

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG VÀ HỆ VI SINH VẬT TRONG CỎ VOI Ủ CHUA

Nguyễn Thị Tuyết Lê*, Bùi Quang Tuấn

Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: tuyetle_hua@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 26.04.2016

Ngày chấp nhận: 22.10.2016

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá chất lượng và sự biến đổi hệ vi sinh vật trong cỏ voi ủ chua qua 90 ngày bảo quản với mục đích nâng cao chất lượng thức ăn ủ chua. Cỏ voi được ủ chua truyền thống không sử dụng chất bổ trợ (ĐC) và ủ với 0,5% muối (CT1), 5% rỉ mật (CT2); 0,5% muối và 0,5% rỉ mật (CT3). Kết quả cho thấy, các công thức cỏ voi ủ chua với rỉ mật có chất lượng tốt nhất: sản phẩm có màu vàng rơm sẫm không ướt dính, không mốc, mùi chua axit, không có mùi khó chịu; giá trị pH dao động từ 3,78 - 4,18; tỷ lệ hao hụt VCK và protein thô thấp (dao động tương ứng từ 1,15 - 4,65% và từ 0,35 - 1,79%); hàm lượng N - NH₃/N tổng số thấp nhất, dao động từ 5,11 - 7,03% ($P < 0,05$) ở ngưỡng cho phép; hàm lượng axit lactic cao nhất ($P < 0,001$) từ 1,30 - 1,58%; axit butyric không phát hiện thấy ở các công thức ủ rỉ mật. Kết quả xác định sự biến đổi thành phần các nhóm VSV trong các mẫu cỏ voi ủ chua cho thấy, ở các công thức ủ với rỉ mật số lượng nhóm vi khuẩn lactic đạt lớn nhất ($194,17 \times 10^6$ đến $361,33 \times 10^6$ TB/g). *Bacillus* sp., nhóm *Clostridium* sp., nấm men, nấm mốc có số lượng đạt cao nhất ở các công thức ĐC, tiếp đến ở công thức ủ với muối và thấp nhất ở công thức ủ với rỉ mật.

Từ khóa: Cỏ voi, ủ chua, vi khuẩn lactic, hệ vi sinh vật.

Evaluation the Quality and Microbial Flora of King Grass Silage

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the quality and the microbial population of king grass (*Pennisetum purpureophoides*) silage. The experiment was carried out in a completely randomized design consisting of four treatments with three replications, namely control: traditional king grass silage without additive as a control; CT1: king grass silage with 5% salt; CT2: king grass silage with 5% molasses and CT4: king grass silage with 5% salt and 5% molasses. All silages were prepared using plastic jars (5kg) and incubated at room temperature (25 - 30°C) for 90 days. Silages were analyzed for fermentation characteristics and microbial diversity. The result confirmed that king grass ensiled with molasses (CT2, CT3) had good fermentation characteristics compared with control and CT1 group. The silage (CT2 & CT3) showed golden yellow color, pleasant and acidic smell, no viscosity, and no mold growth with pH value below 4,2 (3.98 - 4.18). DM and crude protein were reduced by 1.15 % and 0.35% respectively. The highest content of lactic acid (1.30 - 1.58%) and the lowest ratio of ammonia nitrogen to the total nitrogen (5.11 - 7.03%) were observed in CT2 and CT3. The microbial diversity in silages indicated that there was a highest population of lactic acid bacteria in CT2 and CT3 (194.17×10^6 - 316.33×10^6 CFU/g). The number of *Bacillus* sp. and *Clostridium* sp. mold and yeast were highest in control and CT1 ($P < 0,05$).

Keywords: King grass (*Pennisetum purpureum*), silage, microbial flora, lactic acid bacteria.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ủ chua là một trong những biện pháp phổ biến và được sử dụng rộng rãi nhất để chế biến, bảo quản thức ăn thô xanh cũng như các phụ phẩm nông nghiệp như rơm lúa tươi, thân lá

ngô... trong chăn nuôi gia súc nhai lại. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, kỹ thuật chế biến thức ăn thô xanh và phụ phẩm nông nghiệp có hàm lượng carbohydrate dễ lên men thấp bằng phương pháp ủ chua truyền thống trong rất nhiều trường hợp không đem lại

