

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC MỨC BIOCHAR KẾT HỢP VỚI URÊ ĐẾN TIÊU HÓA DẠ CỎ VÀ LƯỢNG METHANE THẢI RA TRONG ĐIỀU KIỆN *in vitro*

Phan Thị Phương Thanh, Đỗ Thị Phương Thảo

Khoa Nông Lâm Ngụ, Trường Đại học Hùng Vương

Ngày nhận: 31/5/2019; Ngày sửa chữa: 09/6/2019; Ngày duyệt đăng: 16/6/2019

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê tới tiêu hóa dạ cỏ và lượng khí methane thải ra trong điều kiện *in vitro*. Bổ sung biochar ở mức 0,5%; 1%; 5% kết hợp với urê 2% đã làm tăng tiềm năng sinh khí, khả năng tiêu hóa chất hữu cơ, các axit béo mạch ngắn, giá trị năng lượng trao đổi và làm giảm lượng khí methane so với đối chứng. Có sự khác nhau giữa mức bổ sung biochar 5% so với mức 0,5% và 1% về tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ, giá trị năng lượng trao đổi, các axit béo mạch ngắn. Tuy nhiên, không có sự khác nhau giữa hai mức biochar 0,5% và 1%.

Khẩu phần bổ sung biochar 1% x urê 2% là mức thích hợp nhất, vừa đảm bảo tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (49,61%) vừa làm giảm lượng khí methane gây ô nhiễm môi trường (giảm 17,31%).

Từ khóa: Biochar, urê, methane, dạ cỏ, *in vitro*

1. Đặt vấn đề

Hàng năm sản xuất chăn nuôi, chủ yếu là chăn nuôi gia súc nhai lại, tạo ra khoảng 86 triệu tấn khí methane (CH_4), đóng góp tới 18% tổng lượng khí thải nhà kính [5]. Khí methane chủ yếu được sinh ra trong quá trình phân giải và tiêu hóa thức ăn trong dạ cỏ. Methane được tạo ra như một phụ phẩm của quá trình tiêu hóa và làm mất từ 2% đến 12% năng lượng thô của khẩu phần [4]. Do vậy, việc giảm lượng methane sản sinh trong dạ cỏ không chỉ làm giảm thiểu khí thải gây

ô nhiễm môi trường mà còn góp phần làm tăng năng suất vật nuôi.

Để giảm thiểu khí methane trong dạ cỏ đã có rất nhiều giải pháp được đưa ra, đặc biệt là các giải pháp về dinh dưỡng. Biochar và urê được phối trộn vào khẩu phần ăn của gia súc như là nguồn thức ăn bổ sung đã cải thiện khả năng thu nhận thức ăn và tỷ lệ tiêu hóa cũng như năng suất vật nuôi [1]. Việc sử dụng biochar và urê trong khẩu phần ăn có khả năng làm giảm phát thải methane từ dạ cỏ [6].

Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định đầy đủ hơn ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê đến tiêu hóa dạ cỏ và lượng methane thải ra trong điều kiện *in vitro*.

2. Đối tượng, nội dung, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Biochar (than củi), urê.
- Vật liệu nghiên cứu
- Động vật thí nghiệm: 02 bò Lai Sind (24 tháng tuổi) mổ lỗ dò có gắn canula.
- Hóa chất và các dụng cụ để sản xuất khí *gas* (*gas production*).
- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Thực nghiệm và Bảo tồn vật nuôi, Viện Chăn nuôi.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê bổ sung vào khẩu phần cơ sở đến hoạt động sinh khí, tỷ lệ tiêu hóa trong điều kiện *in vitro* và lượng khí methane sản sinh trong điều kiện *in vitro*.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 1 mẫu đối chứng và 3 mẫu thí nghiệm. Trong đó biochar bổ sung ở 3 mức

BẢNG 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Nghiệm thức	Ký hiệu	Lặp lại
Biochar (0,5%) x Urê (2%)	Biochar 0,5% x Urê 2%	3
Biochar (1%) x Urê (2%)	Biochar 1% x Urê 2%	3
Biochar (5%) x Urê (2%)	Biochar 5% x Urê 2%	3
Đối chứng (mẫu trắng)	ĐC	3
Số nghiệm thức		4
Tổng số xylan		12

0,5%; 1% và 5% kết hợp với urê 2% tính theo % vật chất khô của khẩu phần.

