

ẢNH HƯỞNG CÁC MỨC ĐỘ THỨC ĂN HỖN HỢP TRONG KHẨU PHẦN ĐẾN SẢN SINH KHÍ CH₄, CO₂ VÀ TỶ LỆ TIÊU HÓA CHẤT HỮU CƠ Ở *IN VITRO*

Lê Văn Phong và Nguyễn Văn Thu

Khoa Chăn nuôi, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ

Tác giả liên hệ: Lê Văn Phong. Điện thoại: 0368.660.535; Email: lvphong.ctu@gmail.com

TÓM TẮT

Thí nghiệm này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của các mức độ thức ăn hỗn hợp đến sự sinh khí CH₄ và CO₂ trong thí nghiệm *in vitro*. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Năm nghiệm thức đó là HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 tương ứng với tỷ lệ bổ sung mức 0, 10, 20, 30 và 40% thức ăn hỗn hợp vào chất nền là cỏ voi (tính trên DM). Dịch dạ cỏ được lấy trực tiếp từ bò được nuôi dưỡng bằng khẩu phần 100% cỏ voi. Lượng khí tổng số sinh ra được xác định ở các thời điểm 3, 6, 12, 18, 24 và 48 giờ. Nồng độ khí CH₄ và CO₂ được xác định tại các thời điểm 12, 24 và 48 sau khi ủ. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tổng lượng khí, CH₄ và CO₂ (ml) *in vitro* khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (P<0,05), các giá trị này tăng dần khi tăng mức thức ăn hỗn hợp từ 0 đến 40%. Lượng khí CH₄ (ml/g OM) từ 0 đến 48 giờ tỷ lệ thuận với mức thức ăn hỗn hợp được bổ sung vào khẩu phần từ 0 đến 40%. Giá trị vật chất khô tiêu hóa (DMD) và chất hữu cơ tiêu hóa (OMD) cũng tăng từ nghiệm thức HH0 đến HH40. Tăng OMD (%) thêm 1% thì sự sinh khí CH₄ (ml/gOM) ở 48 giờ tăng thêm 4,08; 1,57; 1,93 và 2,15% tương ứng cho các nghiệm thức bổ sung thức ăn hỗn hợp 10, 20, 30 và 40% tổng DM được lên men. Kết luận của thí nghiệm là lượng khí CH₄ và CO₂ (ml/g OM) tăng dần khi tăng mức độ bổ sung thức ăn hỗn hợp. Tương tự, tỷ lệ tiêu hóa DM và OM cũng tăng rõ rệt khi tăng lượng bổ sung thức ăn hỗn hợp vào khẩu phần. Mức thức ăn hỗn hợp bổ sung vào chất nền là cỏ voi tối ưu là 20% tính trên DM.

Từ khóa: thức ăn hỗn hợp, thức ăn thô, khí nhà kính, dịch dạ cỏ, sinh khí

ĐẶT VẤN ĐỀ

Quá trình sinh khí Mêtan (CH₄) đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiêu hóa của gia súc nhai lại (GSNL). Trong quá trình này, vi khuẩn sinh khí CH₄ (*Methanogenic archaea*) tạo ra khí CH₄ là sản phẩm phụ trong quá trình trao đổi chất của chúng. Tuy nhiên, việc phát sinh khí CH₄ ở GSNL cũng là một tác nhân góp phần đáng kể vào việc phát thải khí nhà kính. Theo Króliczewska và cs. (2023) khí CH₄ là một loại khí nhà kính mạnh có nguy cơ làm nóng lên toàn cầu gấp 28 lần so với khí CO₂. Ước tính khoảng 16% tổng lượng khí thải nhà kính do con người tạo ra từ hoạt động chăn nuôi GSNL (Tseten và cs., 2022). Vì vậy, giảm phát thải khí CH₄ từ GSNL là mục tiêu quan trọng để giảm tác động tiêu cực cho môi trường gây ra biến đổi khí hậu.

Cỏ là nguồn thức ăn quan trọng nhất cho GSNL. Cỏ có thể cung cấp năng lượng và chất dinh dưỡng để đáp ứng hơn 50% nhu cầu trong chăn nuôi GSNL (Fanchone và cs., 2013). Tuy nhiên, số lượng và chất lượng của cỏ bị biến động lớn theo mùa vì vậy phải cần bổ sung thức ăn hỗn hợp cho khẩu phần GSNL (Guyader và cs., 2016). Bổ sung thức ăn hỗn hợp là một chiến lược hiệu quả để tối ưu hóa hoạt động của vi sinh vật dạ cỏ thông qua việc cung cấp cân bằng carbohydrate và Nitơ (N), đặc biệt đối với khẩu phần có cỏ chất lượng thấp. Hơn nữa, bổ sung thức ăn hỗn hợp thường dẫn đến tăng lượng chất khô ăn vào (Blaxter và cs., 1961) và khả năng tiêu hóa chất dinh dưỡng (Eng và cs., 1964); giảm thất thoát N đặc biệt là bài tiết N qua nước tiểu (Hoekstra và cs., 2007; Zhao và cs., 2015) và phát thải khí CH₄ (Yan và cs., 2010; Seon-Ho Kim và cs., 2018; Al-Galbi và cs., 2022). Tuy nhiên, Nguyen Thi Kim Dong và Nguyen Van Thu (2018) khi nghiên cứu bổ sung

thức ăn hỗn hợp mức 20% trong tổng số DM thì làm tăng sự sinh khí CH₄ (ml, ml/gDM và ml/gDOM) ở *in vitro* ở 24, 48 và 72 giờ. Tương tự, việc tăng mức bổ sung thức ăn hỗn hợp vào khẩu phần từ 0 đến 100% tính trên DM chưa tìm thấy sự giảm sự sinh khí CH₄ ở *in vitro* (Samir Attia Nagadi, 2019). Trong khi đó, Chunmei Wang và cs. (2018) khi so sánh hai khẩu phần gồm 100% cỏ tươi và cỏ tươi+thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần nuôi bò và cừu thì sự phát thải khí CH₄ của hai khẩu phần này là tương tự nhau. Ngoài ra, Nguyễn Ngọc Đức An Như (2016) có kết luận là tại thời điểm 72 giờ lượng khí tổng số, CH₄ và CO₂ tăng lên khi tăng mức độ bổ sung các nguồn carbohydrate hòa tan từ 0 - 65,0% trên tổng số DM của hỗn hợp lên men. Vì vậy, kết quả nghiên cứu bổ sung thức ăn hỗn hợp đến sự sinh khí CH₄ ở gia súc nhai lại là chưa rõ ràng và đồng nhất để làm cơ sở cho việc phối hợp khẩu phần. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá mức độ ảnh hưởng của thức ăn hỗn hợp lên sự thải khí CH₄, CO₂ và tỷ lệ tiêu hóa dưỡng chất ở *in vitro* từ đó xác định mức thức ăn hỗn hợp tối ưu trong khẩu phần. Các kết quả đạt được sẽ là cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng của thức ăn hỗn hợp tiếp theo.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Thức ăn hỗn hợp có protein thô là 18,0% và được phối trộn theo công thức lúa mì 27,8%, cám 27,2%, bánh dầu dừa 29,0%, đậu nành ly trích 11,0%, muối ăn 1,0%, dicalcium phosphate 1,0%, urê 2,0% và premix khoáng - vitamin 1,0%.

