



Đánh giá hiệu quả của một số phụ gia sinh, hóa học trong bảo quản thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) cho bò sau khi phối trộn

Nguyễn Thị Tuyết Lê, Khổng Doãn Hưng, Nguyễn Hải Nam, Vũ Trí Hùng, Vàng Thị Tới và Hoàng Thị Linh

Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của các chất phụ gia hóa học và sinh học đến chất lượng và thời gian bảo quản khẩu phần TMR cho bò. Khẩu phần TMR thí nghiệm gồm cỏ voi, ngô cả bắp ủ chua, rom khô, bột sắn, bã sắn, cám mì, khô đậu tương, bã bia, DCP, premix khoáng và vitamin, được xây dựng theo khuyến cáo của NRC (2016) nhằm đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của bò BBB × Zebu ở 19-21 tháng tuổi. Thí nghiệm được chia thành 4 nhóm (ba túi/TN, 25kg/túi): (1) không có chất phụ gia (đối chứng-ĐC); (2) TMR + kali sorbat (1g/kg dạng sử dụng-DSD) (PS); (3) TMR + Natri benzoat (1g/1kg DSD) (SB); (4) TMR + hỗn hợp axit propionic (0,3%) và chế phẩm *L. plantarum* (1×10^6 cfu/ml) (PL). Các chỉ tiêu DM, CP, NH₃-N, axit hữu cơ, pH và số lượng vi sinh vật được đánh giá ở ngày 1, 3, 5, 7, 9, 12, 15 của quá trình bảo quản. Kết quả cho thấy, các phụ gia bổ sung đều giúp kéo dài thời gian bảo quản và sử dụng TMR đến 15 ngày vào mùa đông. Tuy nhiên, với nhiệt độ cao trong mùa hè, công thức axit propionic và *L. plantarum* (PL) cho thấy hiệu quả duy trì chất lượng TMR và kéo dài thời gian bảo quản tốt nhất thể hiện qua hàm lượng axit hữu cơ cao hơn, độ pH, hàm lượng NH₃-N, VK hiệu khí, nấm men thấp hơn. Thời gian sử dụng TMR bảo quản với PL kéo dài đến 9 ngày so với các TN khác. Từ kết quả này có thể thấy, công thức PL có hiệu quả rõ rệt hơn các công thức SB, PS khi sử dụng bảo quản TMR trong điều kiện thời tiết nắng nóng.

Từ khóa: Phụ gia bảo quản, TMR, bò thịt, axit propionic, *Lactobacillus plantarum*

Đặt vấn đề

Khẩu phần hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) hiện đang được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi gia súc nhai lại ở Việt Nam vì đáp ứng được nhu cầu dinh dưỡng của vật nuôi. Tuy nhiên, khẩu phần TMR có thời gian sử dụng và bảo quản ngắn do dễ bị hư hỏng khi tiếp xúc với không khí đặc biệt khi cho ăn vào mùa hè. Việc tiếp xúc với không khí khiến thức ăn dễ nhiễm khuẩn và tăng hoạt động của nhóm nấm men cũng như các vi khuẩn (VK) hiệu khí sẵn có trong thức ăn. Những vi sinh vật (VSV) không mong muốn này tiêu thụ carbohydrate hòa tan trong thức ăn để tạo ra các sản phẩm không

mong muốn như amoniac, axit butyric, CO₂ và nước, từ đó dẫn đến giảm hàm lượng axit lactic, tăng pH và tăng nhiệt độ của khẩu phần TMR. Bên cạnh đó, nhiệt độ và độ ẩm cao trong mùa hè khiến cho quá trình lên men thứ cấp, sản sinh nhiệt xảy ra chỉ sau vài giờ khi cho ăn khẩu phần TMR, dẫn đến làm tăng nhiệt độ của khẩu phần TMR. Quá trình lên men thứ cấp khiến thức ăn hư hỏng nhanh chóng, gây tổn thất VCK, giảm chất lượng thức ăn, tạo ra mùi không mong muốn và có thể giảm lượng thức ăn tiêu thụ, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả chăn nuôi (Kung, 2010). Vì vậy, để duy trì chất lượng của khẩu phần TMR và kéo dài thời gian sử dụng, điều cần thiết là phải tìm kiếm các

phương pháp hiệu quả để giảm sự phát triển của VSV không mong muốn, giảm quá trình sinh nhiệt và thất thoát do hư hỏng hiếu khí. Việc kéo dài thời gian bảo quản TMR sẽ giúp giảm công lao động phối trộn, giảm chi phí máy móc và làm cho sản phẩm TMR dễ dàng thương mại hóa hơn.

Các chất phụ gia sinh học và hóa học là những lựa chọn tốt để duy trì độ pH thấp hơn của TMR và ức chế sự phát triển của VSV hiếu khí sau thời gian phối trộn và cho ăn. Phụ gia hóa học chủ yếu tập trung vào một số muối axit hữu cơ như natri benzoate (SB) và kali sorbate (PS) có thể ion hóa để tạo ra axit hữu cơ và ion muối, có đặc tính axit và đặc tính kháng khuẩn (Dai

và cs., 2022). VK lactic được sử dụng để giảm sản xuất amin sinh học và cải thiện tính ổn định hiếu khí của thức ăn ủ chua (Nishino và cs., 2007). Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá hiệu quả sử dụng muối axit hữu cơ, axit propionic và VK lactic trong bảo quản TMR cho bò thịt trong mùa hè và mùa đông.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Khẩu phần TMR: được xây dựng theo Hội đồng Nghiên cứu Quốc gia (NRC) (2016) nhằm đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho bò BBB × Zebu từ 19-21 tháng tuổi (Bảng 1).