Khẩu phần ăn cơ sở được xây dựng theo dạng hỗn hợp hoàn chỉnh, có mật độ dinh dưỡng đáp ứng nhu cầu cho bò sinh trưởng theo tiêu chuẩn NRC (1996) (10-11 MJ ME/kgVCK và 12-14% protein thô) tự phối trộn.

BẢNG 2. Thành phần và tỷ lệ của khẩu phần cơ sở

Nguyên liệu	Tỷ lệ (% VCK)
1. Cỏ voi	89
2. Bột sắn	1,8
3. Đậu tương	3,9
4. Cám ngô	2,5
5. Cám gạo	2,8
Tổng	100
VCK	25,2
Protein thô	13
ME	10,3 (MJ/kg)

2.3.2. Thí nghiệm *in vitro* gas production

Phương pháp thí nghiệm *in vitro* gas production được tiến hành theo phương pháp của Menke và Steingass (1988). Các mẫu được phân tích tại phòng Phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện Chăn nuôi.

2.3.3. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp xác định

- Tổng lượng khí sinh ra tại các thời điểm: 0; 3; 6; 12; 24; 48; 72 và 96 giờ sau khi ủ được ghi chép để xác định động thái lên men của từng loại thức ăn thí nghiệm.

- Động thái lên men của các mẫu thức ăn: Phương trình có dạng như sau:

$$Y = a + b(1 - e^{-ct})$$

Trong đó:

- Y: là thể tích khí sinh ra ở thời điểm t (ml).
- a: là lượng khí sinh ra từ các chất dễ hòa tan ở thời điểm ban đầu khi ủ mẫu (ml).
- b: là lượng khí sinh ra từ các chất hữu cơ khó hòa tan trong suốt quá trình ủ (ml).

- a+b: là tổng lượng khí sinh ra của mẫu thức ăn đem ủ hay tiềm năng sinh khí của thức ăn (ml).
- c: là tốc độ sinh khí (%/giờ).
- t: là thời gian ủ mẫu thức ăn thí nghiệm (giờ).

- Giá trị năng lượng trao đổi (ME)

$$\text{ME (MJ/kg VCK)} = 2,20 + 0,136 \times \text{GP}_{24} + 0,057 \times \text{CP} + 0,0029 \times \text{CP}^2$$

- GP_{24} (ml) là thể tích khí trong xylanh chứa mẫu tại thời điểm 24 giờ sau ủ.
- CP (%) là tỷ lệ protein thô của khẩu phần.

- Hàm lượng axit béo mạch ngắn (SCFA):

$$\text{SCFA (mmol/200gVCK)} = 0,0239 \times \text{GP}_{24} - 0,0601$$

- Ước tính tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD)

$$\text{OMD} = 14,88 + 0,889 \times \text{GP}_{24} + 0,45 \times \text{CP} + 0,0651 \times \text{Ash}$$

- CP (%) là tỷ lệ protein thô của khẩu phần.
- Ash (%) là tỷ lệ khoáng của khẩu phần.

- Xác định lượng khí CH_4 : Tổng lượng khí sinh ra trong mỗi xylanh sau khi ủ mẫu 96 giờ được phân tích bằng phương pháp đo sắc ký khí để xác định lượng khí methane có trong hỗn hợp khí bằng máy Gas Chromatography (GC).

2.3.4. Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý sơ bộ trên phần mềm NEWAY của Chen (1996), sau

đó được tiến hành xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16.0.