hiệu quả như mong muốn. Lý do chủ yếu là sự cạnh tranh cơ chất lên men của các chủng vi sinh vật không mong muốn với vi khuẩn lên men lactic sẵn có trong vật liệu ủ, đặc biệt là các loài *Clostridia*, *Enterobacteria*, nấm men và nấm mốc. Sự hiện diện của những loài này làm biến đổi tính chất vật lý, hóa học và giá trị dinh dưỡng của hỗn hợp ủ theo xu hướng không có lợi theo thời gian bảo quản và làm giảm hiệu quả sử dụng thức ăn ở vật nuôi. Vì vậy, để có thể kiểm soát chất lượng thức ăn ủ chua truyền thống, việc nghiên cứu mối liên hệ giữa chất lượng thức ăn ủ với sự biến đổi của hệ vi sinh vật trong quá trình ủ là rất cần thiết. Bài viết này trình bày kết quả đánh giá chất lượng và sự biến đổi thành phần các nhóm vi sinh vật trong quá trình ủ chua cỏ voi.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu: Cỏ voi (*Pennisetum purpureum*) tái sinh 40 ngày tuổi, được thu cắt từ xã Phù Đồng, Gia Lâm; Các chất bổ trợ: rỉ mật đường, muối; Các môi trường nuôi cấy, phân lập vi sinh vật: MRS (de Man *et al.*, 1960), LB agar (Atlas, 1993), Hansen (Nguyễn Lâm Dũng, 1978).

2.2. Bố trí thí nghiệm

Cỏ voi tươi sau khi thu cắt được chặt ngắn 3 - 5 cm, phơi héo, trộn chất bổ trợ, cho vào túi nilon và ủ trong bình nhựa 5 kg theo các công thức sau:

ĐC1: Cỏ voi được ủ chua tự nhiên không có chất bổ trợ

TN1: Cỏ voi + 0,5% muối ăn

TN2: Cỏ voi + 5% rỉ mật

TN3: Cỏ voi + 0,5% muối ăn + 5% rỉ mật

Mỗi công thức ủ 9 bình. Nguyên liệu được nén chặt để đảm bảo yếm khí. Các bình được để ở nhiệt độ phòng 25 - 30°C (từ tháng 5 - 7/2015). Các chỉ tiêu về chất lượng và vi sinh vật được đánh giá ở thời điểm 0, 30, 60 và 90 ngày ủ: đánh giá cảm quan, pH, hàm lượng axit hữu cơ, protein thô và N - NH₃. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3. Đánh giá các chỉ tiêu theo dõi

a. Thành phần hóa học của cỏ voi

- Lấy mẫu theo TCVN 4325 - 2007. Mẫu được phân tích tại Phòng thí nghiệm trung tâm, Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

- Vật chất khô phân tích theo TCVN 4326 - 2007. Protein thô phân tích theo TCVN 4328 - 2001. Xơ thô phân tích theo TCVN 4329 - 2007. Lipid phân tích theo TCVN 4331 - 2007. Khoáng tổng số phân tích theo TCVN 4331 - 2007. Hàm lượng đường được phân tích bằng máy Micro Phazir AG (Thermo Scientific).

b. Đánh giá chỉ tiêu chất lượng

- Độ mốc hỏng: Đánh giá tại các thời điểm 30, 60 và 90 ngày ủ.

+: Mốc chỉ phát hiện ở < 1 cm trên bề mặt bình ủ ; ++: Mốc trên bề mặt từ 1 - 3 cm và +++: Mốc trên bề mặt > 3 cm

- Giá trị pH: Giá trị pH của thức ăn ủ chua được xác định theo phương pháp Hristov *et al.* (2000) và được đo bằng máy đo pH (Mettler Toledo). Giá trị lấy 3 lần đo.

- Nitơ amoniac (N - NH₃): xác định theo phương pháp Kjeldahl.

- Các axit hữu cơ: axit lactic, axit axetic, axit butyric được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) tại Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia.

c. Đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật

- Chuẩn bị mẫu được tiến hành theo TCVN 6507:1999.

- Số lượng vi khuẩn lactic, *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., nấm men, nấm mốc theo phương pháp pha loãng nồng độ và đếm khuẩn lạc trên thạch đĩa.

- Định danh sơ bộ đến giống được tiến hành theo khóa phân loại Bergely (1996).

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai một nhân tố. Giá trị trung bình được so sánh sử dụng Tukey test với bảng tính Excel 2010 và phần mềm Minitab 14.

Mô hình ANOVA tổng quát sau:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Trong đó: X_{ij} : giá trị quan sát thứ j của yếu tố thí nghiệm i ;

μ : trung bình tổng thể;

α_i : ảnh hưởng của yếu tố thí nghiệm;

e_{ij} : sai số ngẫu nhiên.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của cở voi

Cở voi được thu cất ở 40 ngày và lấy mẫu để phân tích thành phần hóa học trước khi làm thí nghiệm. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Kết quả phân tích cho thấy, cở voi có hàm lượng VCK thấp 12,59%. Theo Muck và Dickerson (1998), để đảm bảo chất lượng thức ăn ủ chua thì hàm lượng vật chất khô của nguyên liệu phải đạt từ 30 - 36%. Vì vậy để đảm bảo chất lượng ủ các nguyên liệu sau khi thu cất vào buổi sáng được trải ra nền sạch, tãi mỏng, phơi héo nhằm làm giảm hàm lượng nước.