Bảng 1. Công thức TMR cho bò thịt BBB × Zebu từ 19-21 tháng tuổi

Thành phần nguyên liệu (% dạng sử dụng -DSD)	TMR1 (Mùa hè)	TMR2 (Mùa đông)
Cỏ voi tươi	42,4	33,2
Cây ngô cả bắp ủ chua	18,0	25,6
Rơm khô	0,9	0,9
Bã sắn	4,1	4,3
Cám mỳ	3,5	3,7
Bột sắn	8,9	9,0
Khô đỗ tương	2,8	3,0
Bã bia	14,1	14,8
Rỉ mật	5,0	5,3
DCP	0,22	0,23
Premix khoáng-vitamin	0,07	0,07
Tổng	100	100
<i>Thành phần dinh dưỡng và giá TMR</i>		
VCK (%)	37,74	42,00
ME (MJ/kg VCK)	10,77	10,79
Protein thô (% VCK)	13,19	13,20
Xơ thô (% VCK)	17,06	16,55
Ca (% VCK)	0,36	0,36
P (% VCK)	0,29	0,29

Phụ gia bảo quản: Kali sorbate (PS- độ tinh khiết 98%, từ Nippon Gohshei, Yaesu, Chuoku, Tokyo, Nhật Bản); Natri benzoat (SB-độ tinh khiết 99%, từ Emerald Kalama Chemical, Kalama Washington USA); Axit propionic (PL, độ tinh khiết 99%, từ Công ty TNHH Công

nghệ Khoa học Quang Hoa, Quảng Đông, Trung Quốc);

Dung dịch nuôi cấy VK *L. plantarum* đồng hình, mật độ TB tối thiểu 10^6 cfu/ml được cung cấp bởi bộ môn Dinh dưỡng - Thức ăn, khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 1/2024 - 8/2024.

Địa điểm nghiên cứu: Tại Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Nội dung nghiên cứu

Biến đổi chất lượng cảm quan của các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản.

Biến đổi nhiệt độ của các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản.

Biến đổi thành phần hóa học và VSV của các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản.

Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm

Lô TN	Mùa hè	Mùa đông
ĐC	TMR1 (không bổ sung phụ gia)	TMR2 (không bổ sung phụ gia)
PS	Thức ăn TMR1 + Potassium sorbate (1g/kg thức ăn TMR)	Thức ăn TMR2 + Potassium sorbate (1g/kg thức ăn TMR)
SB	Thức ăn TMR1 + Sodium benzoate (1g/kg thức ăn TMR)	Thức ăn TMR2 + Sodium benzoate (1g/kg thức ăn TMR)
PL	Thức ăn TMR1 + axit propionic (0,3%) + <i>Lactobacillus plantarum</i> (1×10^6 cfu/ml)	Thức ăn TMR2 + axit propionic (0,3%) + <i>Lactobacillus plantarum</i> (1×10^6 cfu/ml)

Bốn phương pháp xử lý được chuẩn bị riêng lẻ như Bảng 2: (1) Khẩu phần ĐC được bổ sung nước cất vô trùng (ĐC); (2) Kali sorbate bổ sung ở mức 1g/kg DSD; (3) Natri benzoat bổ sung ở mức 1g/kg DSD; (4) Dung dịch nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* (PL) đồng hình, tỷ lệ bổ sung 1×10^6 cfu/g FM và axit propionic, bổ sung ở mức 0,3% DSD (Chen và cs., 2016). Mật độ VK *L. plantarum* được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên thạch đĩa trên môi trường de Man, Rogosa và Sharp (MRS) (HiMedia Laboratories LLC, Ấn Độ).

Tiến hành thí nghiệm

Thức ăn thô được cắt ngắn 1-2 cm bằng máy thái cỏ và máy cắt rơm. Khi trộn thì cân nạp thức ăn thô trước và cân nạp thức ăn tinh sau. Thức ăn được trộn bằng máy trộn TMR 500 kg, thời gian trộn 20 phút/mẻ. Sau khi tắt máy trộn, thức ăn được xả vào xe rơ-móc và được kiểm tra độ đồng đều của hỗn hợp TMR, sau đó được bổ sung phụ gia bảo quản.

Axit propionic được pha loãng với nước cất đến nồng độ tương đương 0,3% FM và trộn với

10ml/kg DSD *L. plantarum*, sau đó phun 4ml/kg DSD vào khẩu phần TMR. Hai loại muối axit hữu cơ cũng được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 1g/1kg và 5ml/kg DSD được phun bằng bình phun cầm tay. Một lượng nước cất tương đương được áp dụng cho TMR đối chứng (Chen và cs., 2016). Các khẩu phần TMR thí nghiệm được trộn đều và chia vào 3 bao tải 2 lớp có nylon lót trong cho mỗi TN (25kg/túi). Tất cả 12 túi đều để mở và bảo quản ở nhiệt độ phòng theo mùa trong 15 ngày. Phòng bảo quản 20m², được thông thoáng tự nhiên và không ẩm ướt. Trong phòng được trang bị nhiệt ẩm kế (Beuer HM 16, Đức) để theo dõi nhiệt độ và độ ẩm không khí phòng 3 lần/ngày (8h, 13h và 17h).

Lấy mẫu và quy trình phân tích: 500g mẫu của mỗi TN được lấy theo TCVN 13052:2021 ở các thời điểm bảo quản 1, 3, 5, 7, 9, 12 và 15 ngày. Nhiệt độ của TMR và môi trường bảo quản được đo bằng nhiệt kế đầu dò (TFA, AT-1018, Đức) 3 lần/ngày vào các thời điểm 8h, 13h, 17h (Da Silva và cs., 2021).

Đánh cảm quan được đánh giá qua màu sắc, mùi, trạng thái, độ mốc, độ pH của thức ăn và

được cho điểm từ 1-3 trên mỗi chỉ tiêu với sự tham gia của 8 người đánh giá cho mỗi công thức. Phương pháp đánh giá tham khảo theo mô tả của Bùi Quang Tuấn và cs. (2012) và

Tahuk và cs. (2020) có điều chỉnh cho phù hợp. Kết quả được tính bằng cách tính trung bình tất cả các điểm của 4 chỉ tiêu và so sánh giữa các nghiệm thức (Bảng 3).