3. Kết quả

3.1. Hoạt động sinh khí *in vitro* của các mẫu thức ăn

3.1.1. Lượng khí sinh ra của các khẩu phần bổ sung biochar và urê

Ở thời điểm 3h – 9h sau ủ có sự sai khác thống kê về lượng khí sinh ra giữa mẫu bổ sung so với mẫu đối chứng ($P < 0,05$). Tuy nhiên, không có sự khác nhau giữa các mức bổ sung biochar và urê. Lượng khí sinh ra lớn nhất là ở mẫu bổ sung biochar 0,5% x urê 2%.

Ở thời điểm 12h sau ủ, có sự sai khác giữa mức bổ sung biochar 5% so với mức biochar 1% và 0,5% ($P < 0,05$). Lượng khí đạt lớn nhất ở mức biochar 0,5% x urê 2% (16,9 ml).

Ở thời điểm 48h, lượng khí sinh ra nhiều nhất là ở mức biochar 0,5% x urê 2% (48,4 ml). Ở thời điểm 96h, lượng khí lớn nhất là ở mức biochar 1% x urê 2% (59,2 ml). Có sự khác nhau về lượng khí sinh ra giữa các mẫu bổ sung so với đối chứng, nhưng không có sự sai khác giữa các mức biochar bổ sung.

Bổ sung biochar kết hợp với urê đã làm tăng khả năng sinh khí. Điều này cho thấy việc bổ sung biochar và urê có ảnh hưởng tốt tới hoạt động lên men phân giải thức ăn.

BẢNG 3. Lượng khí sinh ra của khẩu phần bổ sung biochar và urê (ml)

Mẫu (n = 3)	Thời gian ủ mẫu							
	3h	6h	9h	12h	24h	48h	72h	96h
ĐC	3,2 ^b ± 0,29	6,8 ^b ± 0,17	10,7 ^b ± 0,15	14,5 ^b ± 0,38	26,3 ^b ± 0,78	35,3 ^b ± 0,68	38,4 ^b ± 0,89	40,4 ^b ± 0,94
Biochar 0,5% x Urê 2%	5,3 ^a ± 0,37	9,3 ^a ± 0,35	13,1 ^a ± 0,46	16,9 ^a ± 0,58	32,3 ^a ± 0,72	48,4 ^a ± 0,47	55,6 ^a ± 0,29	58,9 ^a ± 0,73
Biochar 1% x Urê 2%	5,0 ^a ± 0,23	9,0 ^a ± 0,67	13,3 ^a ± 0,23	16,6 ^a ± 0,42	32,0 ^a ± 0,54	48,1 ^a ± 0,59	55,2 ^a ± 0,68	59,2 ^a ± 0,79
Biochar 5% x Urê 2%	5,1 ^a ± 0,18	8,6 ^a ± 0,19	12,1 ^a ± 0,28	15,6 ^{ab} ± 0,20	29,5 ^a ± 0,43	45,6 ^a ± 0,88	52,6 ^a ± 0,94	58,1 ^a ± 1,23

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột dọc với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

3.1.2. Động thái sinh khí của các khẩu phần bổ sung biochar và urê

Việc đánh giá tiềm năng sinh khí cho phép dự đoán khả năng lên men phân giải các loại thức ăn thí nghiệm trong dạ cỏ. Thức ăn có tiềm năng sinh khí cao trong thí nghiệm *in vitro* sẽ có khả năng lên men, phân giải tốt ở điều kiện *in vivo*.

Giá trị (a) âm ở tất cả các khẩu phần cho thấy đây là thời kỳ mà vi khuẩn không có sự hoạt động trong mẫu thức ăn. Lượng khí từ glucit dễ hòa tan (a) tăng dần từ -1,4 ml đến -0,5 ml. Có sự sai khác giữa mức bổ sung biochar 5% với mức biochar 0,5% và biochar 1% (Bảng 4).

Lượng khí sinh ra từ các chất khó hoà tan (b) (các chất xơ) cũng có sự sai khác giữa mẫu bổ sung so với mẫu đối chứng ($P < 0,05$). Sản lượng khí (b) thu được nhiều nhất là ở khẩu phần biochar 1% x urê 2% tương ứng 64,6 ml.