Các mẫu cở voi được thu cất ở 40 ngày tuổi có hàm lượng protein thô là 11,67%, xơ thô 25,23%, khoáng tổng số 8,37%, lipid tổng số chiếm 1,99% và hàm lượng đường chiếm 9,15%. Kết quả này cũng tương tự như các kết quả đã được công bố về thành phần dinh dưỡng của cở voi của Bùi Quang Tuấn và cs. (2006), Đinh Văn Mười (2012). Theo Piltz và Keiser (2006) hàm lượng carbohydrate hòa tan (WSC) của nguyên liệu phải > 2,5% (vật chất tươi) mới đảm bảo cho quá trình lên men tốt. Nếu hàm lượng WSC < 2,5% thì nguyên liệu cần phải được phơi héo trước khi ủ.

3.2. Đánh giá chất lượng cở voi ủ chua

a. Đánh giá cảm quan

Cở voi ủ chua được đánh giá cảm quan dựa trên các tiêu chí: màu sắc, trạng thái, mùi, độ mốc. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Sau 90 ngày ủ, chất lượng cảm quan của các công thức ủ đã có sự khác biệt. Cụ thể, ở công thức ĐC và ủ muối CT1 cở voi có màu nâu sậm, mềm ướt dính. Mốc lông trắng phát triển trên bề mặt bình ủ và có xu hướng lan xuống dưới.

Cở voi có mùi chua nồng, hắc khó chịu. Hai công thức ủ với rỉ mật CT2 và CT3 có chất lượng cở voi về cảm quan tốt nhất (cở voi mềm, màu vàng nâu không ướt dính và không mốc; cở voi có mùi chua axit nhưng vẫn thơm mùi rỉ mật, không có mùi khó chịu). Các nghiên cứu của các tác giả khác cũng cho thấy, việc bổ sung rỉ mật với tỉ lệ 5 - 6% có chất lượng sản phẩm ủ chua tốt nhất và đồng thời bổ sung nguồn năng lượng cho bò (Bùi Xuân An, 1998; Đoàn Đức Vũ và cs., 2008).

Việc bổ sung muối với tỷ lệ 0,5% trong quá trình ủ không cho kết quả sai khác rõ rệt về chất lượng cảm quan khi so sánh với ủ chua truyền thống không có chất bổ trợ.

b. Biến động hàm lượng VCK, pH, protein thô và nitơ amoniac ($N - NH_3$)

Kết quả đánh giá sự biến động hàm lượng VCK, pH, protein thô và $N - NH_3$ của các công thức cở voi ủ chua được trình bày ở bảng 3.

Sau 30 ngày ủ, các công thức ủ với rỉ mật giá trị pH đã giảm đến mức an toàn cho chất lượng cở voi ủ chua ($pH \leq 4,2$) và tiếp tục giảm đến 90 ngày ủ, đạt 3,89 ở CT2 và 4,09 ở CT3. Trong khi đó, giá trị pH của công thức ĐC và CT1 có xu hướng tăng lên lần lượt là 4,42 và 4,34. Kết quả này chứng tỏ quá trình lên men lactic đã ngừng lại do giảm số lượng vi khuẩn lactic trong bình ủ. Ở công thức ĐC và CT1, sự tăng giá trị pH đã giúp các vi sinh vật gây hư hỏng thức ăn ủ tăng cường hoạt động. Chất lượng thức ăn của hai công thức ủ này kém hơn so với công CT2 và CT3. Nấm mốc cũng bắt đầu phát triển ở công thức ĐC sau 30 ngày ủ và ở CT1 sau 60 ủ.

Kết quả biến động hàm lượng VCK cho thấy, sau 90 ngày ủ, hàm lượng VCK hao hụt thấp nhất ở các công thức ủ với rỉ mật là CT2 với 2,49% (giảm từ 22,32% xuống 19,83%) và CT3 với 2,71%.

Về hàm lượng protein thô, sau 90 ngày ủ protein thô hao hụt thấp nhất ở CT2 với 0,98% (giảm từ 11,27% xuống 10,29%), tiếp đến là công thức CT3 với 1,24%. Hai công thức ủ ĐC và CT1 tỷ lệ hao hụt protein cao hơn là 1,41% và 1,6%. Như vậy cở voi ủ rỉ mật có ưu thế hơn về việc giảm sự mất mát hàm lượng protein thô theo thời gian bảo quản.

