

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HỒ CHÍ MINH

ĐỀ CƯƠNG NGHIÊN CỨU

**ẢNH HƯỞNG CỦA AXIT HỮU CƠ VÀ KHẢ NĂNG TRUNG HÒA
AXIT CỦA KHẨU PHẦN ĐẾN TĂNG TRƯỞNG
VÀ SỨC KHỎE HEO CON SAU CAI SỮA**

Họ và tên: PHAN NGỌC QUÍ

Khóa: 2010 – 2012

Chuyên ngành: Chăn nuôi

Mã số ngành: 606240

Thành phố Hồ Chí Minh - Tháng 10/2012

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HỒ CHÍ MINH

ĐỀ CƯƠNG NGHIÊN CỨU

**ẢNH HƯỞNG CỦA AXIT HỮU CƠ VÀ KHẢ NĂNG TRUNG HÒA
AXIT CỦA KHẤU PHẦN ĐẾN TĂNG TRƯỞNG
VÀ SỨC KHỎE HEO CON SAU CAI SỮA**

Cán bộ hướng dẫn: TS. CHÉ MINH TÙNG

PGS.TS. NGUYỄN NGỌC HẢI

Học viên thực hiện: PHAN NGỌC QUÍ

Khóa: 2010 – 2012

Chuyên ngành: CHĂN NUÔI

Thành phố Hồ Chí Minh - Tháng 10/2012

MỤC LỤC

MỤC LỤC.....	i
DANH SÁCH CÁC TỪ VIẾT TẮT.....	iv
DANH SÁCH CÁC BẢNG, HÌNH.....	v
MỞ ĐẦU.....	1
Đặt vấn đề.....	1
Mục tiêu.....	2
Yêu cầu.....	2
Chương 1 TỔNG QUAN	4
1.1 Khả năng trung hòa axit của thức ăn chăn nuôi.....	4
1.1.1 Khái niệm về khả năng trung hòa axit của thức ăn	4
1.1.2 Ý nghĩa của khả năng trung hòa axit	4
1.1.3 Yếu tố ảnh hưởng đến ABC của thức ăn chăn nuôi	6
1.2 Hoạt động tiêu hóa trên heo con giai đoạn cai sữa	7
1.2.1 pH dạ dày và tầm quan trọng đối với heo con cai sữa	7
1.2.2 Hoạt động của enzyme tiêu hóa khi cai sữa	8
1.2.3 Hệ VSV đường tiêu hóa	9
1.3 Các chất axit hóa trong dinh dưỡng động vật	12
1.3.1 Định nghĩa	12
1.3.2 Cơ chế tác dụng của chất axit hóa trong dinh dưỡng động vật	13
1.3.2.1 Giảm pH trong dạ dày	13
1.3.2.2 Giảm số lượng vi khuẩn gây bệnh	15
1.3.2.3 Là nguồn năng lượng trong dạ dày-ruột	18
1.3.2.4 Giảm tốc độ làm trống dạ dày	18
1.3.2.5 Kích thích sự phân tiết enzyme nội sinh và hình thái của dạ dày-ruột.....	19

1.3.2.6 Cải thiện hấp thu chất khoáng	19
1.3.2.7 Kích thích hoạt động biến dưỡng trung gian	20
1.3.3 Các yếu tố ảnh hưởng hiệu quả sử dụng chất axit hóa	20
1.3.3.1 Đặc tính và mức độ của chất axit hóa sử dụng	21
1.3.3.2 Thành phần và tính chất của khẩu phần	22
1.3.3.3 Đối tượng động vật sử dụng	23
1.3.3.4 Các yếu tố khác	24
Chương 2 NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	25
2.1 Thời gian và địa điểm	25
2.2 Nội dung nghiên cứu	25
2.2.1 Nội dung 1: Khảo sát ABC, BUF của thực liệu và TATM cho heo con SCS và sự liên hệ giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần.	25
2.2.2 Nội dung 2: Đánh giá ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến khả năng tăng trưởng và sức khỏe của heo con SCS.	25
2.3 Phương pháp nghiên cứu.....	25
2.3.1 Khảo sát ABC và BUF của thực liệu và TATM cho heo con SCS và sự liên hệ giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần	25
2.3.2 Đánh giá ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến tăng trưởng và sức khỏe của heo con SCS	28
2.4 Phương pháp đo lường, lấy mẫu và theo dõi các chỉ tiêu	30
2.4.1 Đo lường ABC và BUF của thực liệu và TATM	30
2.4.2 Phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan giữa ABC-LT và ABC-TT	31
2.4.3 Tăng trọng hàng ngày, tiêu thụ thức ăn hàng ngày và hệ số chuyển hóa thức ăn	31
2.4.4 Tỷ lệ tiêu chảy và tần suất sử dụng kháng sinh hàng ngày	32

2.4.5 Tỷ lệ nuôi sống	32
2.4.6 Định lượng VSV (<i>E.coli</i> và <i>Clostridium perfringens</i>) trong 1 gam phân và định tính <i>Salmonella</i> trong phân	32
2.4.6.1 Lấy mẫu phân và bảo quản	32
2.4.6.2 Định lượng vi khuẩn <i>E. Coli</i> trong 1 gam phân	32
2.4.6.3 Định lượng vi khuẩn <i>Clostridium perfringens</i> trong 1 gam phân	34
2.4.6.4 Định tính vi khuẩn <i>Salmonella</i> trong phân	36
2.4.7 Đo pH phân	36
2.5 Các công thức tính toán	37
2.6 Phương pháp xử lý số liệu	38
TÀI LIỆU THAM KHẢO	41

DANH SÁCH CÁC TỪ VIẾT TẮT

ACB	Khả năng trung hòa axit
BUF	Độ đệm axit
VSV	Vi sinh vật
TATM	Thức ăn thương mại
SCS	Sau cai sữa
ABC-LT	Khả năng trung hòa axit lý thuyết
ABC-TT	Khả năng trung hòa axit thực tế
HMB	Axit 2-Hydroxy-4-Methylthio Butanoic
ABC-TL	Khả năng trung hòa axit thực liệu
BUF-TL	Độ đệm axit thực liệu

DANH SÁCH CÁC BẢNG, HÌNH

Trang

Bảng 1.1 Ảnh hưởng lứa tuổi đến hoạt lực enzyme tuyến tụy trên heo con.	9
Hình 1.1 Số lượng <i>Lactobacilli</i> và Coliform trong chất chứa hồi tràng heo con trước và sau khi cai sữa lúc 21 ngày.	11
Hình 1.2 Giới hạn pH đối với sự phát triển của vi sinh vật đường ruột.	12
Bảng 1.2 Ảnh hưởng của bổ sung axit vào thức ăn đối với pH chất chứa trong đường tiêu hóa của heo con cai sữa.	14
Bảng 1.3 Ảnh hưởng của axit formic bổ sung trong thức ăn đến số lượng vi khuẩn trong các phần của đường ruột heo con (\log_{10} CFU/g chất chứa).	15
Hình 1.3 Cơ chế kiểm soát nồng độ H^+ nội bào bằng bơm H^+ -ATPase liên kết màng.	16
Hình 1.4 Cơ chế tác động của axit hữu cơ với vi khuẩn nhạy cảm pH (<i>Coliform</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> spp.).	17
Bảng 1.4 Tính chất lý hóa của một số axit hữu cơ và muối.	21
Hình 1.5 Ảnh hưởng của pH lên hoạt tính kháng khuẩn của axit HCl, lactic, formic và 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic.	22
Bảng 2.1 Thực liệu dự định khảo sát.	26
Bảng 2.2 Mẫu thức ăn thương mại cho heo con sau cai sữa.	27
Bảng 2.3 Nhu cầu dinh dưỡng của heo con SCS giai đoạn 28- 56 ngày tuổi.	27
Bảng 2.4 Sơ đồ bố trí thí nghiệm.	29
Bảng 2.5 Nhu cầu dinh dưỡng của heo con SCS giai đoạn 28- 56 ngày tuổi của trại đang áp dụng.	30

MỞ ĐẦU

Đặt vấn đề

Ở giai đoạn cai sữa, heo con rất dễ bị stress. Một trong những yếu tố gây stress cho heo con là sự thay đổi loại thức ăn, từ thức ăn dạng lỏng và ẩm (sữa mẹ) sang thức ăn dạng rắn và khô (khẩu phần), và sự thay đổi đáng kể nhất là thành phần và chất lượng dinh dưỡng. Hậu quả là heo con chậm tăng trưởng, biến dưỡng kém, nguy cơ mắc bệnh đường tiêu hóa cao (đặc biệt là tiêu chảy). Để khắc phục những bất lợi này, việc ưu tiên phải làm là cải thiện tốt thức ăn cho heo con khi cai sữa.