Bảng 3. Điểm đánh giá các chỉ tiêu cảm quan của thức ăn TMR trong thời gian bảo quản

Thông số	1 (Chất lượng kém)	2 (Chất lượng trung bình)	3 (Chất lượng tốt)
Màu sắc	Nâu sẫm hoặc đen	Vàng nâu hoặc nâu nhạt	Vàng xanh hoặc vàng nâu nhạt
Mùi	Khét, mùi amoniac, mùi thuốc lá hoặc mùi ôi, thối	Axit nồng hoặc mùi rượu	Axit/chua nhẹ, vẫn giữ mùi thơm của thức ăn
Trạng Thái	Vón cục, ướt nhớt, dính	Mềm, hơi ướt, vón cục nhẹ	Mềm tươi xốp, không vón cục, không ướt dính
Nấm mốc	Bề mặt (<10cm) và các phần khác	Mốc trắng trên bề mặt (<5cm)	Không mốc hoặc mốc trắng trên bề mặt (<1cm)

Độ pH được xác định bằng máy đo pH (Mettler Toledo, Thụy Sĩ). Nồng độ rượu được đo bằng khúc xạ kế (Atago Co. LTD, Nhật Bản). Các chỉ tiêu axit hữu cơ tổng số được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), vật chất khô (DM), protein thô (CP), N-NH₃ được phân tích theo TCVN 4326-2007, TCVN 4328-2007, TCVN 10494:2014 tại phòng TN trung tâm, khoa Chăn nuôi. Số lượng VK lactic được xác định bằng phương pháp pha loãng nồng độ và đếm khuẩn lạc trên thạch MRS. Nấm men được đếm trên các đĩa thạch Yeast malt agar (YM) (Chen và cs., 2016). Số lượng VK hiếu khí tổng số được xác định trên môi trường Plate Count Agar (HiMedia Laboratories LLC, India) ở 30°C/24-48h.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bởi phần mềm R₄.2.2 (Team, 2022). Số liệu đánh giá cảm quan được phân tích bằng Kruskal test và so sánh theo cặp theo Wilcoxon rank sum test. Các số liệu bảo quản TMR được phân tích bằng ANOVA 1 nhân tố. Sự sai khác thống kê của các giá trị trung bình được xác định bằng Turkey’s multiple comparison với P<0,05.

Kết quả và thảo luận

Đánh giá cảm quan chất lượng các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản

Đánh giá cảm quan của các khẩu phần TMR thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 4. Trong điều kiện nhiệt độ cao vào mùa hè, khẩu phần PL có điểm kiểm tra cảm quan cao nhất trong số tất cả các nghiệm thức (P<0,05). Quan sát khẩu phần PL, có thể thấy không có sự thay đổi về các đặc điểm cảm quan của khẩu phần sau 5 ngày bảo quản. Nấm mốc nhẹ trên bề mặt xuất hiện ở tất cả các túi PL vào ngày thứ 12. Việc bổ sung axit propionic và *L. plantarum* là phương pháp hiệu quả để duy trì chất lượng TMR ổn định ở nhiệt độ cao.

Trái ngược với điều kiện nắng nóng của tháng 7, các khẩu phần TMR được bảo quản trong tháng 1 mùa đông duy trì được chỉ số cảm quan ở mức 3 đến ngày bảo quản thứ 7. Sau ngày bảo quản thứ 9, điểm cảm quan bắt đầu giảm và giảm rõ ở ngày 12-15. Sự sai khác có ý nghĩa thống kê chỉ quan sát thấy ở các khẩu phần thí nghiệm PS, SB và PL so với khẩu phần ĐC (P<0,05). Như vậy, trong điều kiện nhiệt độ thấp vào mùa đông, nhiệt độ dao động từ 20-24°C, việc bổ sung các phụ gia bảo quản sẽ giúp ổn định chất lượng thức ăn TMR đến 15 ngày.

Bảng 4. Đánh giá cảm quan các khẩu phần TMR thí nghiệm trong thời gian bảo quản

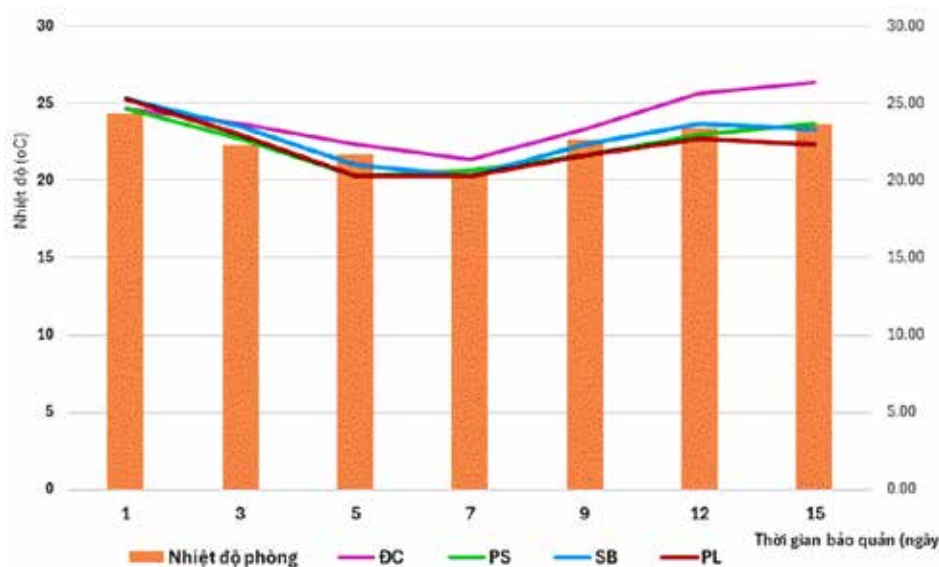
Thời gian bảo quản (ngày)	Thí nghiệm				SEM	P	
	ĐC	PS	SB	PL			
Tháng 7 (Mùa hè)	1	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	-
	3	2,58 ^{bc}	2,83 ^{ab}	2,92 ^{ab}	3,00 ^a	0,09	<0,05
	5	2,25 ^b	2,75 ^a	2,83 ^a	3,00 ^a	0,16	<0,001
	7	2,00 ^c	2,42 ^b	2,58 ^b	2,92 ^a	0,19	<0,001
	9	1,50 ^c	2,17 ^b	2,25 ^b	2,58 ^a	0,23	<0,001
	12	1,33 ^c	2,08 ^b	2,17 ^b	2,42 ^a	0,23	<0,001
	15	1,08 ^c	1,75 ^b	1,83 ^b	2,25 ^a	0,24	<0,001
Tháng 1 (Mùa đông)	1	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	-
	3	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	-
	5	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	-
	7	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	-
	9	2,83	2,75	2,75	2,92	0,04	<0,05
	12	2,33 ^b	2,75 ^a	2,92 ^a	2,92 ^a	0,14	<0,05
	15	1,83 ^b	2,42 ^a	2,50 ^a	2,58 ^a	0,17	<0,001