Bảng 1. Kết quả xác định thành phần hóa học của cỏ voi trước khi ủ chua (n = 3)

Chỉ tiêu phân tích	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
VCK (%)	12,59 ± 0,34	12,27	12,94
Protein thô (% VCK)	11,67 ± 1,22	10,36	12,76
Xơ thô (% VCK)	25,23 ± 1,15	24,01	26,28
Lipid (% VCK)	1,99 ± 0,55	1,46	2,56
Khoáng tổng số (% VCK)	8,37 ± 0,75	7,63	9,12
Đường (% VCK)	9,15 ± 1,11	8,04	10,26

Bảng 2. Đánh giá chất lượng cỏ voi ủ chua trong thời gian bảo quản (n = 3)

Công thức ủ	Chỉ tiêu đánh giá	30 ngày	60 ngày	90 ngày
ĐC	Màu sắc	Màu vàng nâu nhạt	màu nâu vàng sậm	màu nâu cánh gián
	Mùi, trạng thái	Chua nhẹ, mùi cỏ; Cỏ mềm	Chua axit nồng; cỏ mềm ướt	chua dầm, nồng hắc; cỏ mềm, ướt dính
	Độ mốc	+	+	+
CT1	Màu sắc	Màu vàng nâu nhạt	Màu vàng nâu sậm	Vàng nâu cánh gián
	Mùi, trạng thái	Mùi chua nhẹ; cỏ mềm	Mùi chua axit; cỏ mềm, ướt	Chua dầm nồng, gắt; cỏ mềm, ướt dính
	Độ mốc	-	+	+
CT2	Màu sắc	Vàng nâu nhạt	Nâu vàng sậm	Nâu vàng sậm
	Mùi, trạng thái	Mùi chua nhẹ; thơm mùi cỏ, rĩ mật; cỏ mềm	Chua nhẹ; thơm mùi cỏ, cỏ mềm, khô	Chua axit; cỏ mềm, khô
	Độ mốc	-	-	-
CT3	Màu sắc	Màu vàng nâu nhạt	Màu vàng nâu sậm	Màu vàng nâu sậm
	Mùi	Mùi chua nhẹ; cỏ mềm	Mùi chua axit; cỏ mềm, khô	chua axit, nồng; cỏ khô mềm
	Độ mốc	-	-	-

Bảng 3. Biến động hàm lượng VCK, pH, protein thô và N - NH₃ của cỏ voi ủ chua (n = 3)

Thời gian ủ (ngày)	Công thức ủ	pH $\bar{X} \pm SD$	VCK (%) $\bar{X} \pm SD$	Protein (% VCK) $\bar{X} \pm SD$	N - NH ₃ (% N tổng số) $\bar{X} \pm SD$
0		6,3 ± 2,26	22,32 ± 0,51	11,27 ± 0,12	
30	ĐC	4,72 ± 0,31	20,04 ± 0,35	10,53 ± 0,36	8,83 ^a ± 0,16
	CT1	4,57 ± 0,34	19,95 ± 0,39	10,37 ± 0,34	8,02 ^a ± 0,23
	CT2	4,13 ± 0,42	21,89 ± 0,42	10,76 ± 0,22	5,25 ^b ± 0,05
	CT3	4,28 ± 0,40	21,56 ± 0,37	10,64 ± 0,28	5,41 ^b ± 0,08
60	ĐC	4,37 ± 0,56	18,36 ± 0,31	10,25 ± 0,19	10,67 ^a ± 0,30
	CT1	4,25 ± 0,71	18,13 ± 0,52	10,23 ± 0,31	11,24 ^a ± 0,18
	CT2	4,02 ± 0,27	20,54 ± 0,34	10,58 ± 0,23	5,33 ^b ± 0,06
	CT3	4,17 ± 0,23	20,71 ± 0,36	10,46 ± 0,24	5,68 ^b ± 0,10
90	ĐC	4,42 ± 0,28	17,76 ± 0,23	9,86 ± 0,15	11,34 ^a ± 0,29
	CT1	4,34 ± 0,29	17,45 ± 0,22	9,67 ± 0,18	12,57 ^a ± 0,54
	CT2	3,89 ± 0,19	19,83 ± 0,41	10,29 ± 0,31	6,42 ^b ± 0,13
	CT3	4,09 ± 0,28	19,61 ± 0,47	10,03 ± 0,43	7,03 ^b ± 0,32

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột ở cùng giai đoạn có mũ chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05)

Qua kết quả bảng 3 có thể thấy hàm lượng N-NH₃ thấp nhất ở các công thức ủ với rỉ mật là CT2 và CT3 trong suốt quá trình ủ. Cụ thể: hàm lượng N-NH₃ của CT2 và CT3 ở giai đoạn 30 ngày ủ là 5,25% và 5,41%; ổn định ở giai đoạn 60 ngày ủ (5,33% và 5,68%) và tăng không đáng kể ở giai đoạn 90 ngày ủ (6,42 và 7,03%). Theo Kung và Shaver (2001), thức ăn ủ chua đạt chất lượng tốt khi hàm lượng N-NH₃ < 10% N tổng số đối với cở ủ chua. Như vậy, có thể thấy các công thức ủ với rỉ mật trong nghiên cứu này hàm lượng N-NH₃ đều nằm trong ngưỡng mong đợi. Trong khi đó công thức ủ với muối CT1 và ĐC, hàm lượng N-NH₃ xác định ở giai đoạn 60 - 90 ngày ủ đều cao hơn mức 10%. Sự sai khác về hàm lượng N-NH₃ giữa các công thức là có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$.