Khả năng tiêu hóa và sử dụng các dưỡng chất cũng như sức khỏe của heo con chịu ảnh hưởng nhiều bởi pH trong đường tiêu hóa. Ở pH thấp, các enzyme tiêu hóa hoạt động tốt hơn, đặc biệt là pepsin chỉ được hoạt hóa khi pH dạ dày thấp. Mức pH dạ dày thấp cũng rất cần thiết để kiểm soát quần thể vi sinh vật (VSV) trong dạ dày: kìm hãm hoạt động của các vi khuẩn gây bệnh (*Salmonella*, *E. coli*), tạo thuận lợi cho vi khuẩn có lợi phát triển (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*...).

Ý tưởng về việc giảm pH trong dạ dày bằng cách bổ sung các axit vào thức ăn hoặc sử dụng thức ăn có khả năng trung hòa axit (ABC - Acid Binding Capacity) hay thức ăn có độ đệm axit (BUF - Acid Buffering Capacity) thấp cũng được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu (Jasaitis và ctv, 1987; Bolduan và ctv, 1988; Lawlor và ctv, 2005). Bổ sung các axit hữu cơ vào thức ăn đã tạo ra các ảnh hưởng tích cực như ức chế được sự phát triển của các VSV gây hại trong đường ruột và thúc đẩy tăng trưởng của heo (Ravindran và Kornegay, 1993; Gabert và Sauer, 1994). Tuy nhiên, ảnh hưởng của axit lên khả năng tăng trưởng của heo biến động rất lớn và không ổn định. Theo Chế Minh Tùng và Quách Tuyết Anh (2011), có nhiều yếu tố tác động lên đáp ứng về tăng trưởng và tiêu hóa dưỡng chất đối với việc bổ sung axit vào thức ăn heo và ABC của thức ăn là một yếu tố đáng chú ý. Do

đó, lựa chọn các thực liệu có ABC thấp để tạo ra khẩu phần có ABC thấp là một giải pháp khả thi. Makkink (2001) đã tổ hợp được khẩu phần có ABC thấp nhưng vẫn đáp ứng được nhu cầu của heo đang tăng trưởng.

ABC của thức ăn chăn nuôi là một khái niệm mới trong dinh dưỡng động vật nên chưa có nhiều nghiên cứu về vấn đề này ở Việt Nam. Người ta quan tâm đến ABC của thức ăn vì nó có thể ảnh hưởng đến sự tiêu hóa và tác dụng của việc bổ sung axit hữu cơ. Những kết quả nghiên cứu đã chứng minh rằng, ABC của thức ăn cao làm tăng pH dạ dày và gây giảm khả năng tiêu hóa thức ăn, phát sinh bệnh đường ruột (Lawlor và ctv, 1994; Blank và ctv, 1999). Ngược lại, ABC của thức ăn thấp sẽ kích thích sự tiêu hóa trên động vật, bởi vì giảm được pH trong dạ dày. Khi đó, sự hoạt hóa quá trình chuyển pepsinogen thành pepsin cao, tối ưu hóa sự phân giải protein và hoạt động phân tiết các enzyme được thuận lợi, do đó sự tiêu hóa tối ưu được đảm bảo. Như vậy, thức ăn có ABC thấp sẽ tốt hơn cho động vật.

Xuất phát từ vấn đề trên, được sự đồng ý của giáo viên hướng dẫn và sự chấp thuận của Hội đồng đào tạo sau đại học Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, chúng tôi thực hiện đề tài: **“Ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến tăng trưởng và sức khỏe heo con sau cai sữa”**.

Mục tiêu

- Khảo sát ABC và BUF của thực liệu và thức ăn thương mại (TATM) cho heo con sau cai sữa (SCS) và xác định mối liên hệ giữa ABC lý thuyết (ABC-LT) và ABC thực tế (ABC-TT).

- Đánh giá ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến tăng trưởng và sức khỏe heo con SCS.

Yêu cầu

- Xác định ABC và BUF của các thực liệu thường dùng tổ hợp khẩu phần thức ăn cho heo con SCS; thức ăn cho heo con SCS thương mại và xác định phương trình hồi qui tuyến tính giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần.

- Thực hiện thí nghiệm trên heo con SCS để xác định ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần lên tăng trưởng, tỷ lệ heo con tiêu chảy, tỷ lệ ngày con tiêu

chảy, tần suất sử dụng kháng sinh, pH phân, số lượng *E. coli*, *Clostridium perfringens* trong 1 gam phân và định tính *Salmonella* trong phân.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1 Khả năng trung hòa axit của thức ăn chăn nuôi

1.1.1 Khái niệm về khả năng trung hòa axit của thức ăn

Có nhiều định nghĩa khác nhau về ABC của thực liệu hay thức ăn. Theo Makkink (2001), ABC là lượng axit HCl 0,1 M cần thiết để làm cho pH của một mẫu 10 gam thực liệu đạt giá trị pH mong muốn (thường là 3-5). ABC còn được xác định bằng tổng lượng axit HCl 1 M cần thiết để phản ứng với 10% thức ăn hoặc thực liệu trong 100 ml dung dịch để đưa pH về giá trị 3-5 (Biomin, 2010). Bolduan (1988) xác định ABC của một thực liệu là số millimole HCl cần để đưa pH của một mẫu 100 gam thực liệu về pH 3.

Theo Lawlor và ctv (2005) định nghĩa ABC của một thực liệu hay thức ăn là lượng axit HCl 0,1 N được tính bằng mili đương lượng (milliequivalents- mEq) để đưa pH của 1 kg thực liệu về mức pH 4 (ABC-4), pH 3 (ABC-3) và định nghĩa về BUF của thực liệu hay thức ăn là lượng axit HCl 0,1 N (mEq) để làm thay đổi 1 đơn vị pH của thực liệu, được tính bằng ABC chia cho tổng số đơn vị pH thay đổi. Đây là định nghĩa cụ thể và rõ ràng nhất nên có thể dùng làm căn cứ khi nghiên cứu về ABC.

Một khẩu phần có ABC thấp thì tốt về mặt thực hành nuôi dưỡng thú non, ABC thấp là yếu tố có lợi để làm giảm sự rối loạn tiêu hóa của thức ăn (Bolduan và ctv, 1988).

1.1.2 Ý nghĩa của khả năng trung hòa axit

ABC của một loại thức ăn quan trọng bởi vì nó có thể ảnh hưởng đến sự tiêu hóa và sức khỏe của động vật. Thức ăn có ABC cao có thể hấp thụ nhiều ion H^+ trong dạ dày, điều đó có nghĩa là pH của dạ dày và phần trước của đường tiêu hóa vẫn sẽ quá cao. Tuy nhiên, pH dạ dày thấp mới cần thiết và quan trọng vì pepsin (enzyme phân giải protein chủ yếu ở dạ dày) chỉ được tạo thành từ sự hoạt hóa

pepsinogen ở pH thấp. Do đó, nếu pH vẫn quá cao thì sự tiêu hóa protein trong dạ dày sẽ gặp khó khăn. Protein chưa được tiêu hóa sẽ xuống phần sau của đường tiêu hóa. Tại manh tràng và kết tràng, sự lên men protein có thể xảy ra, dẫn đến hình thành các amine độc (Makkink, 2001), hậu quả là có thể gây tiêu chảy. Mức pH dạ dày thấp cũng cần thiết để kiểm soát quần thể vi khuẩn trong dạ dày (vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella* và *E. coli*) (Nurse, 1997). Khi pH dạ dày cao, các mầm bệnh có thể sống sót và có cơ hội cao hơn để cư trú trong đường tiêu hóa (Bolduan và ctv, 1988). Như vậy, ABC của thức ăn thấp sẽ góp phần giảm pH trong đường tiêu hóa, từ đó tạo thuận lợi cho sự tiêu hóa thức ăn và kiểm soát vi khuẩn có hại trong đường tiêu hóa, đưa đến hiệu quả cải thiện tăng trưởng và đảm bảo sức khỏe cho vật nuôi.