Các chữ cái khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với $P < 0,05$

Nhiệt độ của các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản

Nhiệt độ phòng trung bình trong thời gian thí nghiệm vào tháng 1 năm 2024 dao động từ 20 đến 24, thấp nhất vào các ngày 5 (21,33°C) và 7 (20,67°C). Nhiệt độ thấp giúp hạn chế quá trình hô hấp của thức ăn cũng như hoạt động của nhóm VSV hiếu khí gây hư hỏng thức ăn,

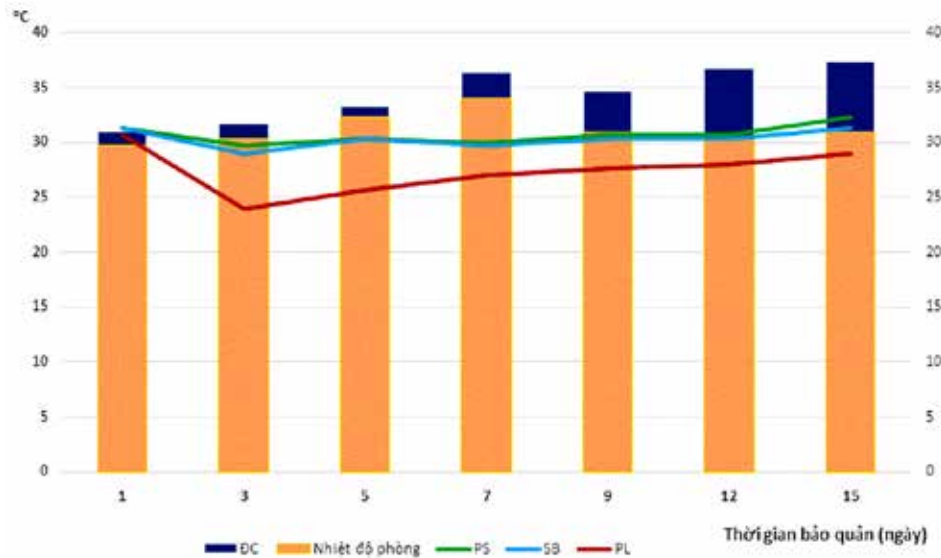
từ đó chất lượng thức ăn được duy trì ổn định ở tất cả các khẩu phần (Hình 1a). Sau ngày thứ 9, nhiệt độ của các khẩu phần bắt đầu tăng dần, tuy nhiên sự tăng nhiệt độ không có sự sai khác có ý nghĩa ở 3 khẩu phần TN PS, SB và PL. Trong khi đó, khẩu phần ĐC có sự tăng nhiệt độ thức ăn rõ rệt ($P < 0,05$) so với các khẩu phần TN.



Hình 1a. Biến đổi nhiệt độ của khẩu phần TMR được bảo quản vào tháng 1

Nhiệt độ phòng trung bình trong thời gian thí nghiệm vào tháng 7 năm 2024 dao động từ 30 đến 34, cao nhất vào ngày 5 và 7. Ở nhiệt độ bảo

quản cao, nhiệt độ thức ăn thấp nhất (<30°C) chỉ được ghi nhận ở nghiệm thức PL trong suốt thời gian bảo quản (Hình 1b).



Hình 1b. Biến đổi nhiệt độ của khẩu phần TMR được bảo quản vào tháng 7



Hình 1. Hình ảnh cảm quan của các túi ủ của khẩu phần ĐC: sự tăng nhiệt sản sinh hơi nước làm thức ăn ướt dính, vón



Hình 2. Hình ảnh cảm quan của các túi ủ của khẩu phần TN

Biến đổi thành phần hóa học và VSV của các khẩu phần TMR trong thời gian bảo quản

Sự thay đổi thành phần hóa học và VSV của các khẩu phần TMR được bảo quản trong mùa hè được thể hiện trong Bảng 5. DM giảm đáng kể ($P<0,05$) ở phương pháp xử lý ĐC vào ngày bảo quản thứ 7 so với các phương pháp xử lý khác. Không có sự thay đổi đáng kể về hàm

lượng DM và CP của nghiệm thức PS, SB và PL trong suốt thời gian bảo quản.

Hàm lượng N-NH₃ tăng nhanh ở nghiệm thức ĐC sau 3 ngày bảo quản, từ 83,25 lên 95,89 g/kg TN và đạt >100 g/kg TN từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 15. Hàm lượng N-NH₃ trong thức ăn ủ chua là một chỉ tiêu về mức độ phân hủy protein. Trong thức ăn ủ chua được bảo quản tốt, hàm lượng NH₃-N không được vượt quá 100 g/kg tổng N (McDonald và cs., 2002).