Địa điểm và thời gian thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm E205 thuộc Khoa Chăn nuôi, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ từ tháng 12 năm 2020 đến tháng 02 năm 2021.

Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Năm nghiệm thức là HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 tương ứng với tỷ lệ bổ sung thức ăn hỗn hợp ở mức 0, 10, 20, 30 và 40% vào chất nền cỏ voi (tính trên DM). Thức ăn hỗn hợp được phối trộn theo công thức (tính trên DM): lúa mì 27,8%, cám 27,2%, bánh dầu dừa 29,0%, đậu nành ly trích 11,0%, muối ăn 1,0%, dicalcium phosphate 1,0%, urê 2,0% và premix khoáng - vitamin 1,0%. Công thức và thành phần dưỡng chất của các nghiệm thức thí nghiệm được trình bày trong Bảng 1.

Cách tiến hành

Kỹ thuật sinh khí ở *in vitro* được thực hiện theo quy trình mô tả của Menke và Steingass (1988). Dịch dạ cỏ được lấy trực tiếp từ bò được nuôi dưỡng bằng khẩu phần 100% cỏ voi. Sử dụng hệ thống ống xy lạnh thủy tinh 50 ml/ống. Cân khoảng 200 mgDM mẫu cho vào ống xy lạnh. Hút 20 ml dung dịch đệm (medium) và 10 ml dịch dạ cỏ cho vào xy lạnh đã có mẫu và được bơm khí CO₂ vào. Sau đó, các ống xy lạnh này được ủ trong Water bath ở nhiệt độ 39°C trong thời gian 48 giờ.

Bảng 1. Công thức và thành phần dưỡng chất của các nghiệm thức trong thí nghiệm

Các chỉ tiêu	Nghiệm thức				
	HH0	HH10	HH20	HH30	HH40
<i>Công thức của khẩu phần thí nghiệm (%DM)</i>					
Cỏ voi	100	90	80	70	60
Thức ăn hỗn hợp	0	10	20	30	40
<i>Thành phần dưỡng chất (%DM)</i>					
DM, %	92,5	92,2	91,9	91,7	91,4
OM	92,1	91,8	91,5	91,2	90,9
CP	10,2	11,4	12,6	13,8	15,0
EE	2,68	3,14	3,60	4,05	4,51
NDF	66,0	61,8	57,7	53,5	49,4
ADF	41,9	39,4	36,9	34,4	31,9
Ash	7,87	8,18	8,49	8,80	9,11

Ghi chú: DM: Vật chất khô, OM: vật chất hữu cơ, CP: protein thô, EE: Béo thô, NDF: Xơ trung tính, ADF: Xơ axit, Ash: Khoáng tổng số; HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần ở các mức độ 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo vật chất khô.

Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp thu thập số liệu

Thành phần hóa học của các thực liệu dùng trong thí nghiệm: Vật chất khô (DM), chất hữu cơ (OM), đạm thô (CP), khoáng tổng số (Ash) và béo thô (EE) được phân tích theo phương pháp của AOAC (1990). Xơ trung tính (NDF) và xơ axit (ADF) phân tích theo phương pháp Van Soest và cs. (1991).

Lượng khí sinh ra ở các thời điểm 3, 6, 12, 18, 24, 36 và 48 giờ: Ghi nhận kết quả khí sinh ra tại các thời điểm này.

Nồng độ khí CH₄ và khí CO₂ qua các thời điểm 12, 24 và 48 giờ: Đo nồng độ khí thải bằng máy đo khí Geotechnical Instruments (UK) Ltd, England.

Lượng khí CH₄ và CO₂ sinh ra (ml) theo thời điểm 12, 24 và 48 giờ: Tính lượng thể tích khí CH₄ và CO₂ được sinh ra bằng các công thức công thức như sau:

$$\text{CH}_4 \text{ (ml)} = \% \text{CH}_4 \times \text{lượng khí tổng số sinh ra (ml)};$$

$$\text{CO}_2 \text{ (ml)} = \% \text{CO}_2 \times \text{lượng khí tổng số sinh ra (ml)}.$$

Xác định tỷ lệ tiêu hóa dưỡng chất (DMD và OMD) qua các thời điểm 12, 24 và 48 giờ: Tiến hành lọc chất chứa còn lại trong xy lạnh sau đó chất chứa được sấy ở nhiệt độ 105°C trong 12 giờ. Sau khi sấy, chất chứa được cân để xác định khối lượng mẫu sau sấy (KL1). Tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô và chất hữu cơ dựa theo các công thức:

$$\text{DMD}\% = 100 - [\text{KL1}/(\text{KLm} \times \% \text{DM})] \times 100;$$

$$\text{OMD} (\%) = 100 - [(\text{KL1} \times (\text{KL2} - \text{KL3}) / \text{KL2}) / (\text{KLm} \times \% \text{DM} \times \% \text{OM})] \times 100.$$

(KL2: Trọng lượng vật chất khô trước khi nung; KL3: Trọng lượng mẫu sau nung; KLm: trọng lượng mẫu cân ban đầu).

Xử lý thống kê

Số liệu thô được tính sơ bộ bằng bảng tính Microsoft Excel 2016. Sau đó được xử lý thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) theo mô hình tuyến tính tổng quát (General Linear Model) dựa vào mô hình thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên trên phần mềm Minitab 18.1 (Minitab, 2017). Khi có sự khác biệt giữa các nghiệm thức sẽ dùng phép thử Tukey để tìm sự khác biệt từng cặp nghiệm thức với $\alpha = 0,05$. Phương trình thống kê cho mô hình này là $Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$.

Trong đó: Y_{ij} : giá trị quan sát thứ j của nghiệm thức i; μ : trung bình chung; t_i : ảnh hưởng mức độ thức ăn hỗn hợp; e_{ij} : ảnh hưởng sai số thí nghiệm.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần hóa học của các thực liệu trong thí nghiệm

Bảng 2. Thành phần hóa học của thức ăn dùng trong thí nghiệm

Thực liệu	DM* %	%DM					
		OM	CP	EE	NDF	ADF	Ash
Cỏ voi	92,5	92,1	10,2	2,68	66,0	41,9	7,87
Lúa mì	89,4	98,2	10,9	1,38	6,32	3,42	1,79
Cám	88,3	90,4	12,8	12,9	20,5	11,3	9,60
Bánh dầu dừa	91,3	91,9	18,3	10,8	53,2	40,7	8,11
Đậu nành ly trích	87,8	92,6	42,2	2,15	15,3	10,2	7,42
Thức ăn hỗn hợp	89,8	89,0	22,2	7,26	24,4	17,0	11,0

Ghi chú: DM: Vật chất khô, OM: vật chất hữu cơ, CP: protein thô, EE: Béo thô, NDF: Xơ trung tính, ADF: Xơ axit, Ash: Khoáng tổng số. *Trạng thái mẫu khi tiến hành thí nghiệm in vitro.