ABC có ảnh hưởng rõ nhất trên heo con ở giai đoạn ngắn SCS. Ở heo con theo mẹ, khả năng phân tiết axit của dạ dày còn kém và nguồn chủ yếu của axit trong dạ dày là nhờ vi khuẩn lên men lactose trong sữa mẹ thành axit lactic. Vào lúc cai sữa, các nguyên nhân như sự phân tiết axit dạ dày ít, thiếu cơ chất lactose từ sữa mẹ để lên men tạo axit lactic và sự thay đổi thức ăn có thể dẫn đến pH dạ dày tăng cao, thường quá 5 và có thể vẫn còn cao trong nhiều ngày (Kidder và Manners, 1978). Điều đó sẽ làm giảm tiêu hóa thức ăn, thức ăn chưa được tiêu hóa sau đó sẽ bị lên men trong phần sau của ruột và có thể gây ra tiêu chảy. pH cao cũng thuận lợi cho vi khuẩn gây bệnh cư trú và sinh sôi trong đường tiêu hóa để gây bệnh. Do đó, thức ăn cho heo con có ABC thấp sẽ giảm thiểu được những vấn đề trên, giúp heo vượt qua được giai đoạn khó khăn này.

ABC của một khẩu phần hoàn chỉnh có thể được dự đoán nếu biết được ABC của mỗi loại thực liệu trong công thức. Lawlor và ctv (2005) trong một nghiên cứu đã thấy ABC dự đoán và thực tế của khẩu phần heo con cai sữa là rất tương đồng. Điều đó mở ra một triển vọng để có thể tổ hợp các khẩu phần sử dụng các nguyên liệu thích hợp sao cho khẩu phần đạt được có ABC thấp như mong muốn. Các khẩu phần như vậy có thể ứng dụng khi gặp vấn đề về pH dạ dày cao (ví dụ: khi cai sữa). Đó cũng được xem như một phần trong giải pháp giảm *E. coli* hay *Salmonella* spp.

trên heo lớn. Điều này đặc biệt quan trọng bởi vì lệnh cấm sử dụng chất kháng sinh trong thức ăn động vật hiện nay do những lo ngại về tồn dư chất kháng sinh trong sản phẩm và vi khuẩn đề kháng với kháng sinh bắt nguồn từ động vật.

1.1.3 Yếu tố ảnh hưởng đến ABC của thức ăn chăn nuôi

ABC của một khẩu phần phụ thuộc vào thành phần thực liệu tổ hợp nên. Tuy nhiên, các thực liệu lại có ABC khá biến động. Sự khác biệt xảy ra giữa các nhóm thực liệu và cả trong cùng nhóm. Theo Jasaitic và ctv (1987), các thực liệu cung năng lượng có ABC thấp nhất; thực liệu có hàm lượng protein thô 15 - 35% thì có ABC trung bình và thực liệu có hàm lượng protein thô lớn hơn 35% thì có ABC cao hơn. Partanen và Mroz (1999) cho rằng ngũ cốc và các sản phẩm từ ngũ cốc có ABC thấp nhất, thực liệu cung protein có ABC từ trung bình đến cao, khoáng là nguyên liệu có ABC cao nhất ngoại trừ monocalcium phosphate. Levic và ctv (2005) nhận thấy hai khẩu phần cho heo có cùng giá trị dinh dưỡng nhưng giá trị đệm của hai khẩu phần khác nhau do thành phần hóa học của các thực liệu khác nhau. Các tác giả này cũng đề xuất ABC phù hợp trong khẩu phần heo con tập ăn là 0 - 5 ml HCl 1 M, heo con SCS là 5 - 10 ml HCl 1 M, heo nuôi thịt là 10 - 20 ml HCl 1 M.

Xét đến các thực liệu hữu cơ, là nhóm chiếm tỉ lệ cao trong các khẩu phần, ABC của chúng tương quan thuận với thành phần protein và khoáng của chúng (Jasaitis và ctv, 1987; Bolduan và ctv, 1988). Prohaszka và Baron (1980) cũng thấy ABC-3 của một thức ăn tăng lên khi tăng thành phần protein của nó. Protein ảnh hưởng đến ABC của thức ăn bởi vì sự có mặt của các nhóm NH_3 trong cấu tạo của chúng.

Thành phần khoáng trong thực liệu là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến ABC. Theo Jasaitis và ctv (1987), hàm lượng ion khoáng trong thực liệu thực vật ảnh hưởng bởi điều kiện địa lý, mùa, độ màu mỡ đất và giai đoạn sinh trưởng của cây. Điều này giải thích vì sao có sự khác biệt ABC trong cùng một loại thực liệu. Cũng theo các tác giả này, các chất bổ sung khoáng có ABC cao hơn các thực liệu hữu cơ và các khoáng carbonate và hóa trị II hay III có ABC cao nhất. Lawlor và

ctv (2005) nhận thấy những chất khoáng kiềm tính (ví dụ: calcium carbonate) có ABC cao so với chất khoáng có tính axit (ví dụ: dicalcium phosphate, calcium sulfate, calcium formate). Như vậy để bổ sung khoáng trong khẩu phần thì các chất khoáng có tính axit sẽ có lợi hơn về mặt ABC. Bolduan (1988) nhận thấy rằng khi tăng thành phần khoáng trong khẩu phần từ 0 - 4% làm tăng giá trị ABC-4 lên gấp 3 lần. Vì lý do này, Bolduan và ctv (1988) đề nghị nên giới hạn thành phần khoáng trong khẩu phần heo con cai sữa trong một thời gian ngắn sau khi cai sữa. Điều này sẽ có lợi cho sức khỏe của heo con vì giảm được ABC của thức ăn. Tuy nhiên, bất lợi có thể xảy ra là tăng trọng của heo con sẽ bị giảm một mức nào đó vì nhu cầu khoáng cho việc tạo xương không được đáp ứng đủ, đặc biệt nếu thời gian giới hạn khoáng kéo dài.

1.2 Hoạt động tiêu hóa trên heo con giai đoạn cai sữa

1.2.1 pH dạ dày và tầm quan trọng đối với heo con cai sữa

Cai sữa là một quá trình không thể tránh khỏi nhiều yếu tố gây stress cho heo con, trong đó có thức ăn bị chuyển từ sữa mẹ dễ tiêu sang thức ăn khẩu phần khó tiêu hóa hơn. Hơn nữa, vì lúc này hệ tiêu hóa phát triển chưa hoàn chỉnh nên heo con thường không sản xuất đủ HCl trong dạ dày để hỗ trợ tiêu hóa thức ăn. Theo Easter (1988), heo con theo mẹ có một số phương pháp tự nhiên để vượt qua những khó khăn khi phân tiết không đủ axit. Cách chủ yếu là chuyển lactose trong sữa mẹ thành axit lactic nhờ có vi khuẩn *Lactobacilli* thường trú trong dạ dày. Bởi vì heo con đột ngột bị giảm nguồn cơ chất để sản xuất axit lactic sau khi cai sữa nên dẫn đến mức pH tăng cao trong dạ dày. Kết quả là pH cao này không thích hợp cho hoạt động của một số enzyme tiêu hóa như là pepsin. Taylor (1959) đã báo cáo rằng pepsin có hai mức pH tối ưu (2 và 3,5), hoạt tính của nó giảm khi pH > 3,6 và mất hoạt tính ở pH > 6.

Ravidran và Kornegay (1993) đã chứng minh một số ảnh hưởng bất nguồn từ pH cao trong dạ dày. Thứ nhất, pH cao không thích hợp cho hoạt động của pepsin trong dạ dày nên protein thức ăn có thể xuống ruột non mà chưa được tiêu hóa hoàn toàn, cuối cùng làm giảm hiệu quả tiêu hóa protein. Thứ hai, các sản phẩm từ sự

tiêu hóa bằng pepsin cũng kích thích tuyến tụy tiết enzyme phân giải protein và axit dạ dày là nguyên nhân chủ yếu kích thích sự phân tiết bicarbonate từ tuyến tụy. Cuối cùng, thức ăn không được lưu lại dạ dày lâu để tiêu hóa mà đi vào ruột non nhanh hơn, vì độ axit trong dạ dày đóng một vai trò trong cơ chế hồi phản để điều hòa tốc độ làm trống dạ dày. Như vậy, thức ăn xuống phần sau của đường tiêu hóa mà chưa được tiêu hóa hoàn toàn, vi khuẩn gây bệnh có thể sử dụng để phát triển. Hậu quả cuối cùng là gây tiêu chảy và tăng trưởng kém.