Bảng 5. Ảnh hưởng của việc bổ sung phụ gia bảo quản đến thành phần hóa học và VSV của khẩu phần TMR được bảo quản vào tháng 7

Chỉ tiêu	TN	Thời gian bảo quản (ngày)						
		1	3	5	7	9	12	15
DM (%FM)	ĐC	39,56	39,47	39,23	39,06	38,58 ^b	37,80 ^b	37,26 ^c
	PS	39,54	39,51	39,43	39,33	39,34 ^a	39,19 ^a	38,44 ^b
	SB	39,57	39,52	39,45	39,38	39,35 ^a	39,25 ^a	38,53 ^b
	PL	39,56	39,55	39,55	39,48	39,41 ^a	39,33 ^a	39,27 ^a
CP (%DM)	ĐC	13,16	13,05	12,95	12,19 ^b	11,77 ^b	11,15 ^b	10,55 ^b
	PS	13,18	13,16	13,17	13,10 ^a	13,06 ^a	12,85 ^a	12,66 ^a
	SB	13,16	13,17	13,15	13,11 ^a	13,08 ^a	12,89 ^a	12,75 ^a
	PL	13,17	13,22	13,25	13,18 ^a	13,16 ^a	13,13 ^a	13,06 ^a
NH ₃ -N (g/kg total N)	ĐC	83,25	95,89 ^c	101,54 ^c	106,2 ^c	115,41 ^c	134,50 ^c	150,06 ^c
	PS	82,66	87,92 ^b	86,05 ^b	88,12 ^b	90,18 ^b	99,61 ^b	108,78 ^b
	SB	82,65	85,03 ^{ab}	84,67 ^b	87,64 ^b	92,91 ^b	97,87 ^b	105,33 ^b
	PL	82,47	81,30 ^a	80,24 ^a	81,90 ^a	82,34 ^a	83,61 ^a	86,87 ^a
pH	ĐC	5,54	5,77 ^b	5,86 ^b	5,74 ^b	5,84 ^c	6,18 ^c	6,76 ^c
	PS	5,25	4,49 ^a	4,58 ^a	4,77 ^a	5,01 ^b	5,11 ^b	5,56 ^b
	SB	5,21	4,47 ^a	4,59 ^a	4,65 ^a	4,94 ^b	5,13 ^b	5,57 ^b
	PL	5,14	4,34 ^a	4,15 ^a	4,38 ^a	4,41 ^a	4,53 ^a	4,79 ^a
Axit hữu cơ tổng số (% FM)	ĐC	1,15 ^b	0,94 ^c	0,74 ^c	0,55 ^c	0,38 ^c	0,21 ^c	0,19 ^c
	PS	1,71 ^a	1,85 ^b	1,58 ^b	1,24 ^b	1,13 ^b	1,07 ^b	1,04 ^b
	SB	1,72 ^a	1,84 ^b	1,65 ^b	1,33 ^b	1,12 ^b	1,11 ^b	1,08 ^b
	PL	1,85 ^a	2,27 ^a	2,22 ^a	2,24 ^a	2,16 ^a	1,73 ^a	1,75 ^a
Ethanol (%FM)	ĐC	0,23	0,25	0,28	0,33	0,39	0,37	0,40
	PS	0,23	0,24	0,37	0,33	0,30	0,22	0,23
	SB	0,24	0,26	0,26	0,28	0,30	0,35	0,37
	PL	0,24	0,24	0,23	0,23	0,26	0,27	0,30
VK lactic (log cfu/g FM)	ĐC	5,04 ^b	4,58 ^c	4,18 ^c	3,36 ^c	3,05 ^d	2,83 ^c	2,27 ^c
	PS	5,41 ^a	5,85 ^b	6,25 ^b	5,98 ^b	5,34 ^c	4,87 ^b	3,91 ^b
	SB	5,46 ^a	5,89 ^b	6,23 ^b	6,05 ^b	5,67 ^b	4,89 ^b	3,97 ^b
	PL	5,61 ^a	6,67 ^a	7,17 ^a	6,80 ^a	6,68 ^a	6,09 ^a	5,37 ^a
VSV hiếu khí (log cfu/g FM)	ĐC	2,37	3,57 ^c	5,46 ^b	6,15 ^c	6,31 ^c	7,02 ^c	7,31 ^c
	PS	2,09	1,88 ^b	1,74 ^a	1,93 ^b	2,70 ^b	4,15 ^b	5,01 ^b
	SB	2,13	1,71 ^{ab}	1,68 ^a	1,82 ^b	2,76 ^b	4,21 ^b	5,06 ^b
	PL	2,04	1,26 ^a	1,29 ^a	1,34 ^a	1,43 ^a	2,35 ^a	2,83 ^a
Nấm men (log cfu/g FM)	ĐC	1,36	2,90 ^b	3,62 ^b	4,34 ^c	5,32 ^c	5,17 ^c	5,40 ^c
	PS	1,20	1,16 ^a	1,12 ^a	1,54 ^b	2,15 ^b	3,46 ^b	4,13 ^b
	SB	1,21	1,12 ^a	1,13 ^a	1,49 ^b	2,11 ^b	3,33 ^b	4,07 ^b
	PL	1,16	1,10 ^a	1,04 ^a	1,06 ^a	1,04 ^a	1,14 ^a	2,45 ^a

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với $P<0,05$

Giá trị pH của khẩu phần ĐC tăng liên tục (từ 5,54 lên 6,76) trong suốt TN. Ngược lại, giá trị pH của cả 3 khẩu phần TN PS, SB và PL đều giảm. Tuy nhiên, giá trị pH duy trì ổn định <4,50 cho đến 9 ngày bảo quản chỉ được quan sát thấy ở khẩu phần PL (Bảng 5). Ngoài ra, khẩu phần PL có hàm lượng axit hữu cơ tổng số và số lượng Vk lactic cao nhất trong số tất cả các khẩu phần TN (P<0,05). Trong thí nghiệm này, số lượng VK hiếu khí và nấm men thấp nhất ở khẩu phần PL (<3log10cfu/g FM) đã cho thấy tính ổn định hiếu khí của khẩu phần này khi bổ sung hỗn hợp axit propionic và *L. plantarum*. Kết quả này cho thấy, sử dụng axit propionic và *L. plantarum* đã kiểm soát đáng kể

nấm men, VK hiếu khí (P<0,05) và duy trì chất lượng thức ăn ổn định trong quá trình bảo quản.