Qua Bảng 2 cho thấy cỏ voi có hàm lượng vật chất khô là 92,5% cao nhất so với các thực liệu khác dùng trong thí nghiệm. Hàm lượng CP của cỏ voi thấp nhất đạt 10,2%. Tuy nhiên, hàm lượng NDF và ADF của cỏ voi lần lượt là 66,0 và 41,7% cao nhất trong tất cả các loại thực liệu. Theo Pazla và cs. (2021) báo cáo rằng hàm lượng CP, NDF và ADF của cỏ voi lần lượt là 10,88; 66,57 và 41,71%. Mặt khác, đậu nành ly trích có hàm lượng vật chất khô là 87,8% và hàm lượng CP cao nhất 42,2%. Cám có hàm lượng CP và EE lần lượt là 12,8 và 12,9%. Hàm lượng CP của cám trong nghiên cứu này gần bằng với kết quả nghiên cứu của Dinh Van Dung (2014) là 12,0%. Lúa mì và bánh dầu dừa có hàm lượng CP lần lượt là 10,9 và 18,3%.

Qua phân tích ở Bảng 2 cho thấy cỏ voi được sử dụng làm chất nền có hàm lượng NDF là cao nhất là nguồn cung cấp chất xơ cho khẩu phần. Thức ăn hỗn hợp là nguồn bổ sung thêm protein và năng lượng cho khẩu phần thí nghiệm.

Thể tích khí sinh ra qua các thời điểm

Tổng lượng khí sinh ra (ml) qua các thời điểm được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Tổng lượng khí sinh ra (ml) 3 - 48 giờ ở các nghiệm thức

Thời điểm (giờ)	Nghiệm thức					SE	P
	HH0	HH10	HH20	HH30	HH40		
3	3,23 ^b	5,50 ^a	5,83 ^a	6,07 ^a	6,37 ^a	0,192	0,001
6	7,57 ^b	10,2 ^a	10,7 ^a	11,2 ^a	11,5 ^a	0,350	0,001
12	16,6 ^b	21,3 ^a	22,2 ^a	22,8 ^a	23,7 ^a	0,678	0,001
18	23,7 ^c	28,2 ^b	29,2 ^{ab}	29,5 ^{ab}	31,1 ^a	0,535	0,001
24	29,3 ^c	34,2 ^b	35,3 ^{ab}	36,1 ^{ab}	37,3 ^a	0,629	0,001
36	35,7 ^b	41,8 ^a	42,1 ^a	42,5 ^a	43,3 ^a	0,457	0,001
48	41,8 ^c	47,2 ^b	48,8 ^{ab}	49,9 ^{ab}	51,6 ^a	0,609	0,001

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ cái a, b, c khác nhau trên cùng một hàng là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần ở các mức độ 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo vật chất khô.

Bảng 3 trình bày tổng lượng khí (ml) ở các nghiệm thức tăng dần từ 3 đến 48 giờ. Lượng khí sinh ra chậm trong khoảng thời gian đầu (3 - 12 giờ), từ 12 - 48 giờ sinh khí diễn ra nhanh hơn. Thời điểm 3 - 9 giờ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) về lượng khí sinh ra giữa các nghiệm thức có bổ sung với nghiệm thức không bổ sung thức ăn hỗn hợp. Tuy nhiên, không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về lượng khí sinh ra giữa các nghiệm thức có bổ sung thức ăn hỗn hợp. Ở thời điểm 48 giờ, tổng lượng khí sinh ra ở nghiệm thức có bổ sung lớn hơn nghiệm thức không có bổ sung thức ăn hỗn hợp ($P < 0,05$), lượng khí sinh ra thấp nhất ở nghiệm thức HH0 (41,8 ml) kể đến là nghiệm thức HH10 (47,2 ml) và lớn nhất ở nghiệm thức HH40 (51,6%). Bổ sung thức ăn hỗn hợp đã làm tăng lượng khí tổng số sinh ra. Kết quả này cho thấy thức ăn hỗn hợp có ảnh hưởng tốt đến hoạt động lên men phân giải thức ăn. Điều này được giải thích là tăng tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần đã làm tăng năng lượng cung cấp cho quần thể vi sinh vật dạ cỏ nên hoạt động phân giải thức ăn diễn ra tốt hơn. Mặt khác, tăng tỷ lệ thức ăn hỗn hợp làm giảm hàm lượng NDF của khẩu phần nên làm tăng lượng khí sinh ra (Zicarelli và cs., 2011; Soltan và cs., 2012). Kết quả nghiên cứu của Dinh Van Dung và cs. (2014); Seon-Ho Kim và cs. (2018); Al-Galbi và cs. (2022) cũng cho kết quả tương tự tăng tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần sẽ làm tăng quá trình lên men và sản sinh lượng khí ở *in vitro*. Phạm Thị Phương Thanh và Đỗ Thị Phương Thảo (2019) kết luận rằng thức ăn cho sinh khí tốt ở điều kiện *in vitro* thì sẽ có khả năng lên men và phân giải thức ăn tốt ở thí nghiệm *in vivo*.

Tóm lại, tăng tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần đã làm tăng lượng khí tổng số sinh ra ở tất cả các thời điểm. Nghiệm thức HH40 có lượng khí tổng số cao hơn ($P < 0,05$) nghiệm thức HH0 và HH10. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lượng khí sinh ra ở nghiệm thức HH40 so với nghiệm thức HH20 và HH30 ở thời điểm 48 giờ.

Lượng khí thải CH₄ và CO₂

Kết quả về lượng khí CH₄ và CO₂ sinh ra theo thời gian được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4. CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra ở các nghiệm thức ở 12, 24 và 48 giờ ủ

	Thời điểm (giờ)	Nghiệm thức					SE	P
		HH0	HH10	HH20	HH30	HH40		
CH ₄	12	2,59 ^b	3,41 ^a	3,6 ^a	3,72 ^a	4,00 ^a	0,134	0,001
	24	4,43 ^c	5,53 ^b	5,77 ^{ab}	5,99 ^{ab}	6,35 ^a	0,147	0,001
	48	6,84 ^d	7,96 ^c	8,32 ^{bc}	8,89 ^{ab}	9,30 ^a	0,144	0,001
CO ₂	12	10,3 ^b	13,6 ^a	14,3 ^a	14,4 ^a	15,2 ^a	0,533	0,003
	24	18,0 ^c	21,3 ^b	22,1 ^{ab}	23,2 ^{ab}	24,0 ^a	0,470	0,001
	48	25,2 ^c	29,4 ^b	30,6 ^{ab}	31,4 ^{ab}	32,7 ^a	0,566	0,001

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ cái ^{a, b, c, d} khác nhau trên cùng một hàng là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo DM.