Hơn nữa, môi trường pH cao có thể tạo thuận lợi cho một số loại vi khuẩn, đặc biệt là Coliform (Sissons, 1989). Độ pH dạ dày cao có thể cho phép vi khuẩn có hại sống sót đi qua dạ dày, xâm nhập và phát triển trong ruột, mà đã thấy có liên quan đến tiêu chảy và tăng tỷ lệ chết (Smith và Jones, 1963).

1.2.2 Hoạt động của enzyme tiêu hóa khi cai sữa

Hệ tiêu hóa của heo con trước khi cai sữa đã thích ứng để tiết các enzyme tiêu hóa cần thiết cho sự tiêu hóa sữa chứ không phải cho các loại thức ăn khác, đặc biệt là thức ăn nguồn gốc thực vật. Do đó, hoạt lực của lactase mạnh trong khi lipase và protease chỉ đủ để tiêu hóa chất béo và protein trong sữa. Ngay sau khi cai sữa, hệ tiêu hóa của heo phải thích nghi với một chế độ ăn mới gây ra nhiều khó khăn cho sự phân tiết enzyme tiêu hóa. Theo Cranwell và Moughan (1989), hệ tiêu hóa của heo con phát triển chưa hoàn chỉnh, thậm chí đến 4 tuần tuổi, do đó chúng cần phải trải qua một giai đoạn để phát triển khả năng thích ứng với thức ăn mới. Jensen và ctv (1997) đã thấy có sự giảm hoạt động của enzyme tuyến tụy trên heo cai sữa so với heo con đang theo mẹ. Tại thời điểm cai sữa 28 ngày tuổi, hoạt lực của trypsin giảm đột ngột nhưng sau đó tăng trở lại, 4 tuần sau đó cao gấp 9 lần so với khi cai sữa, chymotrypsin và amylase cũng được thấy có khuynh hướng tương tự (Bảng 1.1)

Bảng 1.1 Ảnh hưởng lứa tuổi đến hoạt lực enzyme tuyến tụy trên heo con*

Tuổi (ngày)	Trypsin	Chymotrypsin	Amylase
	(μmol cơ chất bị thủy phân/phút)		

3	14,6	0,9	2,01
7	22,0	3,5	14,7
14	33,8	4,9	22,0
21	32,1	7,0	26,2
28	55,6	9,5	65,1
35	42,1	3,9	24,4
56	515,0	14,3	128,1

**Heo con cai sữa lúc 28 ngày tuổi* (Nguồn: Jensen và ctv, 1997)

Ở heo con theo mẹ, sự phân tiết HCl ít và nguồn chính để duy trì độ axit trong dạ dày là axit lactic được tạo ra bởi sự lên men lactose trong sữa. Khi đó, mức lactate cao trong dạ dày có khuynh hướng ức chế sự tiết HCl (Cranwell và ctv, 1976). Ngược lại, khi cai sữa heo con ăn thức ăn sẽ làm giảm mức axit lactic tạo thành trong dạ dày nhưng lại kích thích sản xuất HCl (Cranwell và ctv, 1976; Cranwell, 1985). Trong thực tế, giai đoạn cai sữa thường kèm theo một đặc trưng là heo con ăn vào rất ít, có thể kéo dài 1 - 2 tuần. Vì vậy, lượng HCl tự do trong dịch vị rất ít và nhanh chóng liên kết với dịch nhầy, dẫn đến hiện tượng thiếu axit ở dạ dày. Độ đậm của thức ăn cao cũng góp phần gây ra tình trạng trên. Do đó, hoạt động của pepsin và các enzyme tuyến tụy trong dạ dày giảm nên không thể tiêu hóa tốt protein trong thức ăn.

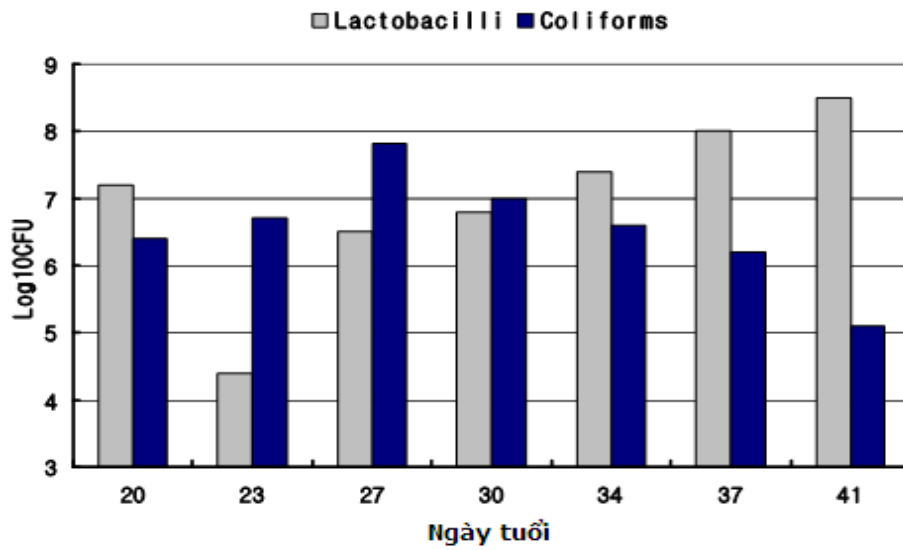
1.2.3 Hệ vi sinh vật đường tiêu hóa

Hệ VSV trong đường tiêu hóa của heo con được hình thành trong vòng 48 giờ sau khi sinh thông qua bú mẹ và liếm láp nền chuồng. Hệ vi sinh này đặc trưng bởi số lượng, mật độ, sự đa dạng và sự tương tác lẫn nhau giữa các loài VSV. Lúc mới sinh, dạ dày heo con là vô trùng, nhưng sau vài giờ *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. được tìm thấy trong dạ dày, tá tràng (Inoue và ctv, 2005). Số lượng VSV đường tiêu hóa ở heo con sơ sinh sau 10 - 12 giờ có thể đạt 10^8 - 10^9 CFU/g phân và ổn định đến 24 - 48 giờ (Ducluzeau, 1983). Tuy nhiên, thành phần

VSV không ổn định, chúng phát triển và thay đổi, đặc biệt là khi heo con cai sữa (Roselli và ctv, 2005).

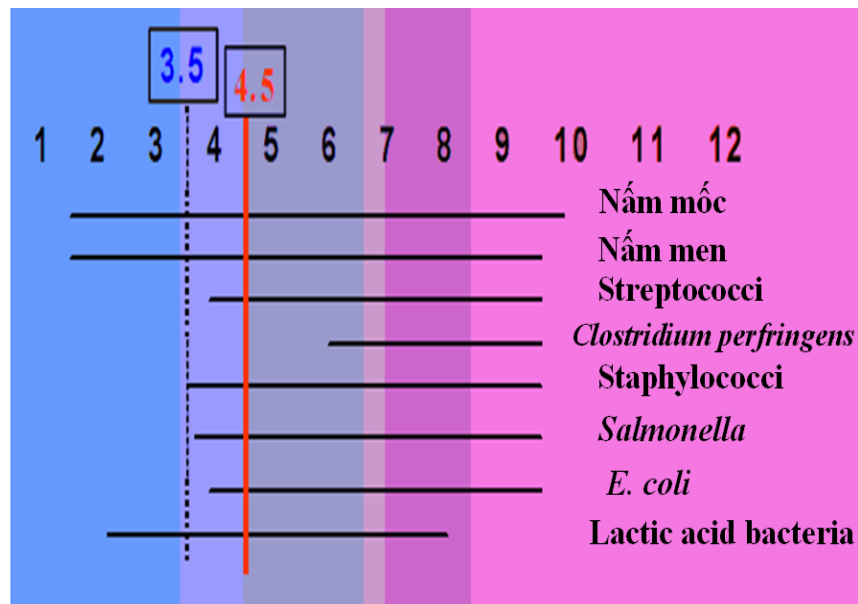
Sự cân bằng của quần thể VSV trong đường tiêu hóa ảnh hưởng lớn đến sức khỏe heo con. Hệ vi sinh đường ruột ở heo con có thể bị mất cân bằng do những tác động khác nhau như nguồn thức ăn, sai sót trong việc dùng thuốc điều trị nhất là dùng thuốc kháng sinh. Theo Trần Thị Dân (2004), ở heo con khỏe mạnh *Lactobacillus* là vi khuẩn chủ yếu ở đường tiêu hóa; *Bifidobacteria* cũng hiện diện với số lượng lớn trong đường tiêu hóa nhiều nhất ở ruột già và manh tràng. *Streptococcus*, *Enterobacteria*, *Peptostreptococcus* và *Veionellae* thì không có hoặc chỉ hiện diện với số lượng rất nhỏ trong dạ dày, ruột non và tăng dần ở phần ruột già. *Clostridium*, *Staphylococcus*, nấm men và nấm mốc thường không phân lập được. Khi heo con bị tiêu chảy, hệ VSV đường ruột của nó khác với heo khỏe mạnh, *Enterobacteria* chiếm chủ yếu trong đường tiêu hóa. Số lượng *Bacteroides* spp. cũng gia tăng dọc theo đường ruột, nhiều *Streptococcus* và *Clostridium* hơn nhưng *Lactobacillus* và *Bifidobacteria* ít đi, trong khi đó *Peptostreptococcus*, *Staphylococcus*, nấm men và nấm mốc không thay đổi nhiều.