Với các khẩu phần TMR được bảo quản vào mùa đông (Bảng 6), sự sai khác có ý nghĩa thống kê chỉ quan sát thấy giữa 3 nhóm TN với nhóm ĐC ở các ngày bảo quản từ 9-15 với các chỉ số về pH, hàm lượng N-NH₃, axit hữu cơ và các chỉ tiêu về VSV. Cả 3 khẩu phần TN PS, SB và PL đều có pH<5, mức N-NH₃ <100g/kg trong suốt thời gian bảo quản. Tuy nhiên, chỉ có khẩu phần PL có số lượng VK lactic cao nhất, giá trị pH, số lượng nấm men, VK hiếu khí duy trì thấp nhất. Trong điều kiện nhiệt độ thấp, việc bổ sung các phụ gia bảo quản giúp thức ăn duy trì chất lượng ổn định đến 15 ngày bảo quản.

Bảng 6. Ảnh hưởng của việc bổ sung phụ gia bảo quản đến thành phần hóa học và VSV của khẩu phần TMR được bảo quản vào mùa đông

Chỉ tiêu	TN	Thời gian bảo quản (ngày)						
		1	3	5	7	9	12	15
DM (%FM)	ĐC	39,43	39,31	39,26	39,16	39,11	38,89	38,79
	PS	39,37	39,37	39,32	39,33	39,34	39,19	39,07
	SB	39,44	39,39	39,45	39,38	39,35	39,25	39,13
	PL	39,38	39,33	39,28	39,25	39,21	39,15	39,12
CP (%DM)	ĐC	13,57	13,51	13,49	13,41	13,37	13,14	12,89
	PS	13,45	13,43	13,39	13,37	13,28	13,22	13,12
	SB	13,35	13,34	13,32	13,28	13,22	13,19	13,16
	PL	13,53	13,49	13,43	13,39	13,32	13,30	13,25
NH ₃ -N (g/kg total N)	ĐC	82,64	82,85	84,07	85,92	87,88	98,40 ^b	100,30 ^b
	PS	82,40	82,60	83,72	83,89	84,18	86,94 ^a	88,89 ^a
	SB	82,35	82,69	83,67	83,71	85,24	87,07 ^a	88,67 ^a
	PL	82,30	82,44	82,91	82,37	83,12	84,94 ^a	86,56 ^a
pH	ĐC	5,72	4,93	4,69	4,72	5,11	5,20 ^b	5,24 ^b
	PS	5,62	4,75	4,58	4,56	4,71	4,78 ^a	4,85 ^a
	SB	5,61	4,67	4,44	4,50	4,64	4,72 ^a	4,81 ^a
	PL	5,40	4,64	4,30	4,25	4,48	4,60 ^a	4,72 ^a
Axit hữu cơ tổng số (% FM)	ĐC	1,39	1,39	1,46 ^b	1,21 ^c	0,91 ^c	0,65 ^b	0,43 ^b
	PS	1,63	1,74	1,92 ^a	1,84 ^b	1,73 ^b	1,67 ^s	1,46 ^a
	SB	1,62	1,76	1,95 ^a	1,85 ^b	1,80 ^b	1,72 ^s	1,51 ^a
	PL	1,77	1,81	2,18 ^a	2,34 ^a	2,12 ^a	1,92 ^a	1,79 ^a
Ethanol (%FM)	ĐC	0,25	0,23	0,26	0,29	0,36	0,36	0,38
	PS	0,24	0,24	0,37	0,33	0,36	0,29	0,23
	SB	0,24	0,26	0,26	0,28	0,30	0,35	0,26
	PL	0,23	0,24	0,24	0,25	0,26	0,26	0,25
VK lactic (log cfu/g FM)	ĐC	5,11	5,05	4,92	4,82 ^b	4,64 ^c	4,15 ^p	4,01 ^b
	PS	5,15	5,16	5,10	5,09 ^{ab}	4,95 ^b	4,84 ^a	4,82 ^a
	SB	5,17	5,18	5,22	5,15 ^{ab}	5,09 ^{ab}	4,87 ^a	4,85 ^a
	PL	5,51	5,56	5,61	5,67 ^a	5,40 ^a	5,31 ^a	5,07 ^a
VSV hiếu khí (log cfu/g FM)	ĐC	2,28	2,28	2,31	2,34	2,33	2,36	2,34
	PS	2,18	2,19	2,17	2,14	2,16	2,15	2,17
	SB	2,17	2,17	2,14	2,13	2,15	2,16	2,16
	PL	2,15	2,15	2,13	2,11	2,09	2,11	2,15
Nấm men (log cfu/g FM)	ĐC	1,17	1,17	1,24	1,23	1,30	1,44	1,43 ^b
	PS	1,16	1,13	1,16	1,15	1,18	1,22	1,24 ^a
	SB	1,17	1,14	1,16	1,15	1,17	1,23	1,22 ^a
	PL	1,15	1,13	1,12	1,11	1,13	1,12	1,13 ^a

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với P<0,05

Thảo luận

Kết quả thí nghiệm cho thấy, với điều kiện nhiệt độ dao động từ 20-24°C thời gian sử dụng và bảo quản các khẩu phần TMR dài hơn so với điều kiện nắng nóng trong mùa hè. Ở khẩu phần ĐC, không bổ sung phụ gia bảo quản, chất lượng thức ăn TMR được duy trì tốt đến 7 ngày. Tuy nhiên, sử dụng phụ gia bảo quản như các axit hữu cơ, muối của axit hữu cơ và VK *L. plantarum* đã giúp kéo dài thời gian sử dụng và bảo quản đến 15 ngày.