Lượng khí CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra ở các nghiệm thức qua các thời điểm 12, 24 và 48 giờ có xu hướng giống với xu hướng tổng lượng khí sinh ra (ml). Thời điểm 12 giờ ủ lượng khí CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra ở các nghiệm thức có bổ sung cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung thức ăn hỗn hợp ($P < 0,05$). Tuy nhiên, các giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức bổ sung thức ăn hỗn hợp. Ở thời điểm 24 và 48 giờ lượng khí CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra nhiều nhất là ở nghiệm thức HH40. Lượng khí CH₄ và CO₂ (ml) có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức có bổ sung so với nghiệm thức không bổ sung thức ăn hỗn hợp, nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức HH10, HH20 và HH30. Bổ sung thức ăn hỗn hợp ở mức 40% thì khí CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra ở cả hai thời điểm 24 và 48 giờ cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với mức thức ăn hỗn hợp 10%. Tuy nhiên ở mức 20 và 30% thức ăn hỗn hợp thì các giá trị này khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mức 40%. Bổ sung thức ăn hỗn hợp vào chất nền là cỏ voi làm tăng lượng khí nhà kính CH₄ CO₂ so với khẩu phần không bổ sung thức ăn hỗn hợp. Xu hướng này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyen Thi Kim Dong và Nguyen Van Thu (2018) báo cáo rằng tăng lượng khí thải CH₄ và CO₂ khi tăng 20% thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần ở *in vitro*. Ngoài ra, khi bổ sung các nguồn thức ăn carbohydrate hòa tan sẽ làm tăng lượng khí CH₄ và CO₂ sản sinh ra (ml) ở *in vitro* (Nguyễn Văn Thu và cs., 2015; Nguyễn Ngọc Đức An Như, 2016).

Tỷ lệ tiêu hóa DM, OM, lượng khí CH₄ và CO₂(ml/gOM và ml/gDOM) ở 12 giờ

Bảng 5. Tỷ lệ tiêu hóa DM và OM, khí nhà kính (ml/gOM và ml/gDOM) ở 12 giờ

Chỉ tiêu	Nghiệm thức					SE	P
	HH0	HH10	HH20	HH30	HH40		
OMD, %	47,4 ^c	49,8 ^c	55,0 ^b	56,2 ^{ab}	58,8 ^a	0,808	0,001
DMD, %	43,1 ^c	51,3 ^b	56,3 ^a	58,2 ^a	59,1 ^a	0,839	0,001
Tổng lượng khí, ml/gOM	90,0 ^b	116 ^a	120 ^a	123 ^a	128 ^a	3,72	0,001
CH ₄ , ml/gOM	14,0 ^b	18,6 ^a	19,6 ^a	20,1 ^a	21,6 ^a	0,734	0,001
CO ₂ , ml/gOM	55,9 ^b	74,4 ^a	77,3 ^a	77,6 ^a	82,3 ^a	2,92	0,001
Tổng lượng khí, ml/gDOM	190 ^b	232 ^a	219 ^{ab}	220 ^{ab}	218 ^{ab}	7,87	0,035
CH ₄ , ml/gDOM	29,6 ^b	37,4 ^a	35,5 ^{ab}	35,9 ^{ab}	36,9 ^a	1,54	0,032
CO ₂ , ml/gDOM	118 ^b	149 ^a	141 ^{ab}	138 ^{ab}	140 ^{ab}	6,12	0,049

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ cái ^{a, b} khác nhau trên cùng một hàng là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong ở các mức độ 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo vật chất khô; DMD: tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô; OMD tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ.

Bảng 5 cho thấy thời điểm 12 giờ tỷ lệ tiêu hóa hóa DM và OM tăng dần và tỷ lệ thuận với lượng bổ sung thức ăn hỗn hợp ($P < 0,05$). Tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở các nghiệm thức bổ sung cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức không bổ sung thức ăn hỗn hợp. Xu hướng này cũng giống với xu hướng của lượng khí tổng số, CH_4 và CO_2 (ml/gOM) sinh ra. Lượng khí CH_4 (ml/gDOM) ở nghiệm thức HH10 và HH40 cao hơn hẳn ($P < 0,05$) so với nghiệm thức HH0, nhưng ở mức thức ăn hỗn hợp 20 và 30% thì giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức HH0. Lượng khí CO_2 ở nghiệm thức HH10 là 149 ml/gDOM cao hơn ($P < 0,05$) nghiệm thức HH0 (118 ml/gDOM), tuy nhiên giá trị này giữa các nghiệm thức HH0, HH20, HH30 và HH40 thì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Tỷ lệ tiêu hóa DM, OM, lượng khí CH_4 và CO_2 (ml/gOM và ml/gDOM) ở 24 giờ

Bảng 6. Tỷ lệ tiêu hóa DM và OM, khí nhà kính (ml/gOM và ml/gDOM) ở 24 giờ

Chỉ tiêu	Nghiệm thức					SE	P
	HH0	HH10	HH20	HH30	HH40		
OMD, %	52,4 ^b	56,0 ^b	61,8 ^a	62,5 ^a	63,9 ^a	0,888	0,001
DMD, %	53,2 ^c	57,9 ^b	60,8 ^{ab}	62,1 ^a	63,8 ^a	0,833	0,001
Tổng lượng khí, ml/gOM	159 ^b	187 ^a	191 ^a	196 ^a	202 ^a	3,45	0,001
CH_4 , ml/gOM	24,1 ^c	30,2 ^b	31,3 ^{ab}	32,4 ^{ab}	34,4 ^a	0,801	0,001
CO_2 , ml/gOM	97,8 ^c	116 ^b	120 ^{ab}	125 ^{ab}	130 ^a	2,59	0,001
Tổng lượng khí, ml/gDOM	304	334	310	313	316	6,83	0,085
CH_4 , ml/gDOM	45,9 ^b	53,9 ^a	50,7 ^{ab}	51,9 ^{ab}	53,7 ^a	1,28	0,008
CO_2 , ml/gDOM	187	208	194	199	203	4,72	0,077

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ cái ^{a, b, c} khác nhau trên cùng một hàng là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo DM; DMD: tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô; OMD tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ.