Stress xảy ra khi cai sữa heo con phá vỡ sự cân bằng hệ vi sinh trong đường tiêu hóa và ảnh hưởng bất lợi đối với các chức năng của dạ dày-ruột. Hơn nữa, pH của dạ dày tăng và thức ăn không được tiêu hóa hoàn toàn bởi vì hệ tiêu hóa chưa trưởng thành có thể thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh. Ở ngày thứ 2 SCS, số lượng lớn Coliform được thấy trong đường ruột của chúng trong khi số lượng *Lactobacillus* bị giảm (Barrow và ctv, 1977). Trong nghiên cứu của Mathew và ctv (1996), *Lactobacillus* trong chất chứa hồi tràng bị giảm hầu như không còn trong vòng 2 ngày SCS. Ngược lại, số lượng Coliform tăng đáng kể và có liên quan với pH tăng của chất chứa hồi tràng (Hình 1.1).



Hình 1.1 Số lượng *Lactobacilli* và Coliform trong chất chứa hồi tràng heo con trước và sau khi cai sữa lúc 21 ngày (Mathew và ctv, 1996).

Hầu hết các vi khuẩn gây hại đều sống trong môi trường pH lớn hơn 3,5 (Hình 1.2). Như vậy, những phương pháp có thể đưa pH dịch tiêu hóa xuống dưới 3,5 sẽ ức chế vi khuẩn gây bệnh phát triển và tạo điều kiện cho vi khuẩn có lợi hoạt động, nhờ đó phòng ngừa tiêu chảy cho heo con.



Hình 1.2 Giới hạn pH đối với sự phát triển của vi sinh vật đường ruột (Nguồn: INVE company, 2002).

1.3 Các chất axit hóa trong dinh dưỡng động vật

1.3.1 Định nghĩa

Các chất axit hóa là những hợp chất có tính axit, có thể là axit hữu cơ hay vô cơ hoặc các muối của chúng, bổ sung vào thức ăn nhằm mục đích axit hóa đường tiêu hóa của động vật, giúp cải thiện tiêu hóa và kiểm soát sự cân bằng hệ VSV đường ruột, kết quả là năng suất và sức khỏe của vật nuôi được cải thiện.

Trong những nghiên cứu đánh giá các axit vô cơ, như là axit sulfuric, đã được báo cáo có ảnh hưởng không tốt đến tăng trưởng (Ravindran và Kornegay, 1993). Schoenherr (1994) thấy bổ sung axit phosphoric không làm giảm tăng trọng, nhưng cũng không thấy bất kỳ một sự cải thiện nào. Roth và Kirchgessner (1989) đồng tình rằng ngoại trừ làm giảm được pH trong khẩu phần bằng axit phosphoric thì không thấy có sự cải thiện về tăng trưởng nào. Các kết quả này chứng minh rằng việc sử dụng các axit vô cơ không có hiệu quả trên tăng trọng, thậm chí là ngược lại, và điều đó được cho rằng có thể do làm thay đổi cân bằng điện giải hay bởi làm giảm tính ngon miệng của thức ăn.

Các axit hữu cơ được xác định là bất cứ loại axit hữu cơ nào có chứa nhóm carboxylic, bao gồm các axit béo và các axit amin, cấu trúc chung là R-COOH. Không phải tất cả các axit này đều đạt hiệu quả mong muốn khi sử dụng. Thực tế, các axit hữu cơ có hoạt tính kháng khuẩn là các axit mạch ngắn (C1 - C7) và là các axit đơn giản có một nhóm carboxylic như formic, acetic, propionic và butyric, hoặc các axit có mang một nhóm hydroxyl (thường ở carbon α) như lactic, malic, tartatic, và citric. Các muối của một số axit này cũng được thấy có lợi với năng suất của động vật. Các axit khác như sorbic và fumaric có một số hoạt tính kháng nấm và là các axit mạch ngắn chứa các nối đôi. Các axit hữu cơ là những axit yếu và chỉ phân ly một phần.

Gần đây còn có một chất axit hóa mới là HMB (axit 2-Hydroxy-4-Methylthio Butanoic). Đây là một axit chứa một nhóm carboxylic mạch ngắn (C-4) với một nhóm hydroxyl trên carbon α và pK_a trong khoảng 3 - 4. Đó là một chất bổ sung thường được biết đến với tác dụng như một nguồn methionine nhưng thực tế

vẫn là một axit hữu cơ cho đến khi nó được chuyển hóa thành methionine trong cơ thể.

Axit vô cơ thường rẻ tiền hơn axit hữu cơ. Sự kết hợp giữa axit hữu cơ và vô cơ thường được dùng trong các sản phẩm axit thương mại. Hỗn hợp các axit thường đạt hiệu quả tốt hơn các axit đơn lẻ, dường như là bởi vì hiệu quả hiệp lực của các axit khác nhau trong đường tiêu hóa của động vật. Cụ thể, H_3PO_4 góp phần làm hạ pH của đường tiêu hóa, cho phép axit hữu cơ tồn tại dưới dạng chưa phân ly, là dạng sẽ có tác dụng diệt khuẩn.

Các axit được thấy có độ đệm axit âm. Việc dùng các axit trong khẩu phần có khả năng giảm độ đệm mà không cần phải giảm thành phần khoáng hay protein của khẩu phần. Các axit được chọn sẽ là phosphoric, fumaric, formic hay malic nếu chỉ cần tác dụng giảm độ đệm trong khẩu phần và tăng tính axit trong dạ dày. Tuy nhiên, các axit cũng thường được chọn dựa trên các tiêu chí khác nữa như tác dụng kháng khuẩn với các vi khuẩn gây bệnh, thúc đẩy các vi khuẩn có lợi, có giá trị dinh dưỡng, cải thiện miễn dịch không đặc hiệu (Pratt và ctv, 1996), tác dụng kích thích sự phân tiết của tuyến tụy (ví dụ: axit lactic) (Thaela và ctv, 1998), dạng vật lý (khô hay lỏng), tính ăn mòn và an toàn khi sử dụng.

1.3.2 Cơ chế tác dụng của chất axit hóa trong dinh dưỡng động vật

1.3.2.1 Giảm pH trong dạ dày

Các ý kiến đều thống nhất rằng bổ sung axit trong khẩu phần giúp giảm được pH dạ dày là nhờ hiệu quả giảm pH trong khẩu phần (Bảng 1.2), có nghĩa là giảm độ đệm của khẩu phần. Trong dạ dày, pH giảm sẽ hoạt hóa pepsinogen và các zymogen khác tốt hơn, và pH dạ dày sẽ hướng đến gần với mức tối ưu cho hoạt động của pepsin. Sciopini và ctv (1978) đã báo cáo có sự giảm pH dạ dày từ 4,6 xuống 3,5 bởi bổ sung 1% axit citric và từ 4,6 xuống 4,2 bởi bổ sung 0,7% axit fumaric. Một số nghiên cứu cũng chứng minh rằng axit trong khẩu phần làm giảm đáng kể pH dạ dày (Giesting và Easter, 1985; Bosi và ctv, 1999). Tuy nhiên, Risley và ctv (1992) lại thấy mặc dù pH khẩu phần giảm bởi sự bổ sung 1,5% axit citric hay fumaric (pH khẩu phần 6,4 giảm xuống 4,9 và 4,7) nhưng không có sự khác

biệt về pH của chất chứa từ các đoạn trong đường tiêu hóa khi các heo 4 tuần tuổi được thử nghiệm.