Vào mùa hè, ở nhiều trang trại chăn nuôi bò thịt ở các vùng nắng nóng ở Việt Nam, khẩu phần TMR có thể được cho ăn trong thời gian ngắn, thậm chí chỉ vào ngày sau khi trộn vì một số lý do (i) Khi các thành phần thức ăn được phối trộn với nhau sẽ làm tăng độ pH của khẩu phần, dẫn đến tăng hoạt động của các VK hiếu khí trong thức ăn, làm tăng nhiệt độ thức ăn, (ii). Thức ăn tiếp xúc với không khí tạo tăng cơ hội nhiễm khuẩn và tạo điều kiện cho VSV hiếu khí phát triển và sinh trưởng nhanh chóng. Đầu tiên nhóm VSV không mong muốn này sử dụng carbohydrate hòa tan trong nước (WSC), sau đó chúng phân giải các hợp chất phức tạp hơn, dẫn đến giảm chất lượng TMR, (iii) Nhiệt độ chuồng nuôi cao vào mùa hè làm tăng nhanh quá tự hô hấp, lên men phân hủy các thành phần thức ăn, từ đó làm giảm chất lượng của khẩu phần. Rõ ràng ở các khẩu phần ĐC (không bổ sung chất phụ gia bảo quản), pH ngày bảo quản đầu tiên là 5,54 và tăng liên tục sau đó. Độ pH này thích hợp cho sự phát triển của nấm men hoang dã và VK hiếu khí. Ngoài ra, nhiệt độ phòng trung bình 30-34°C (trong mùa hè) là thích hợp cho nấm men và VK hiếu khí phát triển như các trực khuẩn *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacteria*. Những VSV không mong muốn này gây ra sự mất mát VCK do chúng tiêu thụ WSC để tạo ra CO₂ và nước, từ đó làm tăng độ pH và nhiệt độ của thức ăn (Carvalho và cs., 2014). Ngoài ra, nấm men sử dụng lactate để oxy hóa axit lactic thành CO₂ và nước, làm tăng độ pH. VK đường ruột phân hủy các thành phần thức ăn, sản sinh các sản phẩm độc hại như NH₃, H₂S qua quá trình khử carboxyl và khử amin, làm tăng hàm lượng NH₃ và sản xuất amin sinh học. Kết quả

là kết cấu của TMR thay đổi thành vón cục, ướt và nhớt dính. Mùi thức ăn chuyển từ axit mạnh sang mùi amoniac hoặc mùi thuốc lá và có màu nâu hoặc đen. Hơn nữa, mật độ nấm men và VK hiếu khí trong các khẩu phần ĐC vượt quá 4log cfu/g FM, cho thấy mức độ suy giảm hiếu khí cao hơn sau khi tiếp xúc với không khí trong quá trình bảo quản (điểm kiểm tra cảm quan thấp nhất; axit hữu cơ thấp nhất và hàm lượng N-NH₃ cao nhất).

Trong nghiên cứu này, kali sorbate, natri benzoat, axit propionic và *L. plantarum* (PL) đã được bổ sung vào khẩu phần TMR sau khi trộn để kiểm soát sự gia tăng nhiệt độ và các VSV không mong muốn trong quá trình bảo quản. Việc phối hợp axit propionic với *L. plantarum* đồng hình nhằm nâng cao hiệu quả kiểm soát các VSV không mong muốn vì các chủng *L. plantarum* đồng hình có thể tạo ra lượng axit lactic cao hơn các axit hữu cơ khác, dẫn đến giảm nhanh độ pH thức ăn. Axit propionic là một chất kháng khuẩn tiềm năng (Dai và cs., 2022), khi áp dụng ở nồng độ 0,3% FM, nó đã được chứng minh là có hiệu quả ức chế hoạt động của các VK không mong muốn. Điều này dẫn đến số lượng VK hiếu khí và nấm men thấp hơn, giảm quá trình phân hủy hiếu khí, từ đó giảm hàm lượng N-NH₃. VK lactic có mức tăng sinh cao nhất ở khẩu phần PL sau 3 ngày bảo quản và duy trì ở mức cao cho đến ngày thứ 9. Kết quả này có thể được giải thích bởi hai nguyên nhân sau: (i) VK hiếu khí nhiễm vào TMR sẽ tiêu thụ oxy ở bề mặt túi bảo quản, tạo điều kiện kỵ khí thuận lợi cho VK lactic phát triển; (ii) Việc ức chế VSV hiếu khí nhờ pH thấp có thể làm giảm sự cạnh tranh nguồn dinh dưỡng giữa VK lactic và các VSV gây hại. Các nghiên cứu trước đây cho thấy kali sorbate và natri benzoat có hiệu quả trong việc ức chế nấm men, nấm mốc và VK hình thành bào tử trong ngô ủ chua vì nó có thể ion hóa để tạo ra axit sorbic, axit benzoic và các ion muối (Kung và cs., 2018). Dai và cs. (2022) đã báo cáo rằng SB và PS có hiệu quả hơn trong việc cải thiện độ ổn định hiếu khí của khẩu phần TMR lên men so với TMR không được xử lý. Trong nghiên cứu này, khẩu phần PL ổn định hơn trong việc duy

trì độ pH thấp, quần thể VK hiếu khí, hàm lượng $\text{NH}_3\text{-N}$ trong suốt 15 ngày bảo quản so với các khẩu phần PS và SB trong điều kiện nhiệt độ cao của mùa hè. Xét một cách toàn diện, PL được khuyến nghị làm chất phụ gia để duy trì

chất lượng TMR và kéo dài thời gian bảo quản trong mùa hè. Các khẩu phần PL, PS, SB đều được khuyến cáo sử dụng bảo quản TMR trong mùa đông nếu cần thiết.