Bổ sung biochar kết hợp với urê đã làm tăng đáng kể tiềm năng sinh khí của các

mẫu thức ăn ($|a|+b$) và có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung biochar 1% x urê 2% là 66,0 ml. Thấp nhất là ở mức biochar 5% x urê 2% (64,3 ml). Như vậy bổ sung biochar và urê vào khẩu phần có khả năng lên men, phân giải tốt trong môi trường dạ cỏ.

3.2. Ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê đến tỷ lệ tiêu hóa trong điều kiện *in vitro*

Qua số liệu bảng 5, có thể thấy: Bổ sung biochar 0,5% và 1% cho tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ, năng lượng trao đổi và axit béo mạch ngắn cao hơn hẳn so với đối chứng, nhưng ở mức biochar 5% thì không sai khác rõ rệt.

Leng *et al.* (2012) [2] cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ tiêu hóa giữa các mức 0,5%; 1% biochar kết hợp với urê. Tuy nhiên, khi bổ sung biochar ở các mức 1% đến 5% vào khẩu phần thì tỷ lệ tiêu hóa tăng tỷ lệ thuận với mức bổ sung.

BẢNG 4. Động thái sinh khí của khẩu phần bổ sung biochar và urê

Mẫu (n=3)	Các tham số ước tính				
	a (ml)	b (ml)	$ a +b$ (ml)	c (%/h)	L (h)
ĐC	-2,8 ^b ± 0,13	43,6 ^b ± 0,97	46,4 ^b ± 1,06	0,043 ^a	3,4 ^a ± 0,16
Biochar 0,5% x Urê 2%	-1,4 ^{ab} ± 0,41	64,2 ^a ± 0,36	65,6 ^a ± 0,67	0,030 ^b	2,5 ^b ± 0,57
Biochar 1% x Urê 2%	-1,4 ^{ab} ± 0,24	64,6 ^a ± 0,88	66,0 ^a ± 1,03	0,029 ^b	2,4 ^b ± 0,78
Biochar 5% x Urê 2%	-0,5 ^a ± 0,69	63,8 ^a ± 1,48	64,3 ^a ± 1,80	0,026 ^b	2,3 ^b ± 1,32

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột dọc với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); a = Sản lượng khí từ các chất dễ hòa tan (ml); $|a|+b$: Tiềm năng sinh khí (ml); b = Sản lượng khí từ các chất khó hòa tan (ml); c = Tốc độ sinh khí (%/h); L = Thời gian từ lúc ủ đến lúc bắt đầu sản sinh khí (h)

BẢNG 5. Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD), năng lượng trao đổi (ME), axit béo mạch ngắn (SCFA)

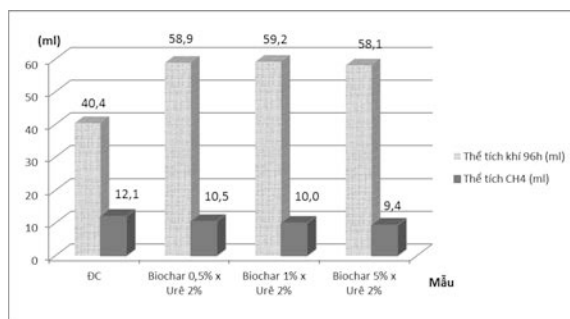
Mẫu (n=3)	OMD (%)	ME (MJ/kgVCK)	SCFA (mmol/200gVCK)
ĐC	44,71 ^b ± 0,71	6,99 ^b ± 0,10	0,57 ^b ± 0,019
Biochar 0,5% x Urê 2%	49,94 ^a ± 0,65	7,78 ^a ± 0,09	0,71 ^a ± 0,017
Biochar 1% x Urê 2%	49,61 ^a ± 0,49	7,72 ^a ± 0,07	0,70 ^a ± 0,013
Biochar 5% x Urê 2%	47,15 ^{ab} ± 0,38	7,32 ^{ab} ± 0,05	0,65 ^{ab} ± 0,010