Bảng 1.2 Ảnh hưởng của bổ sung axit vào thức ăn đối với pH chất chứa trong đường tiêu hóa của heo con cai sữa

	Axit			SEM
	Đối chứng	Fumaric	Hỗn hợp axit hữu cơ + vô cơ	
Dạ dày	3,88	3,34	3,50	0,30
Hồi tràng	7,19	7,10	7,11	0,11
Manh tràng	5,90	5,69	5,73	0,09

(Nguồn: Bosi và ctv, 1999)

Sự giảm pH xảy ra khi các axit phân ly trong một môi trường chất lỏng trong đường tiêu hóa và giải phóng các proton (H^+). Các axit vô cơ sẽ phân ly hoàn toàn và do đó có một tác động mạnh lên pH. Việc giảm được pH dạ dày bằng axit cũng có thể kiểm chế vi khuẩn có hại trong dạ dày và ruột non. *Salmonella* spp. sống sót trong khoảng pH 4 - 9, với một khoảng tối ưu cho tăng trưởng từ 6,5 - 7,5, do đó khi pH môi trường thấp hay cao đều ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Ở pH rất thấp (ví dụ: pH = 3) các proton xuyên qua màng tế bào vi khuẩn nhanh hơn khả năng hệ thống nội cân bằng có thể loại bỏ chúng (Stonerock, 2009). Điều này gây ra sự axit hóa nội bào, đến mức độ làm tổn hại hay phá hủy các tiến trình sinh hóa quan trọng trong tế bào. Về mặt này các axit vô cơ tỏ ra có hiệu quả hơn hẳn.

Tuy nhiên, axit vô cơ ít được ứng dụng trong thực tế bởi vì nó là các chất ăn mòn, nguy hiểm cho cả người và động vật, và có thể gây hư hỏng trang thiết bị. Hơn nữa, hầu như không thể thay đổi đáng kể giá trị pH của đường tiêu hóa động vật bởi vì trạng thái nội cân bằng kết hợp với độ đậm của thức ăn, cùng nhau làm giảm những biến động về pH (Stonerock, 2009). Một điều đáng chú ý nữa là người ta đã chứng minh được *Salmonella* spp. có thể phát triển khả năng đề kháng lại axit khi gặp môi trường pH thấp trong thời gian dài (Foster, 1991; Bearson và ctv, 1998).

Một ích lợi khác nữa của việc giảm pH là sự cải thiện hoạt tính của phytase từ VSV. Phytase từ VSV có 2 mức pH tối ưu là 2,5 và 4,5 - 5,7, và axit phytic tan được nhiều hơn ở pH thấp hơn (Mroz, 2000). Các tác động này kết hợp với nhau để cải thiện tiêu hóa P.

1.3.2.2 Giảm số lượng vi khuẩn gây bệnh

Người ta đã biết rõ là pH dạ dày thấp có thể ức chế đáng kể sự phát triển của các VSV có hại trong đường tiêu hóa (Bảng 1.3). Điều kiện axit thích hợp cho sự phát triển của *Lactobacilli*, mà có thể ức chế sự định cư và sinh sôi của *E. coli* bởi khóa các vị trí gắn kết hay bởi sản xuất ra axit lactic và các chất biến dưỡng khác có thể làm giảm pH và ức chế *E. coli* (Fuller, 1977). Người ta cũng biết rằng *Lactobacilli* có thể sản xuất ra hydrogen peroxide, có tác dụng kháng khuẩn (Reither và ctv, 1980). Một số báo cáo đã cho thấy rằng việc sử dụng các axit hữu cơ đã làm giảm số lượng vi khuẩn Coliform trong đường ruột (Sciopini và ctv, 1978; Canibe và ctv, 2001).

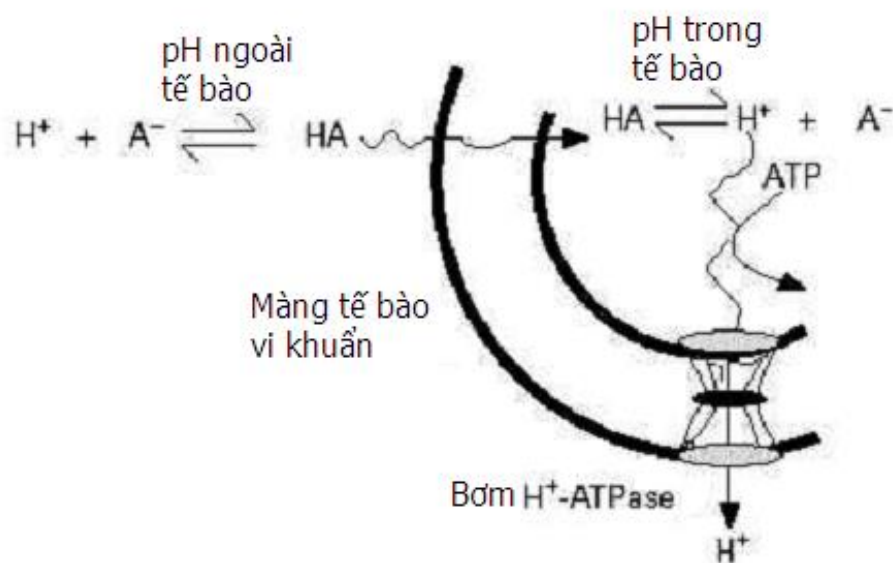
Bảng 1.3 Ảnh hưởng của axit formic bổ sung trong thức ăn đến số lượng vi khuẩn trong các phần của đường ruột heo con (\log_{10} CFU/g chất chứa)

Axit formic (%)	<i>Lactobacillus</i> / <i>Bifidobacterium</i>		<i>E. coli</i>	
	0	1,2	0	1,2
Tá tràng	6,4 ± 0,7	5,5 ± 0,6	5,5 ± 0,9 ^a	3,3 ± 0,7 ^b
Không tràng	6,7 ± 0,7 ^a	5,8 ± 0,7 ^b	6,8 ± 0,5 ^a	5,3 ± 0,9 ^b
Hồi tràng	7,2 ± 1,3	6,6 ± 1,4	7,9 ± 0,7	6,8 ± 1,5
Manh tràng	8,1 ± 0,7	7,5 ± 0,6	6,8 ± 0,6	6,9 ± 0,6
Kết tràng	8,6 ± 0,8	8,0 ± 0,7	6,3 ± 0,7	6,0 ± 1,3

(Nguồn: Roth và ctv, 1996)

Sự giảm hoạt động của các vi khuẩn làm giảm bớt hoạt động trao đổi chất của vật chủ bởi vì giảm ammonia, amine và độc tố trong ruột, đưa đến ít đi những rối loạn tiêu hóa (ví dụ: tiêu chảy). Sự giảm số lượng vi khuẩn trong ruột cũng giúp giảm sự cạnh tranh dưỡng chất giữa vi khuẩn với vật chủ và tăng cường hấp thu

dưỡng chất, đặc biệt là năng lượng và các axit amin (Øverland và ctv, 2000), dẫn đến hiệu quả sử dụng thức ăn tốt hơn và cải thiện tăng trọng hàng ngày (Øverland và ctv, 2000; Eittle và ctv, 2004). Tiêu chảy cũng có thể được phòng ngừa bởi sự ngăn cản các vi khuẩn gây bệnh như *E. coli* bám dính vào thành ruột (Gedek, 1993). Hầu hết các vi khuẩn chỉ có thể sinh sôi, làm biến đổi chức năng biểu mô ruột hay sản xuất độc tố được sau khi gắn kết với các thụ thể đặc hiệu trên thành ruột.