Nhìn chung kết quả Bảng 6 cho thấy tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở 24 giờ có xu hướng như ở thời điểm 12 giờ. Tỷ lệ tiêu hóa OM ở các mức thức ăn hỗn hợp 20-40% cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức HH0, ở hai nghiệm thức HH0 và HH10 thì giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Theo Kumar và cs. (2013) tỷ lệ tiêu hóa OM *in vitro* ở 24 giờ tăng khi khẩu phần giảm tỷ lệ thức ăn thô. Samir Attia Nagadi (2019) nghiên cứu tăng dần các mức bổ sung thức ăn hỗn hợp từ 0-100% tổng số DM thì cho kết quả tăng dần tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở 24 giờ. Tương tự, Al-Galbi và cs. (2022) báo cáo rằng tăng tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở 24 giờ khi khẩu phần được tăng thức ăn hỗn hợp từ 20-80% tổng số DM so với khẩu phần 100% là cỏ khô Alfalfa. Nghiên cứu của Reddy và cs. (2016) cho kết quả là tỷ lệ tiêu hóa OM *in vitro* tăng tuyến tính khi tăng tỷ lệ thức ăn hỗn hợp trong khẩu phần. Các tác giả cho rằng sự gia tăng như vậy là do lượng cellulose và lignin giảm dần trong khẩu phần tăng thức ăn hỗn hợp mà cellulose và lignin đóng vai trò là yếu tố hạn chế làm giảm khả năng tiêu hóa (Al-Masri, 2009 và Kumari và cs., 2012).

Lượng khí tổng số, CH_4 và CO_2 (ml/gOM) ở 24 giờ có xu hướng như ở thời điểm 12 giờ. Tăng lượng khí tổng số, CH_4 và CO_2 sinh ra và đồng thời cũng tăng giá trị tiêu hóa OM ở *in*

in vitro khi khẩu phần tăng mức bổ sung thức ăn hỗn hợp. Do đó khi tính về tổng lượng khí sinh ra và CO₂ (ml) trên lượng OM tiêu hóa được thì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P>0,05) giữa các nghiệm thức bổ sung và không bổ sung thức ăn hỗn hợp. Về khả năng sinh khí CH₄ (ml/gDOM) bổ sung 10 và 40% thức ăn hỗn hợp đã có tác động làm tăng sinh khí CH₄ hơn so với nghiệm thức không bổ sung thức ăn hỗn hợp (P<0,05). Tuy nhiên, ở mức bổ sung 20 và 30% thì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị này so với nghiệm thức HH0.

Tóm lại, tỷ lệ tiêu hóa *in vitro* DM và OM ở 24 giờ tăng khi tăng mức độ bổ sung thức ăn hỗn hợp. Lượng khí CH₄ (ml/gDOM) sinh ra cao nhất là ở nghiệm thức HH40, giữa các mức bổ sung thức ăn hỗn hợp 20 và 30% thì không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức HH0. Nghiệm thức HH20 cho kết quả tốt về sự cải thiện sự tiêu hóa DM và OM đồng thời sự sinh khí CH₄ và CO₂ (ml/gDOM) là tối ưu nhất so với các nghiệm thức được bổ sung thức ăn hỗn hợp ở thời điểm 24 giờ.

Tỷ lệ tiêu hóa DM, OM, lượng khí CH₄ và CO₂ (ml/gOM và ml/gDOM) ở 48 giờ

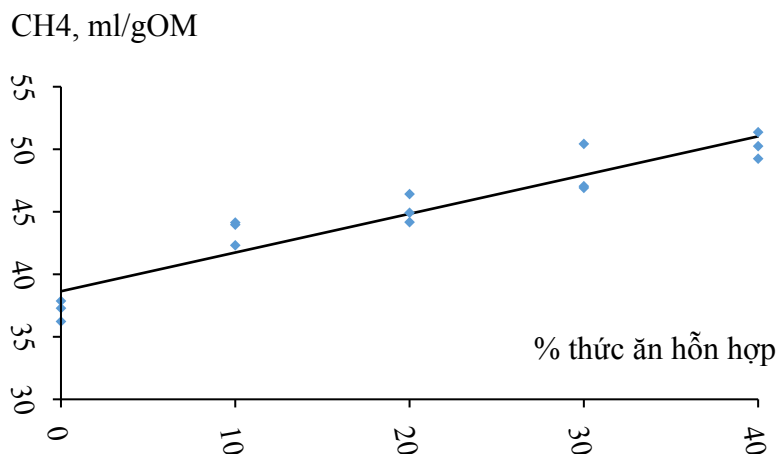
Bảng 7. Tỷ lệ tiêu hóa DM và OM, khí nhà kính (ml/gOM và ml/gDOM) ở 48 giờ

Chỉ tiêu	Nghiệm thức					SE	P
	HH0	HH10	HH20	HH30	HH40		
OMD, %	59,1 ^b	61,6 ^b	67,3 ^a	68,2 ^a	68,9 ^a	0,630	0,001
DMD, %	59,4 ^c	62,7 ^{bc}	65,6 ^{ab}	66,2 ^{ab}	67,7 ^a	0,981	0,001
Tổng lượng khí, ml/gOM	225 ^c	257 ^b	265 ^{ab}	270 ^{ab}	279 ^a	3,30	0,001
CH ₄ , ml/gOM	37,1 ^d	43,5 ^c	45,2 ^{bc}	48,1 ^{ab}	50,3 ^a	0,735	0,001
CO ₂ , ml/gOM	137 ^c	161 ^b	166 ^{ab}	170 ^{ab}	177 ^a	3,04	0,001
Tổng lượng khí, ml/gDOM	380 ^b	418 ^a	394 ^{ab}	396 ^{ab}	405 ^{ab}	5,53	0,007
CH ₄ , ml/gDOM	62,8 ^c	70,6 ^{ab}	67,1 ^{bc}	70,5 ^{ab}	73,0 ^a	1,22	0,001
CO ₂ , ml/gDOM	232 ^b	261 ^a	247 ^{ab}	249 ^{ab}	257 ^a	4,63	0,010

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau trên cùng một hàng là khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05); HH0, HH10, HH20, HH30 và HH40 lần lượt là tỷ lệ thức ăn hỗn hợp 0, 10, 20, 30 và 40% tính theo DM; DMD: tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô; OMD tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ.