Như vậy, việc bổ sung rỉ mật đường đã tạo điều kiện cho vi khuẩn lactic phát triển tốt hơn và tạo sinh khối vật chất khô lớn hơn so với các công thức bổ sung muối và đối chứng.

c. Sự biến động hàm lượng các axit hữu cơ

Bên cạnh chỉ số pH, hàm lượng các axit hữu cơ trong thức ăn ủ chua là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng lên men. Kết quả phân tích hàm lượng các axit hữu cơ trong cở voi ủ chua được trình bày trong bảng 4.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy:

Vào thời điểm 30 ngày sau khi ủ, hàm lượng axit lactic có trong cở ủ rỉ mật cao hơn ở cở ủ muối và đối chứng. Ở CT2 và CT3 hàm lượng axit lactic là 1,30% và 1,25% cao hơn CT2 và ĐC

0,3%. Sự sai khác này có ý nghĩa thống kê với $P < 0,001$. Điều này có thể giải thích: khi các công thức ủ không được bổ sung giống khối động để tăng mật độ các vi khuẩn lactic trong vật liệu ủ thì việc bổ sung rỉ mật là điều kiện rất thuận lợi cho các vi khuẩn lên men lactic hoạt động, vì chúng đều là các carbohydrate dễ lên men. Hàm lượng axit axetic của các công thức ủ dao động từ 0,04 - 0,21%, thấp nhất ở công thức ủ rỉ mật CT2 và cao nhất ở công thức đối chứng ĐC. Trong khi đó, axit butyric chỉ phát hiện thấy ở ĐC và CT1.

Ở giai đoạn 60 ngày ủ, hàm lượng các axit hữu cơ có xu hướng tăng rõ rệt so với giai đoạn 30 ngày ủ. Cụ thể: CT2 và CT3 có hàm lượng axit lactic đạt cao nhất (1,42% và 1,36%), hàm lượng axit axetic thấp nhất (0,12% và 0,16%) và không phát hiện thấy axit butyric. Ở công thức ĐC và CT1, hàm lượng axit lactic hầu như không tăng trong khi đó axit axetic tăng rõ rệt đạt 0,28 - 0,32%. Axit butyric cũng được phát hiện ở công thức ĐC và CT1 với tỷ lệ tương ứng là 0,025 và 0,034%. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả đánh giá chất lượng cảm quan của các công thức ủ này: cở có mùi dấm chua nồng, bề mặt ướt màu nâu vàng sậm.

Sau 90 ngày ủ, cở ở công thức ủ rỉ mật CT2 và CT3 có hàm lượng axit lactic đạt cao nhất 1,48% và 1,44%, hàm lượng axit axetic thấp nhất 0,18 - 0,20%. CT2 và ĐC có hàm lượng axit butyric cao nhất là 0,059% và 0,051% ở 90 ngày ủ. Như vậy, có thể thấy rằng các công thức ủ với

Bảng 4. Biến động hàm lượng các axit hữu cơ của cở voi ủ chua

CT ủ	Hàm lượng axit hữu cơ (%) n=3								
	30 ngày			60 ngày			90 ngày		
	a. lactic	a. acetic	a. butyric	a. lactic	a. acetic	a. butyric	a. lactic	a. acetic	a. butyric
ĐC	0,92 ^a	0,21 ^a	0,0021	0,96 ^a	0,32 ^a	0,025 ^a	0,97 ^a	0,36 ^a	0,051 ^a
CT1	0,97 ^a	0,18 ^a	0,0042	1,02 ^a	0,28 ^a	0,034 ^a	1,08 ^a	0,38 ^a	0,059 ^a
CT2	1,30 ^b	0,04 ^b	Kph	1,42 ^b	0,12 ^b	kph	1,48 ^b	0,18 ^b	Kph
CT3	1,25 ^b	0,08 ^b	Kph	1,36 ^b	0,16 ^b	kph	1,44 ^b	0,20 ^b	0,003 ^b
SEM	0,087	0,040		0,107	0,046	0,003 ^b	0,117	0,052	0,012
P	< 0,001	< 0,001		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột ở cùng giai đoạn có mũ chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$); Kph: không phát hiện thấy

ri mật có chất lượng thức ăn ủ tốt nhất được biểu hiện qua đánh giá cảm quan và cả các chỉ tiêu phân tích.