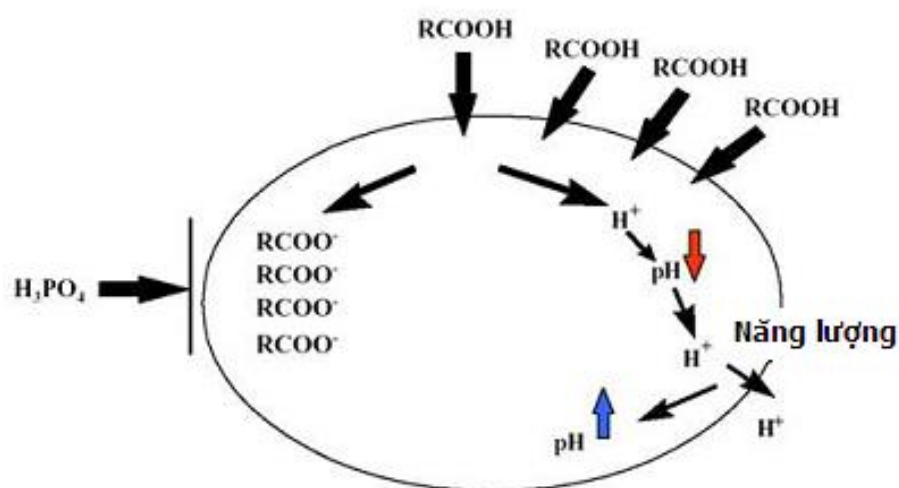


Hình 1.3 Cơ chế kiểm soát nồng độ H^+ nội bào bằng bơm H^+ -ATPase liên kết màng (Nguồn: Lambert and Stratford, 1999).

Hơn nữa, các axit đã cho thấy một hiệu quả diệt khuẩn mạnh mà không cần giảm pH trong dạ dày-ruột. Các axit hữu cơ chưa phân ly (chưa ion hóa, ưa lipid) có thể thâm nhập qua thành tế bào vi khuẩn và phá hủy các quá trình sinh lý bình thường của một số loại vi khuẩn. Như đã được mô tả bởi Lambert và Stratford (1999), sau khi thâm nhập qua thành tế bào của vi khuẩn, các axit hữu cơ chưa phân ly sẽ gặp môi trường pH cao hơn bên trong vi khuẩn và phân ly, giải phóng H^+ và các anion (A^-) (Hình 1.3). pH bên trong sẽ giảm và bởi vì các vi khuẩn nhạy cảm với pH như là Coliform, *Clostridium*, và *Listeria spp.* không chịu được với một khoảng rộng giữa pH bên trong và bên ngoài tế bào, một cơ chế đặc biệt (bơm H^+ -

ATPase) sẽ hoạt động để đưa pH bên trong vi khuẩn trở về mức bình thường. Hiện tượng này cần sử dụng năng lượng, do đó làm mất năng lượng dùng cho sự sinh trưởng và sinh sản của vi khuẩn, dẫn đến kiềm hãm sự sinh sản và phát triển, thậm chí giết chết chúng. Sự giảm pH nội bào của vi khuẩn cũng gây ra các ảnh hưởng khác, như là ức chế sự đường phân, ngăn cản sự vận chuyển chủ động và can thiệp vào sự vận chuyển tín hiệu (Gauthier, 2002).

Phần anion (A^-) của axit bị giữ lại bên trong vi khuẩn bởi vì nó thấm thấu tự do qua thành tế bào chỉ khi ở dạng chưa phân ly. Sự tích tụ A^- trở nên độc cho vi khuẩn bởi nhiều cơ chế phức tạp bao gồm sự mất cân bằng ion dẫn đến các vấn đề thẩm lọc cho vi khuẩn (Roe và ctv, 1998). Ngược lại, các vi khuẩn không nhạy cảm với pH như *Lactobacillus* spp. và *Bifidobacterium* spp. sẽ chịu được sự khác biệt lớn hơn giữa pH bên trong và bên ngoài, nếu pH bên trong đủ thấp, các axit hữu cơ sẽ tái tạo thành dạng chưa phân ly và thoát khỏi vi khuẩn bằng cùng con đường chúng đi vào (Hình 1.4). Một trạng thái cân bằng sẽ được tạo ra và vi khuẩn sẽ không trải qua tình huống đó. Điểm quan trọng cần lưu ý là thậm chí khi ở dạng chưa phân ly, các axit vô cơ không thể thâm nhập qua thành tế bào vi khuẩn (Gauthier, 2002).



Hình 1.4 Cơ chế tác động của axit hữu cơ với vi khuẩn nhạy cảm pH (*Coliform*, *Clostridia*, *Salmonella*, *Listeria* spp.) (Nguồn: Gauthier, 2002).

1.3.2.3 Là nguồn năng lượng trong dạ dày-ruột

Hầu hết các axit hữu cơ đóng góp một lượng đáng kể năng lượng. Chúng được hấp thụ qua biểu mô ruột bằng sự khuếch tán thụ động. Các axit mạch ngắn có thể được dùng để tạo thành ATP trong chu trình Krebs. Ví dụ, 1 M axit fumaric tạo ra 18 mole ATP. Nếu sự tạo thành ATP được so sánh với thành phần năng lượng 1.340 KJ/M axit fumaric, rõ ràng rằng 74,3 KJ cần cho mỗi mole ATP, xấp xỉ bằng lượng năng lượng tham gia vào sự tạo thành ATP từ glucose. Do đó axit fumaric có thể được so sánh với glucose về mặt năng lượng. Điều đó cũng đúng với axit citric, trong khi axit acetic và propionic cần nhiều hơn 18% và 15% năng lượng cho tổng hợp 1 mole ATP (Kirchgeßner và Roth, 1988). Bởi vì năng lượng của các axit hữu cơ hoàn toàn có thể sử dụng trong suốt quá trình biến dưỡng, nó nên được xem xét trong tính toán năng lượng của khẩu phần thức ăn. Một khả năng khác là axit fumaric là một nguồn năng lượng dễ dàng, có thể có một tác dụng nuôi dưỡng tại chỗ cho lớp màng nhầy trên ruột non và dẫn đến tăng bề mặt và khả năng hấp thu trong ruột non bởi vì các tế bào biểu mô dạ dày-ruột được phục hồi nhanh hơn sau khi cai sữa (Blank và ctv, 1999).

1.3.2.4 Giảm tốc độ làm trống dạ dày

Có một giả thiết rằng các axit trong khẩu phần có thể cũng ảnh hưởng tốc độ làm trống dạ dày. pH cao ở vùng hạ vị kích thích tốc độ làm trống của dạ dày (Kidder và Manners, 1978; Mayer, 1994). Nếu tính axit tăng lên trong chất chứa sẽ làm giảm tốc độ làm trống dạ dày, cho phép nhiều thời gian hơn để tiêu hóa dưỡng chất trong dạ dày (Mayer, 1994). Tuy nhiên, Risley và ctv (1992) đã không tìm thấy sự liên quan chặt chẽ giữa tác dụng của axit khẩu phần lên thành phần vật chất khô trong dạ dày và tốc độ làm trống dạ dày. Hơn nữa, mặc dù sự bổ sung thêm các axit vào khẩu phần đã giảm pH khẩu phần một cách tương ứng (Giesting và Easter, 1985; Radecki và ctv, 1988), nó không luôn đạt được kết quả là pH dạ dày giảm (Risley và ctv, 1992). Do đó, mối tương quan trực tiếp giữa việc làm trống dạ dày với sự bổ sung các axit vẫn cần được làm sáng tỏ.

1.3.2.5 Kích thích sự phân tiết enzyme nội sinh và hình thái của dạ dày-ruột

Các axit có thể kích thích sự phân tiết tuyến tụy và hình thái màng nhầy ruột. Cả sự tiết enzyme của tuyến tụy và phân tiết mật đều được kích thích thông qua sự phóng thích secretin, và sự axit hóa tá tràng bởi HCl hay axit có một nhóm carboxylic đều làm tăng tiết secretin (Harada và ctv, 1986, 1988). Theo một nghiên cứu bởi Thaela và ctv (1998), bổ sung 2,5% axit lactic vào khẩu phần heo cai sữa đã làm tăng thể tích và thành phần protein của dịch tuyến tụy cũng như trypsin và chymotrypsin. Hơn nữa vào thời gian cai sữa, ruột non của heo con thường thấy có sự giảm về chiều cao nhung mao và sự chết của các tế bào mào ruột (crypt cell) tăng lên vì sự phá hủy vật lý bởi các hạt cứng trong thức ăn. Lupton và Kurtz (1993) đã báo cáo một số axit béo mạch ngắn (acetic, propionic và n-butyric) được sản xuất từ sự lên men carbohydrate bởi VSV đã kích thích sự sinh sản của tế bào biểu mô ruột của chuột. Sự sinh sản của tế bào biểu mô cũng được thấy tăng lên khi các axit béo mạch ngắn được cho uống, tiêm tĩnh mạch hay truyền vào dạ dày-ruột (Sakata và ctv, 1995), bởi vì các axit hữu cơ trong khẩu phần có thể ảnh hưởng sự lên men trong ruột non, và có thể trực tiếp ảnh hưởng hình thái ruột. Galfi và Bokon (1990) đã chứng minh có sự tăng về chiều dài của vi nhung mao trong hồi tràng và bề dày của các tế bào mào ruột trong manh tràng của heo đang tăng trưởng khi 0,17% n-butyrate được cung cấp trong thí nghiệm.