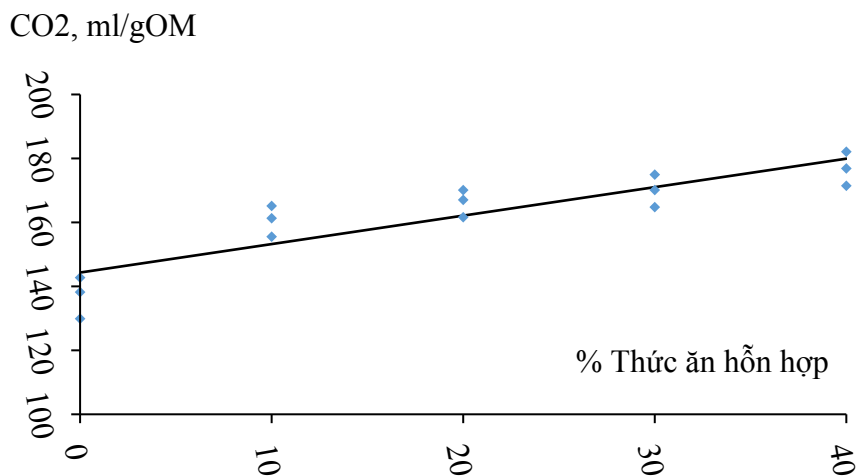
Kết quả ở Bảng 7 cho thấy tỷ lệ tiêu hóa DM và OM có xu hướng tăng dần khi tăng lượng thức ăn hỗn hợp trong hỗn hợp lên men. Tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở các nghiệm thức được bổ sung từ 20 đến 40% thức ăn hỗn hợp cao hơn có ý nghĩa thống kê (P<0,05) so với nghiệm thức không được bổ sung thức ăn hỗn hợp, giữa hai nghiệm thức HH0 và HH10 thì các giá trị này sai khác không có ý nghĩa thống kê. Theo Dinh Van Dung và cs. (2014) khẩu phần bổ sung 20 - 80% thức ăn hỗn hợp thì tỷ lệ tiêu hóa *in vitro* của DM tăng từ 60,3 lên 77,8% và OM tăng từ 60,7 lên 78,1% ở 48 giờ. Ngoài ra khả năng tiêu hóa *in vitro* DM và OM tăng khi thức ăn hỗn hợp tăng lên điều này cũng phù hợp với kết quả từ Kumar và cs. (2013). Mức độ thức ăn hỗn hợp cao hơn trong khẩu phần góp phần tạo ra mức chất nền hòa tan cao hơn có thể là lý do để cải thiện khả năng tiêu hóa DM và OM. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ tiêu hóa DM và OM có xu hướng đạt mức cao nhất ở mức 40% thức ăn hỗn hợp trong tổng số DM. Điều này cho thấy rằng, việc tăng lượng thức ăn hỗn hợp lên đến 40% tổng lượng DM lên men đã cải thiện khả năng tiêu hóa chất dinh dưỡng.

Lượng khí CH₄ (ml/g OM) sinh ra ở 48 giờ liên hệ chặt chẽ với lượng thức ăn hỗn hợp (% DM) có phương trình hồi quy $y = -0,310x + 38,6$ với hệ số xác định hồi quy $R^2 = 0,894$ (Hình 1).



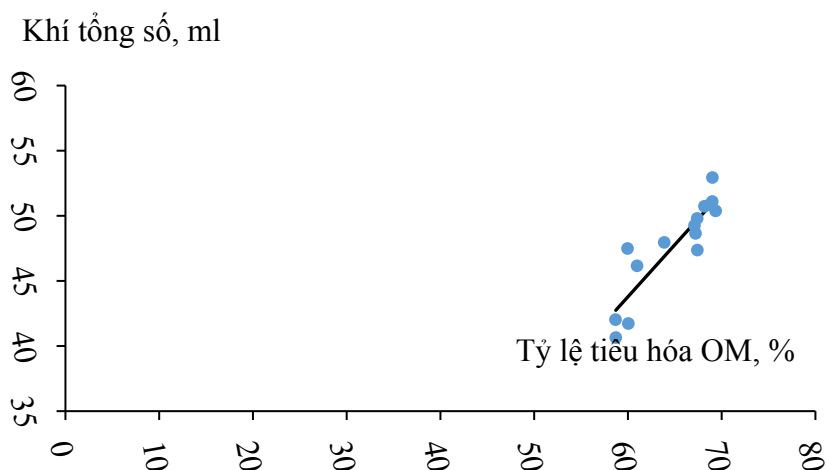
Hình 1. Mối liên hệ giữa mức độ thức ăn hỗn hợp và lượng khí CH₄ (ml/gOM) ở 48 giờ

Lượng khí CO₂ (ml/g OM) sinh ra ở 48 giờ liên hệ chặt chẽ với lượng thức ăn hỗn hợp (% DM) có phương trình hồi quy $y = 0,890x + 144$ với hệ số xác định hồi quy $R^2 = 0,775$ (Hình 2).

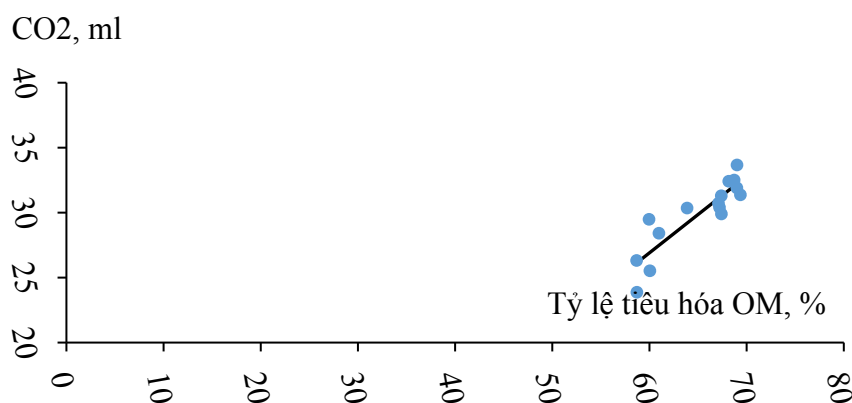


Hình 2. Mối liên hệ giữa mức độ thức ăn hỗn hợp và lượng khí CO₂ (ml/gOM) ở 48 giờ

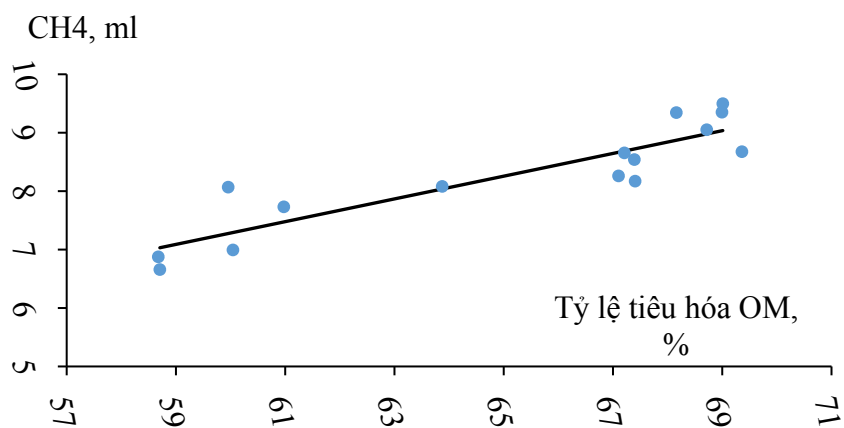
Lượng khí CH₄ (ml/gDOM) sinh ra ở các nghiệm thức HH10, HH30 và HH40 đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức HH0. Tuy nhiên, giữa nghiệm thức HH0 và HH20 thì giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Lượng khí CO₂ (ml/gDOM) sinh ra ở các nghiệm thức HH10 và HH40 cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức HH0, giữa các nghiệm thức HH20 và HH40 thì giá trị này khác biệt nhau không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức HH0.