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột dọc với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

3.3. Ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê đến lượng khí methane sản sinh trong điều kiện *in vitro*

Bổ sung biochar ở các mức 0,5%; 1% và 5% đều có tác dụng làm giảm lượng khí methane sản sinh ra thể hiện ở sự khác nhau rõ rệt về nồng độ khí CH₄ giữa mẫu bổ sung biochar và urê so với mẫu đối chứng. Mẫu bổ sung biochar 5% x urê 2% cho nồng độ và thể tích khí methane là thấp nhất tương ứng 16,1% và 9,4 ml và hiệu quả giảm phát thải methane là tốt nhất 22,30% (Bảng 6).

Khả năng làm giảm khí methane sản sinh ở các mẫu thí nghiệm là do bổ sung biochar



Hình 1. Tổng lượng khí sinh ra và thể tích khí methane sau 96h ủ

BẢNG 6. Nồng độ và thể tích khí methane sản sinh ra sau 96 giờ ủ

Mẫu (n=3)	Thể tích khí 96h (ml)	Nồng độ CH ₄ (%)	Thể tích CH ₄ (ml)	Tỷ lệ CH ₄ giảm so với đối chứng (%)
ĐC	40,4 ^b ± 0,94	29,9 ^a ± 1,82	12,1 ^a ± 0,61	0
Biochar 0,5% x Urê 2%	58,9 ^a ± 0,73	17,9 ^b ± 0,69	10,5 ^{ab} ± 0,93	12,70
Biochar 1% x Urê 2%	59,2 ^a ± 0,79	16,8 ^b ± 0,18	10,0 ^{ab} ± 0,87	17,31
Biochar 5% x Urê 2%	58,1 ^a ± 1,23	16,1 ^b ± 0,87	9,4 ^b ± 0,94	22,30

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

BẢNG 7. Ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê đến lên men, tiêu hóa dạ cỏ và lượng khí methane trong điều kiện *in vitro*

Mẫu (n=3)	a +b (ml)	OMD (%)	ME (MJ/kgVCK)	SCFA (mmol/200g VCK)	Thể tích CH ₄ (ml)	Tỷ lệ CH ₄ giảm (%)
ĐC	46,4 ^b ± 1,06	44,71 ^b ± 0,71	6,99 ^b ± 0,10	0,57 ^b ± 0,019	12,1 ^a ± 0,61	0
Biochar 0,5% x Urê 2%	65,6 ^a ± 0,67	49,94 ^a ± 0,65	7,78 ^a ± 0,09	0,71 ^a ± 0,017	10,5 ^{ab} ± 0,93	12,70
Biochar 1% x Urê 2%	66,0 ^a ± 1,03	49,61 ^a ± 0,49	7,72 ^a ± 0,07	0,70 ^a ± 0,013	10,0 ^{ab} ± 0,87	17,31
Biochar 5% x Urê 2%	64,3 ^a ± 1,80	47,15 ^{ab} ± 0,38	7,32 ^{ab} ± 0,05	0,65 ^{ab} ± 0,010	9,4 ^b ± 0,94	22,30

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột dọc với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

đã có tác dụng kích thích hoạt động của hệ vi sinh vật dạ cỏ, đặc biệt là tăng cường hoạt động oxy hóa methane của nhóm vi khuẩn methanotrophic [2]. Quá trình này đã làm giảm sinh khí methane một cách đáng kể.

3.4. Ảnh hưởng của các mức biochar kết hợp với urê đến lên men, tiêu hóa dạ cỏ và lượng khí methane sản sinh trong điều kiện *in vitro*

Về tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD), các thông số về giá trị năng lượng trao đổi (ME), các axit béo mạch ngắn (SCFA) đều đạt giá trị lớn nhất ở mức bổ sung biochar 0,5% x urê 2% tương ứng lần lượt là 49,94%; 7,78 MJ/kgVCK và 0,71 mmol/200gVCK.