Hình 3. Mẫu phân lập VSV của khẩu phần ĐC và TN. Ở khẩu phần TN (đĩa bên phải), số lượng VK lactic chiếm đa số

Kết luận

Trong điều kiện nhiệt độ cao vào mùa hè, việc bổ sung axit propionic và VK lactic vào khẩu phần TMR sau khi trộn đã duy trì ổn định chất lượng TMR, thể hiện qua hàm lượng axit hữu cơ cao hơn, độ pH, hàm lượng $\text{NH}_3\text{-N}$, số lượng VK lactic, VK hiếu khí và nấm men thấp hơn so với các khẩu phần PS và SB. Thời gian bảo quản của khẩu phần bổ sung công thức PL được kéo dài đến 9 ngày. Ở điều kiện nhiệt độ thấp vào mùa đông, việc bổ sung phụ gia PS, SB, PL đều giúp kéo dài thời gian sử dụng và bảo quản khẩu phần TMR đến 15 ngày. Kết quả này cho thấy, công thức PL có hiệu quả rõ rệt hơn các công thức SB, PS khi sử dụng bảo quản TMR trong mùa hè.

Tài liệu tham khảo

Tiếng Việt

Bùi Quang Tuấn, Nguyễn Bách Việt và Nguyễn Thị Huyền. 2012. Giáo trình Cây thức ăn chăn nuôi. NXB ĐH Nông nghiệp, tr. 153-181.

Tiếng nước ngoài

Carvalho, B.F., Ávila, C.L.S., Pinto, J.C., Neri, J. and Schwan, R.F. 2014. Microbiological and chemical profile of sugar cane silage fermentation inoculated with wild strains of lactic acid bacteria. *Ani. Feed Sci. Technol.*, 195: 1-13.

Chen Lei, Xian-jun Y., Jun-feng L., Si-ran W., Zhi-hao, D. and Tao, S. 2016. Effect of lactic acid bacteria and propionic acid on conservation characteristics, aerobic stability and in vitro gas production kinetics and digestibility of whole-crop corn based total mixed ration silage. *J. Int. Agr.* 16(7): 1592-00.

Dai, T., Dong, D., Wang, S., Zong, C., Yin, X., Jia, Y. and Shao, T. 2022. The effectiveness of chemical

- additives on fermentation profiles, aerobic stability and in vitro ruminal digestibility of total mixed ration ensiled with Napier grass and wet distillers' grains in southeast China. *Ita. J. Ani. Sci.*, 21(1): 979-89.
- Da Silva Dias, M.S., Ghizzi, L.G., Marques, J.A., Nunes, A.T., Grigoletto, N.T.S., Gheller, L.S., Silva, T.B.P., Silva, G.G., Lobato, D.N., Costa E Silva LF and Rennó, F.P. 2021. Effects of organic acids in total mixed ration and feeding frequency on productive performance of dairy cows. *J Dairy Sci.*;104(5):5405-5416
- Kung Jr, L. 2010. Aerobic stability of silage. In Proc. 2010. California Alfalfa and Forage Symposium and Crop/cereal Conference, Visalia, CA, USA (Vol. 2).
- Kung, L.Jr., Smith, M.L., da Silva, E.B., Windle, M.C., da Silva, T.C. and Polukis, S.A. 2018. An Evaluation of the Effectiveness of a Chemical Additive Based on Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, and Sodium Nitrite on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *J. Dai. Sci.*, 101: 5949-60.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. and Morgan, C.A. 2002. *Animal Nutrition*, 6th ed; Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, Pp: 515-35
- Nishino, N., Hattori, H., Wada, H. and Touno, E. 2007. Biogenic Amine Production in Grass, Maize and Total Mixed Ration Silages Inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *J. Appl. Microbiol.*, 103: 325-32.
- NRC. 2016. *Nutrient Requirements of Beef Cattle: Eighth Revised Edition*. National Academies Press, Washington DC.
- Tahuk, P.K., Gerson, F.B. and Hendrik, T. 2020. Physical characteristics analysis of complete silage made of sorghum forage, king grass and natural grass, IOP Conf. Ser. Earth Env. Sci., Pp: 465.
- Team, R.C. 2022. *R: A language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing Vienna, Austria.

ABSTRACT

Evaluation of the effectiveness of some biological and chemical additives on preservation of total mixration (TMR) for cattle after mixing

The study aimed to evaluate the impact of chemical and biological additives on quality and prolongation of storage time of TMR diets for cattle after mixing. TMR experimental diets included king grass, whole corn silages, dried rice straws, cassava residues, wheat brans, soybean meal, cassava meal, brewery residues, minerals and vitamins. The TMR diet was formulated according to recommendation of NRC (2016) to meet the nutrient requirements BBB × Zebu cattle from 19-21 months of age. TMR diets were divided into 4 treatments (three bags/treatment, 25kg/bag): (ĐC) no additives (control); (TN₁) TMR + potassium sorbate (1g/kg As-fed) (PS); (TN₂) TMR + Sodium benzoate (1g/1kg As-fed) (SB); (TN₃) TMR + a mixture of propionic acid (0.3%) and *L. plantarum* inoculant (1×10^6 cfu/ml) (PL). DM, CP, NH₃-N, organic acid content, pH and microbial counts were evaluated at days 1, 3, 5, 7, 9, 12, 15 of preservation. The results showed that using preservatives helps to prolong the storage and usage time of TMR to 15 days in winter. However, supplementing of propionic acid and *L. plantarum* into TMR diets (PL) in the hot season showed the best effect in maintaining stably TMR's quality and extending its storage time to 9 days compared to other treatments. This result reflected by low pH, NH₃-N, aerobic bacteria, and yeast levels, as well as the high organic acid content. Based on this result, PL formula would be a more effective than SB and PS formulas in preserving TMR during hot weather.

Keywords: *Preservation Additive, TMR, beef cattle, propionic acid, Lactobacillus plantarum*

Người phản biện: PGS.TS. Đặng Thúy Nhung