Hình 3. Mối liên hệ giữa khí tổng số (ml) sinh ra và tỷ lệ tiêu hóa OM (%) ở 48 giờ



Hình 4. Mối liên hệ giữa khí CO₂ (ml) sinh ra và tỷ lệ tiêu hóa OM (%) ở 48 giờ



Hình 5. Mối liên hệ giữa khí CH₄ (ml) sinh ra và tỷ lệ tiêu hóa OM (%) ở 48 giờ

Tỷ lệ tiêu hóa OM tăng và đồng thời tăng lượng khí tổng số, CH₄ và CO₂ (ml) sinh ra ở 48 giờ khi tăng mức độ thức ăn hỗn hợp trong hỗn hợp lên men. Hình 3, 4 và 5 cho thấy mối quan hệ tương quan tuyến tính ($P < 0,001$) giữa tỷ lệ tiêu hóa OM với lượng khí tổng số, CO₂

và CH₄ (ml) sinh ra. Các nghiên cứu của Kumar và cs. (2013) và Dinh Van Dung và cs. (2014) cho thấy tỷ lệ tiêu hóa OM tăng đồng thời lượng khí tổng số (ml) cũng tăng khi khẩu phần tăng mức bổ sung thức ăn hỗn hợp. Ngoài ra, theo Li và cs. (2019) kết luận rằng tăng mức độ thức ăn thô trong khẩu phần thì lượng khí CH₄ (mmol/g chất lên men) sinh ra giảm với hệ số tương quan Pearson là -0,772 và P<0,05.

Tóm lại, tăng thức ăn hỗn hợp trong hỗn hợp lên men sẽ làm tăng lượng khí CH₄ và CO₂ (ml/gOM) đồng thời cải thiện tỷ lệ tiêu hóa DM và OM ở 48 giờ. Tăng tỷ lệ tiêu hóa OM thêm 1% thì sự sinh khí CH₄ (ml/gOM) tăng thêm 4,08; 1,57; 1,93 và 2,15% tương ứng cho các nghiệm thức bổ sung thức ăn hỗn hợp 10, 20, 30 và 40% tổng DM khẩu phần lên men. Xét về tổng thể, bổ sung thức ăn hỗn hợp vào hỗn hợp lên men để đạt được sự cải thiện tiêu hóa OM tốt và duy trì sự sinh khí CH₄ (ml/gOM) thấp nhất thì mức bổ sung 20% thức ăn hỗn hợp sẽ tối ưu nhất.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Thí nghiệm bổ sung thức ăn hỗn hợp từ 0 đến 40% trên tổng số DM của hỗn hợp lên men cho phép kết luận và đề nghị như sau:

Kết luận

Lượng khí CH₄, CO₂ (ml/g OM), tỷ lệ tiêu hóa DM và OM tăng dần khi tăng mức độ bổ sung thức ăn hỗn hợp. Mức bổ sung thức ăn hỗn hợp cho kết quả về tiêu hóa dưỡng chất và sinh khí CH₄ ở *in vitro* tối ưu nhất là ở mức 20% tổng DM.

Đề nghị

Thực hiện thí nghiệm *in vivo* để đánh giá sự sinh khí thải nhà kính, khả năng tiêu hóa, tăng khối lượng ở gia súc nhai lại với khẩu phần có bổ sung thức ăn hỗn hợp ở mức 20% tính trên vật chất khô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

Nguyễn Ngọc Đức An Như. 2016. Ảnh hưởng của carbohydrat hòa tan và đậm thô đến sự sinh khí mê tan và khí cacbonic ở *in vitro* với chất nền là cỏ lông tây. Luận văn thạc sĩ Ngành Chăn nuôi. Trường Đại học Cần Thơ, TP. Cần Thơ, Việt Nam.

Phan Thị Phương Thanh và Đỗ Thị Phương Thảo. 2019. 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*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Hùng Vương. Tập 14, số 1: 27-32.

Tiếng nước ngoài

Al-Galbi, H. A. J. and Majeed, M. S. 2022. Effect of concentrate: roughage ratio and the addition of Kefir on the production characteristics of ruminant *in vitro*. Archives of Razi Institute, Vol. 77, No. 1: 323-333. DOI: 10.22092/ARI.2021.356952.1943.

Al-Masri, M. R. 2009. An *in vitro* nutritive evaluation and rumen fermentation kinetics of Sesbania Aculeate as affected by harvest time and cutting regimen. Trop. Anim. Health Prod., 41: 1115-1126.

AOAC. 1990. Official methods of analysis (15th edition), Washington, DC, Volume 1, pp. 69-90.

Blaxter, K.L., Wainman, F.W. and Wilson, R.S. 1961. The regulation of food intake by sheep. Anim. Prod. 3:651-661. DOI:10.1017/S0003356100033766.