Về khả năng sinh khí methane, bổ sung biochar 5% x urê 2% đã có tác động làm giảm lượng khí methane nhiều nhất, thể tích khí methane giảm còn 9,4 ml với tỷ lệ giảm là 22,30% so với đối chứng (Bảng 7).

Xét về tổng thể, để đạt được cả hai mục tiêu là giảm lượng khí methane thải ra (17,31%) đồng thời vẫn duy trì tốt hiệu quả tiêu hóa thức ăn thì bổ sung ở mức biochar 1% x urê 2% là tốt nhất.

4. Kết luận

Bổ sung biochar (0,5%; 1%; 5%) kết hợp với urê 2% đã làm tăng sản lượng khí sinh ra, tiềm năng sinh khí ($P < 0,05$), có ảnh hưởng tốt tới hoạt động phân giải, lên men thức ăn trong dạ cỏ.

Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ, giá trị năng lượng trao đổi, các axit béo mạch ngắn ở các mẫu bổ sung biochar (0,5%; 1%; 5%) kết hợp với urê 2% đều cao hơn so với đối chứng ($P < 0,05$) và làm giảm đáng kể lượng khí methane sản sinh. Lượng khí methane giảm mạnh nhất khi bổ sung biochar ở mức 5% x urê 2% với tỷ lệ giảm là 22,30%.

Bổ sung biochar 1% x urê 2% là mức thích hợp nhất vừa duy trì tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ ở mức cao (49,61%) vừa giảm được lượng khí thải methane (17,31%).

Tài liệu tham khảo

[1] Khang D. N. and Wiktorsson H. (2006). Performance of growing heifers fed urea treated fresh rice straw supplemented with fresh, ensiled pertaining

to or emanating from ensilage or pelleted cassava foliage. *Livest. Sci. Vol 102*. pp. 130-139.

- [2] Leng R. A., Sangkhom I. and Preston T. R. (2012). Biochar lowers net methane production from rumen fluid in vitro. *Livestock Research for Rural Development. Vol 24 (6)*. Retrieved on 23 July 2015 at <http://www.lrrd.org/lrrd24/6/sang24103.htm>
- [3] Menke K. H. and Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev. Vol 28*. pp. 7-55.
- [4] Pen B. , Sar C., Mwenya B., Kuwaki K., Morikawa R. and Takahashi J. (2006). Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on in vitro ruminal fermentation and methane emission. *Animal Feed Science and Technology. Vol 129*. pp. 175–186.
- [5] Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M., C. de Haan (2006). *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*. Rome in Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italia.
- [6] Tiemann T.T, Lascano C.E., Wettstein H.R., Mayer A.C., Kreuzer M. and Hess H.D. (2008). "Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs", *Animal, 2 (5)*: 790–799.

EFFECTS OF BIOCHAR AT DIFFERENT LEVELS WITH UREA SUPPLEMENTATION *in vitro* ON RUMINAL DIGESTION AND METHANE PRODUCTION

Phan Thi Phuong Thanh, Do Thi Phuong Thao

Faculty of Agriculture, Forestry, Aquaculture, Hung Vuong University

ABSTRACTS

The objective of this study was to evaluate the effects of a combine of biochar at different levels with urea *in vitro* on ruminal digestion and methane production. The experiment was arranged randomly with four treatments included one control sample and 3 additional samples. Biochar at 3 levels (0,5%; 1%; 5% dry matter) in combination with urea (2%) with 3 repetitions were used. Additional biochar combination with urea had a significant impact on potential emissions from gas generation, gas generation rates as well as the ability to digest organic matter, short-chain fatty acids and metabolizable energy value of contract reduce the amount of methane emitted *in vitro*. As to digestibility of organic matter, metabolizable energy value, short-chain fatty acids differ between the biochar 5% from 0,5% and 1%, but no difference between the two levels of biochar 0,5% and 1%. Additional biochar 1% x 2% urea is the most appropriate level and it ensures the digestibility of organic matter (49,61%), help limiting the amount of methane caused environmental pollution (17,31%).

Keywords: *Biochar, urea, methane, rumen, in vitro*