3.3. Sự biến động các nhóm vi sinh vật trong quá trình ủ chua cỏ voi

Kết quả đánh giá sơ bộ thành phần hệ VSV có mặt trong cỏ voi ủ chua được trình bày ở bảng 5.

Hệ vi sinh vật có mặt trong cỏ voi ủ chua thí nghiệm gồm các chủng loại: vi khuẩn lactic, trực khuẩn *Bacillus*, *Clostridium*, nấm men và nấm mốc. Trong số đó, số lượng vi khuẩn lactic chiếm đa số ở tất cả các công thức ủ. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả đánh giá chất lượng cỏ voi ủ chua ở trên. Số lượng vi khuẩn lactic đều đạt $> 10^8$ TB/g, đảm bảo cho quá trình lên men ở các công thức ủ. Tuy nhiên, so sánh giữa các công thức ủ có thể thấy rằng, công thức ủ với ri mật CT2 và CT3 có số lượng vi khuẩn lactic cao hơn rõ rệt so với ĐC, CT1 ở tất cả các thời điểm lấy mẫu. Sự sai khác này có ý

nghĩa thống kê với $P < 0,05$. Kết quả này đã phản ánh chất lượng ủ của CT2, CT3 tốt hơn rõ rệt so với công thức ĐC, CT1 ở các chỉ tiêu về cảm quan và các chỉ số phân tích.

Số lượng trực khuẩn *Bacillus* đếm được ở CT2 và CT3 thấp hơn rõ rệt so với ĐC, CT1 ($P < 0,05$). Ở lô ĐC và CT1, số lượng *Bacillus* sp. tăng đột biến ở giai đoạn 60 - 90 ngày ủ với số lượng lên đến 2,34 - 2,74 triệu TB/g. Số lượng *Bacillus* cao trong thức ăn ủ chua cao sẽ ảnh hưởng tới chất lượng thức ăn ủ.

Số lượng TB vi khuẩn nhóm yếm khí tuyệt đối *Clostridium* đạt cao nhất ở công thức ĐC và CT1 dao động từ 34,33 - 184,67 nghìn TB/g, cao hơn rõ rệt so với CT2 và CT3 ($P < 0,05$). *Clostridium* sp. tồn tại trong nguyên liệu ủ dưới dạng bào tử và bị ức chế khi pH của nguyên liệu ủ giảm xuống $\leq 4,2$. Có thể thấy, ở các công thức ĐC và ủ với muối CT1, chất lượng ủ chua chỉ đạt mức trung bình đến kém, giá trị pH giảm ít, không đủ để ức chế sinh trưởng của *Clostridium*.

Bảng 5. Thành phần các nhóm VSV trong cỏ voi ủ chua (n = 3)

Chỉ tiêu	ĐC	CT1	CT2	CT3	SEM
30 ngày					
VK lactic (10^6 TB/g)	67,33 ^b	63,50 ^b	194,17 ^a	182,0 ^a	14,94
<i>Bacillus</i> sp. (10^5 TB/g)	2,53 ^a	2,96 ^a	0,36 ^b	0,44 ^b	0,28
<i>Clostridium</i> sp. (10^3 TB/g)	37,33 ^a	34,33 ^a	1,63 ^b	2,07 ^b	3,32
Nấm men (10^3 TB/g)	5,28 ^a	5,13 ^a	0,81 ^b	0,92 ^b	0,56
Nấm mốc (10^3 TB/g)	0,005	0,003	0,00	0,00	0,0
60 ngày					
VK lactic (10^6 TB/g)	138,33 ^b	133,33 ^b	309,67 ^a	269,83 ^a	18,83
<i>Bacillus</i> sp. (10^5 TB/g)	2,71 ^a	2,01 ^a	0,34 ^b	0,54 ^b	0,66
<i>Clostridium</i> sp. (10^3 TB/g)	162,67 ^a	174,33 ^a	2,13 ^b	2,37 ^b	4,85
Nấm men (10^3 TB/g)	5,72 ^a	4,78 ^a	0,87 ^b	0,83 ^b	0,53
Nấm mốc (10^3 TB/g)	1,28	1,05	0,00	0,00	0,34
90 ngày					
VK lactic (10^6 TB/g)	131,5 ^b	128,16 ^b	312,95 ^a	288,83 ^a	17,86
<i>Bacillus</i> sp. (10^5 TB/g)	27,40 ^a	23,42 ^a	3,48 ^b	5,28	3,17
<i>Clostridium</i> sp. (10^3 TB/g)	178,67 ^a	184,67 ^a	3,23 ^b	3,67 ^b	7,95
Nấm men (10^3 TB/g)	6,77 ^a	5,85 ^a	0,97 ^b	1,03 ^b	0,50
Nấm mốc (10^3 TB/g)	2,10	1,90	0,00	0,63	0,56