- Chunmei Wang, Yiguang Zhao, Aurélie Aubry, Gareth Arnott, Fujiang Hou and Tianhai Yan. 2019. Effects of concentrate input on nutrient utilization and methane emissions of two breeds of ewe lambs fed fresh ryegrass. *Transl. Anim. Sci.* 3:485–492. DOI: 10.1093/tas/txy106.
- Dinh Van Dung, Weiwei Shang, and Wen Yao. 2014. Effect of crude protein levels in concentrate and concentrate levels in diet on *in vitro* fermentation. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* Vol. 27, No. 6 : 797-805. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13560>.
- Dinh Van Dung. 2014. *In vitro* fermentation characteristics of rice bran, maize, and cassava powder incubated with rumen fluid. *Hue University Journal of Agriculture and Rural Development*, Vol 98, No. 10, 1-9.
- Eng, K.S., Riewe, M.E., Craig, J.H. and Smith, J.C. 1964. Rate of passage of concentrate and roughage through the digestive tract of sheep. *J. Anim. Sci.* 23:1129–1132. DOI:10.2527/jas1964.2341129x.
- Fanchone A., Nozière, P., Portelli, J., Duriot, B., Largeau, V. and Doreau, M. 2013. Effects of nitrogen underfeeding and energy source on nitrogen ruminal metabolism, digestion, and nitrogen partitioning in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 91:895–906. DOI:10.2527/jas.2012-5296.
- Guyader, J., Janzen, H.H., Kroebel, R. and Beauchemin, K.A. 2016. Production, management, and environment symposium: forage use to improve environmental sustainability of ruminant production. *J. Anim. Sci.* 94:3147–3158. DOI:10.2527/jas2015-0141.
- Hoekstra, N.J., Schulte, R.P. O., Struik, P.C. and Lantinga, E.A. 2007. Pathways to improving the N efficiency of grazing bovines. *Eur. J. Agron.* 26:363–374. DOI:10.1016/j.eja.2006.12.002.
- Króliczewska, B., Pecka-Kielb, E. and Bujok, J. 2023. Strategies used to reduce Methane emissions from ruminants: controversies and issues. *Agriculture*, 13, 602. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030602>.
- Kumar, S., Dagar, S.S., Siroh, S. K., Upadhyay, R. C and Puniya, A. K. 2013. Microbial profiles, *in vitro* gas production and dry matter digestibility based on various ratios of roughage to concentrate. *Ann Microbiol* Vol 63:541–545. DOI 10.1007/s13213-012-0501-0.
- Kumari, N., Ramana, Y. R., Blummel, M. and Monika, T. 2012. Optimization of roughage to concentrate ratio in sweet sorghum bagasse Based complete ration for efficient microbial biomass production in sheep using *in vitro* gas technique. *InKL. J. Pharm. Biosci.*, 3: 247-257.
- Li, R., Teng, Z., Lang, C., Zhou, H., Zhong, W., Ban, Z., Yan, X., Yang, H., Farouk, M.H. and Lou, Y. 2019. Effect of different forage-to-concentrate ratios on ruminal bacterial structure and real-time methane production in sheep. *PLoS One*, 14(5): e0214777. DOI: 10.1371/journal.pone.0214777.
- Menke, K.H and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. Vol. 28:55
- Minitab. 2017. Minitab reference manual release 18.1. Minitab Inc, Sydney, Australia.
- Nguyen Thi Kim Dong and Nguyen Van Thu. 2018. Effect of coconut oil levels added to Para grass (*Brachiaria mutica*) with and without concentrate as substrates on *in vitro* greenhouse gases production and organic matter digestibility. In *Proceedings of the 4th International Asian-Australasian Dairy Goat Conference 17-19 October, 2018, Tra Vinh Univ. Vietnam*. Pp. 457 – 464.
- Nguyen Van Thu, Nguyen Thi Kim Dong and Keisuke Hayashi. 2015. A study of *in vitro* CH₄ and CO₂ production effected by the natural tannin sources, and ground maize to grass as a main substrate. *JIRCAS Working Report*. ISSN 1341-710X. No. 84: 26-30.
- Pazla, R., Jamarun, N., Agustin, F., Zain, M., Arief, and Cahyani, N. O. 2021. *In vitro* nutrient digestibility, volatile fatty acids and gas production of fermented palm fronds combined with tithonia (*Tithonia diversifolia*) and elephant grass (*Pennisetum Purpureum*). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 888 012067. DOI 10.1088/1755-1315/888/1/012067.
- Reddy, Y.R., Nalini Kumari, N., Monika, T. and Sridhar, K. 2016. Evaluation of optimum roughage to concentrate ratio in maize stover based complete rations for efficient microbial biomass production using *in vitro* gas production technique. *Veterinary World*, 9(6): 611-615.

- Samir Attia Nagadi. 2019. *In vitro* Gas Production, Methane Emission and Rumen Fermentation Characteristics with Increasing Roughage to Concentrate Ratios. *Met., Env. & Arid Land Agric. Sci.*, Vol. 28 No. 2, pp: 27-36. DOI: 10.4197/Met. 28-2.3.
- Seon-Ho Kim, Lovelia L. Mamuad, Eun-Joong Kim, Ha-Guyn Sung, Gui-Seck Bae, Kwang-Keun Cho, Chanhee Lee and Sang-Suk Lee. 2018. Effect of different concentrate diet levels on rumen fluid inoculum used for determination of *in vitro* rumen fermentation, methane concentration, and methanogen abundance and diversity, *Italian Journal of Animal Science*, 17:2, 359-367, DOI: 10.1080/1828051X.2017.1394170.
- Tseten, T., Sanjorjo, R A., Kwon, M. and Kim, S.W. 2022. Strategies to mitigate enteric Methane emissions from ruminant animals. *J. Microbiol. Biotechnol.* 32(3): 269–277. <https://doi.org/10.4014/jmb.2202.02019>.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B.A. 1991. Symposium: Carbohydrate methodology metabolism and nutritional implications in dairy catKLe: methods for dietary fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Sci.* 74, pp. 3583-3597.
- Yan, T., Mayne, C.S., Gordon, F.G., Porter, M.G., Agnew, R.E., Patterson, D.C., Ferris, C.P. and Kilpatrick, D.J. 2010. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:2630–2638. DOI:10.3168/jds.2009-2929.
- Zhao, Y.G., Aubry, A., O’Connell, N.E., Annett, R. and Yan, T. 2015. Effects of breed, sex, and concentrate supplementation on digestibility, enteric methane emissions, and nitrogen utilization efficiency in growing lambs offered fresh grass. *J. Anim. Sci.* 93:5764–5773. DOI:10.2527/jas.2015-9515.

ABSTRACT

Effects of supplementation concentrate in the diet on *in vitro* CH₄, CO₂ gas emissions and organic matter digestibility

Experiment was conducted to evaluate *in vitro* CH₄ and CO₂ production effected by concentrate (C) levels. The experimental design was a completely randomized design with 5 treatments and 3 replications. The five treatments were supplementation of five levels of concentrate 0, 10, 20, 30 and 40% corresponding to C0, C10, C20, C30 and C40, respectively to Elephant grasses the substrates (DM basis). Rumen fluid of cattle fed 100% Elephant grass was used as inoculum. Total gas production was measured at 3, 6, 12, 18, 24 and 48 hours. The concentrations of CH₄ and CO₂ were analyzed at 12, 24 and 48 hours. The results showed that the *in vitro* total gas, CH₄ and CO₂ production from 0-48 h were significantly different (P<0.05) among the treatments and they were gradually increasing when increasing concentrate levels from 0 to 40%. CH₄ production (ml/g OM) from 0 to 48h was proportional to levels when concentrate was supplementation (0-40%). The *in vitro* DMD and OMD values were also increased (P<0.05) from the C0 to the C40 treatment. Increasing the OMD (%) by an additional 1.0% resulted in a corresponding increase of 4.08, 1.57, 1.93, and 2.15% in CH₄ production (ml/gOM) at 48 hours for the concentrate supplemented with 10, 20, 30, and 40% of total DM fermented, respectively. It was concluded that supplementation concentrate from 0 to 40% to the Elephant grass gradually increased greenhouse gas production. Similarly, the DM and OM digestibility was also increased. The optimal level of concentrate supplementation to Elephant grass as the substrates was 20% (DM basis).

Keywords: concentrate, roughage, greenhouse gas, rumen fluid, gas production.

Ngày nhận bài: 29/8/2023

Ngày phản biện đánh giá: 08/9/2023

Ngày chấp nhận đăng: 30/10/2023

Người phản biện: PGS.TS Chu Mạnh Thắng