S. & Volden, H. (2009). *Husdyrforsøksmøtet 2009*. Utvikling av Tier 3 for beregning av metan fra norsk storfe. 594 s.
- O'Mara, F. (2004). Greenhouse gas production from dairying: reducing methane production. *Dairy technology*, 16: 295-309.
- Okine, E. K., Mathison, G. W. & Hardin, R. T. (1989). Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *J. Anim Sci*, 67: 3388-3396.
- Pen, B., Sar, C., Mwenya, B., Kuwaki, K., Morikawa, R. & Takahashi, J. (2006). Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on in vitro ruminal fermentation and methane emission. *Animal Feed Science and Technology*, 129: 176-186.

- Puchala, R., Min, B. R., Goetsch, A. L. & Sahl, T. (2005). The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim Sci* 2005, 83: 182-186.
- Ramirez-Restrepo, C. A. & Barry, T. N. (2005). Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 120: 179-201.
- Selmer-Olsen, I. (2007). *Klimagasser og kjøttproduksjon på storfe*: www.grovfôrnett.no (lest 28.07).
- SSB. (2010). *Kraftig nedgang i klimagassutslippene*: Statistisk sentralbyrå (lest 20.05.10).
- Thuen, E. (2009). *HFX202*. Ås.
- Tsuda, T., Sasaki, Y. & Kawashima, R. (1991). *Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. 7 utg. Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. London: Academic Press Limited. 779 s.
- Utenriksdepartementet. (2001). *Om samtykke til ratifikasjon av Kyotoprotokollen av 11. desember 1997 til FNs rammekonvensjon om klimaendring av 9. mai 1992*: <http://www.regjeringen.no/nb/dep/ud/dok/regpubl/stprp/20012002/stprp-nr-49-2001-2002-/1.html?id=206049> (lest 02.03).
- Volden, H. (2009). *Husdyrforsøksmøtet 2009*. Muligheten for å redusere metan emisjonen fra drøvtyggere. Ås: Tine Rådgiving Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap, UMB. 594 s.
- Weisbjerg, M. R., Lund, P. & Hvelplund, T. (2003). *Kvægets ernæring og fysiologi* Kulhydratomsætningen i mave-tarmkanalen utg. Bind 1 - Næringsstofsomsætning og fodervurdering, b. 53. Tjele: DigiSource Danmark A/S. 642 s.
- Woese, C. R., Kandler, O. & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 4576-4579.
- Yan, T., Mayne, C. S. & Porter, M. G. (2006). Effects of dietary and animal factors on methane production in dairy cows offered grass silage-based diets. *International congress series*, 1293: 123-126.
- Yates, C. M., Cammell, S. B., France, J. & Beever, D. E. (2000). Prediction of methane emissions from dairy cows using multiple regression analysis. *Proceeding of the British Society of Animal Science.*, 94.

Vedlegg 1

Norway (09)

Cow#	ID
1	4572
2	5135
3	4939
4	4759

Period 1

Treatment	Cow#	CH ₄ Production					Mean	sd
		(L/min)						
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5		
	1	0,21		0,09		0,81	0,37	0,39
		0,20		0,07		0,89	0,39	0,44
							CH ₄ Production (kg/day)	0,38
	2	0,25	0,14	0,39		0,34	0,28	0,11
		0,25	0,14	0,38		0,38	0,29	0,12
							CH ₄ Production (kg/day)	0,29
	3	0,24	0,29	0,36	0,20	0,32	0,28	0,06
		0,23	0,31	0,35	0,25	0,26	0,28	0,05
							CH ₄ Production (kg/day)	0,29
	4	0,49	0,44	0,08	0,50	0,65	0,43	0,21
		0,40	0,47	0,08	0,65	0,54	0,43	0,22
							CH ₄ Production (kg/day)	0,45

Period 2

Treatment	Cow#	CH ₄ Production					Mean	sd
		(L/min)						
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5		
	1		0,19	0,30		0,23	0,24	0,06
			0,19	0,29		0,23	0,24	0,05
							CH ₄ Production (kg/day)	0,25
	2	0,46	0,60	0,35	4,40	0,41	0,46	0,11
		0,49	0,60	0,34	7,48	0,39	0,46	0,12
							CH ₄ Production (kg/day)	0,47
	3	0,51	0,58	0,32	0,60	0,55	0,51	0,11
		0,53	0,58	0,32	0,60	0,54	0,51	0,11
							CH ₄ Production (kg/day)	0,53
	4	0,55	0,54	0,34	0,67	0,33	0,49	0,15
		0,63	0,54	0,34	0,68	0,31	0,50	0,17
							CH ₄ Production (kg/day)	0,50

Period 3

Treatment	Cow#	CH ₄ Production					Mean	sd
		(L/min)						
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5		
	1	0,20	0,26	0,28	0,30	0,25	0,26	0,04
		0,21	0,27	0,29	0,30	0,23	0,26	0,04
							CH ₄ Production (kg/day)	0,27
	2	1,69	0,52	0,67	26,48	0,14	0,76	0,66
		1,88	0,53	0,70	31,00	0,13	0,81	0,75
							CH ₄ Production (kg/day)	0,78
	3	1,50	0,30	0,92	1,18	0,84	0,81	0,37
		2,47	0,31	0,98	1,11	0,76	0,79	0,35
							CH ₄ Production (kg/day)	0,84
	4	0,48	0,46	0,55	0,56	0,46	0,50	0,05
		0,55	0,47	0,59	0,54	0,38	0,51	0,08
							CH ₄ Production (kg/day)	0,52

Period 4

Treatment	Cow#	CH ₄ Production					Mean	sd
		(L/min)						
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5		
	1		0,23		0,11	1,04	0,46	0,51
			0,24		0,11	0,98	0,44	0,47
							CH ₄ Production (kg/day)	0,47
	2	0,61	1,79	0,25	0,42	3,43	1,30	1,34
		0,64	1,95	0,24	0,42	3,04	1,26	1,20
							CH ₄ Production (kg/day)	1,34
	3	1,00	0,40	0,76	3,19	0,89	1,25	1,11
		1,05	0,40	0,75	2,94	0,85	1,20	1,00
							CH ₄ Production (kg/day)	1,29
	4	0,56	0,65	0,54	0,47	0,50	0,54	0,07
		0,60	0,68	0,53	0,46	0,50	0,55	0,09
							CH ₄ Production (kg/day)	0,56

These lines were calc'd using avg of all Yoke blks (N=5; excluding outliers)

Hardware problems

Low area counts (check for leak at cannula). Data may be omitted.