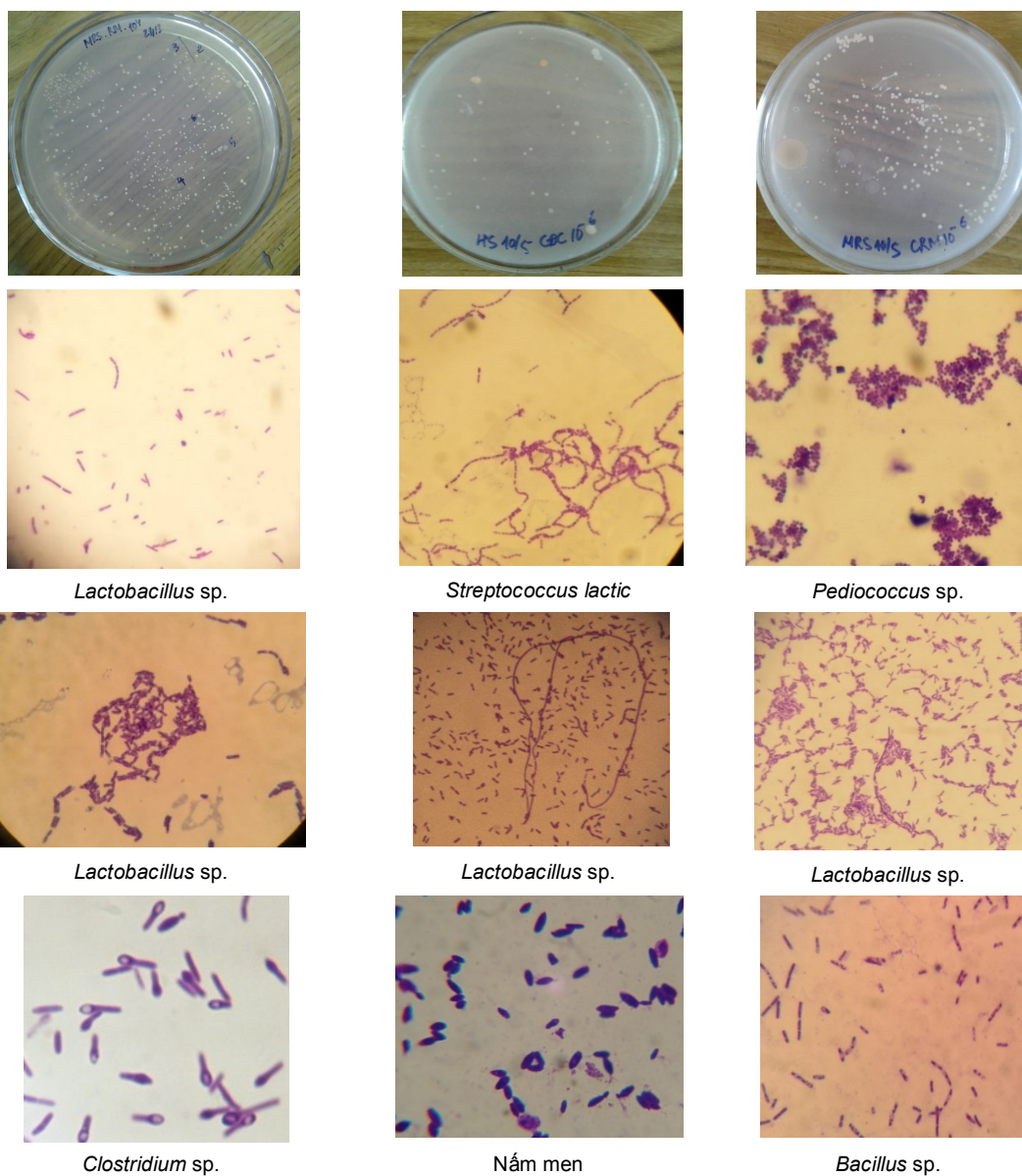
Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột của cùng một nhóm vi sinh vật có mũ chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Trong nghiên cứu này, số lượng nấm men đếm được thấp ở các công thức cở ủ rỉ mật CT2 và CT3, dao động từ 0,81 - 1,03 nghìn TB/g, thấp hơn rõ rệt ($P < 0,05$) so với công thức ĐC và CT1.

Nấm mốc cũng được phát hiện ở 3/4 công thức cở voi ủ chua trừ công thức CT2. Ở công thức ĐC bào tử nấm mốc đếm được ở tất cả các giai đoạn ủ với số lượng tăng dần từ 0,0054 - 2,10 nghìn TB/g. Tương tự như ở CT2, tăng từ 0,0031 - 1,90 nghìn TB/g sau 90 ngày ủ. Riêng công thức ủ CT3, bào tử nấm mốc chỉ được phát

hiện ở giai đoạn 90 ngày ủ với số lượng 0,63 nghìn TB/g.

So sánh sự biến động thành phần các nhóm VSV trong 90 ngày ủ chua cở voi có thể thấy, số lượng VK lactic duy trì ở mức ổn định ở các công thức ủ với rỉ mật và có xu hướng giảm ở các công thức đối chứng và bổ sung muối. Trong khi đó, các nhóm vi sinh vật yếm khí như *Clostridium* và *Bacillus* số lượng tế bào tăng rõ rệt ở các công thức ĐC và công thức bổ sung 0,5% muối.



Hình 1. Một số hình thái của các nhóm vi sinh vật trong mẫu cở voi ủ chua

Sự biến động về số lượng các nhóm vi sinh vật trong các công thức ủ có liên quan chặt chẽ tới chất lượng nguyên liệu ủ. Ở công thức ủ chua với rỉ mật, số lượng vi khuẩn lactic chiếm ưu thế với số lượng đạt cao nhất và ổn định trong suốt thời gian bảo quản 90 ngày. Các kết quả này đã được phản ánh qua chất lượng cảm quan, giá trị pH, hàm lượng các axit hữu cơ, N - NH₃ của công thức ủ với rỉ mật đều tốt hơn so với các công thức ủ còn lại. Nhóm vi sinh vật không mong muốn như *Bacillus*, *Clostridium*, nấm men và nấm mốc sẽ được kiểm soát khi nguyên liệu có chất lượng ủ chua tốt với giá trị pH ≤ 4,2

4. KẾT LUẬN

Sự biến động số lượng nhóm vi khuẩn lactic và nhóm không mong muốn có liên quan chặt chẽ với chất lượng thức ăn ủ chua. Cỏ voi ủ chua với rỉ mật cho thấy chất lượng lên men tốt nhất được thể hiện ở cả các chỉ tiêu đánh giá chất lượng thức ăn ủ chua và cũng như các chỉ tiêu về vi sinh vật như số lượng vi khuẩn lactic cao nhất, số lượng các vi sinh vật không mong muốn (*Bacillus* sp., *Clostridium* sp., nấm men, nấm mốc) thấp nhất. Trong thực tiễn sản xuất có thể sử dụng rỉ mật với tỷ lệ bổ sung 5% để ủ cỏ voi hoặc phối hợp 5% rỉ mật và 0,5% muối để nâng cao chất lượng cỏ ủ chua.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Xuân An (1998). Sử dụng hợp lý dây đậu phộng làm thức ăn cho gia súc nhai lại trên vùng miền Đông Nam Bộ. Luận án Tiến sĩ, Đại học Nông Lâm, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Atlas R.M. (1993). Handbook of Microbiological Media, Ed. by Parks L., CRC Press, Inc.
- Đinh Văn Mười (2012). Nghiên cứu xác định tỷ lệ tiêu hoá, giá trị dinh dưỡng và xây dựng phương trình chẩn đoán các giá trị này của một số loại thức ăn dùng cho gia súc nhai lại, Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Viện Chăn nuôi.
- Bùi Quang Tuấn, Vũ Duy Giảng, Nguyễn Trọng Tiến, Nguyễn Xuân Trạch, Tôn Thất Sơn (2006). Ủ chua thân cây ngô sau thu bắp làm thức ăn cho bò sữa tại Đan Phượng, Hà Tây cũ. Tạp chí Chăn nuôi, 2: 18 - 21.
- De Man J.D., Rogosa M., Sharpe M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of *Lactobacilli*". J Appl Bact., 23: 130 - 135.
- Đoàn Đức Vũ, Đặng Phước Chung và Nguyễn Thị Hiệp (2008). Nghiên cứu kỹ thuật ủ chua thân đậu phộng (lạc) làm thức ăn cho bò sữa, bò thịt. Tạp chí Chăn nuôi, 6: 21 - 25.
- Hristov, A. N., T. A. McAllister and K. J. Cheng (2000). Intraruminal supplementation with increasing rates of exogenous polysaccharide degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. J. Anim. Sci., 78: 477 - 487.
- Kung L. and R. Shaver (2001). Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. Focus on Forage, University of Wisconsin Extension, 3(13): 1 - 5.
- Muck R. E. and J. T. Dickerson (1988). Storage temperature effects on proteolysis in alfalfa silage. Transactions of the ASAE, 31(4): 1005 - 1009.
- Piltz J. W. and Kaiser A. G. (2006). Principles of silage preservation. In: Successful silage (TopFodder silage manual). NSW Department of Primary Industries, pp. 25 - 56.