1.3.2.6 Cải thiện hấp thu chất khoáng

Một số axit có thể tạo thành phức hợp với nhiều cation, do đó giúp cho các chất khoáng như Ca, Zn dễ được hấp thu trong đường tiêu hóa. Kirchgessner và Roth (1982) báo cáo rằng bổ sung axit fumaric thì sự hấp thu biểu kiến Ca, P và Zn đã được cải thiện. Theo Jongbloed và ctv (1987), pH ruột giảm đã làm tăng khả năng hòa tan của P và phytate, do đó sự hấp thu P được cải thiện trong ruột non. Jongbloed và ctv (2000) cũng đề xuất rằng phytase của VSV được biết là thích hợp với pH thấp, do đó nó được hoạt hóa nhiều hơn khi bổ sung axit hữu cơ vào thức ăn cho động vật. Tuy nhiên, họ đã không thấy được tác dụng hiệp lực giữa phytase VSV với axit hữu cơ trong sự sử dụng P.

1.3.2.7 Kích thích hoạt động biến dưỡng trung gian

Kirchgessner và Roth (1982) cho rằng các axit hữu cơ kích thích sự biến dưỡng trung gian, kết quả là sự sử dụng năng lượng hay protein được cải thiện. Cùng lúc đó, Tschierschwitz và ctv (1982) đã nhận thấy aspartate transferase và succinate dehydrogenase tăng lên trong máu khi bổ sung axit fumaric vào khẩu phần chuột thí nghiệm, do đó họ đề xuất rằng hợp chất này có thể làm thay đổi sự biến dưỡng trung gian của protein và năng lượng. Grassmann và ctv (1992) đã thấy khi bổ sung axit formic vào khẩu phần heo cai sữa đã làm tăng hoạt tính của α -ketoglutaric dehydrogenase và glutamate-pyruvate transaminase.

1.3.3 Các yếu tố ảnh hưởng hiệu quả sử dụng chất axit hóa

1.3.3.1 Đặc tính và mức độ của chất axit hóa sử dụng

Mức độ hiệu quả khi sử dụng các chất axit trong thức ăn thay đổi tùy theo loại axit, hàm lượng axit và pH môi trường trong đường tiêu hóa. Bảng 1.4 trình bày một số axit hữu cơ và muối thường được dùng và tính chất của chúng.

Đặc tính giảm pH và kháng khuẩn của axit phụ thuộc vào trạng thái phân ly của chúng. Một thông số quan trọng để đánh giá hiệu quả của một loại axit là hằng số phân ly của axit đó (pK_a), là giá trị pH mà ở đó axit phân ly một nửa, nghĩa là nồng độ của các dạng phân ly và không phân ly cân bằng. Ví dụ, axit formic ($pK_a = 3,75$) sẽ bị phân ly 50% và không phân ly 50% ở pH 3,75. Giá trị pK_a thấp hơn thì hoạt tính kháng khuẩn của axit mạnh hơn, liên quan đến khả năng giảm pH môi trường của nó khi phân ly. Các axit dùng như là chất bổ sung có giá trị $pK_a = 3 - 5$, và được xếp vào loại có độ mạnh trung bình. Ở giá trị pK_a khoảng 3, axit lactic, fumaric và citric mạnh hơn axit formic, acetic và propionic. Lượng phân ly tùy thuộc giá trị pH của môi trường, ở pH cao axit có khuynh hướng phân ly nhiều hơn. Do đó, hoạt tính kháng khuẩn của axit hữu cơ cũng bị ảnh hưởng bởi pH của đường tiêu hóa.

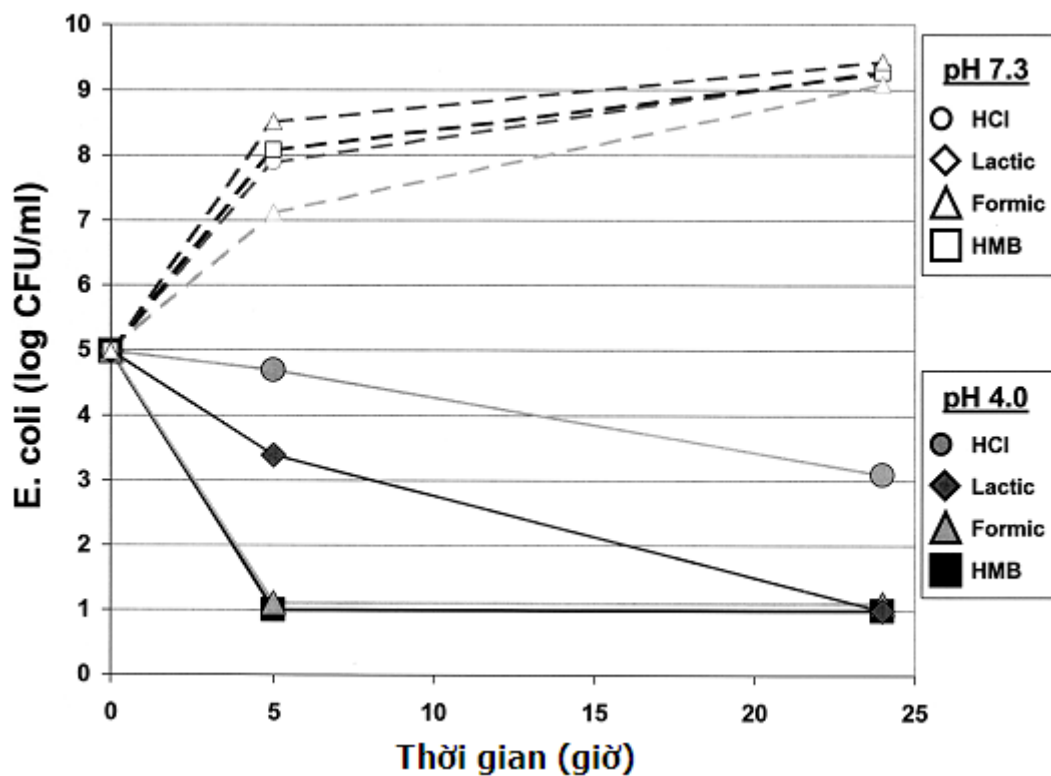
Bảng 1.4 Tính chất lý hóa của một số axit hữu cơ và muối

Axit/Muối	pK _a	Khả năng tan trong nước	TL phân tử (g)	NL thô (KJ/g)	Dạng
Formic	3,75	Rất nhiều	48,0	5,8	Lỏng
Acetic	4,75	Rất nhiều	60,1	14,8	Lỏng
Propionic	4,87	Rất nhiều	74,1	20,8	Lỏng
Lactic	3,08	Nhiều	90,1	15,1	Lỏng
Fumaric	3,03/4,44	Ít	116,1	11,5	Rắn
Citric	3,14/5,95/6,39	Nhiều	210,1	10,3	Rắn
Ca-formate	-	Ít	130,1	3,9	Rắn
Na-formate	-	Rất nhiều	68,0	3,9	Rắn
Ca-propionate	-	Nhiều	16,6	16,6	Rắn
Ca-lactate	-	Ít	10,2	10,2	Rắn

(Nguồn: Kirchgessner và Roth, 1991)

Hình 1.5 trình bày sự phụ thuộc pH của HMB, axit lactic và axit formic và so sánh tác dụng kháng khuẩn của chúng với một axit vô cơ là HCl (Dibner và Buttin, 2002). Ở pH 7,3 hoạt tính kháng khuẩn của chúng rất yếu, nhưng ở pH 4 tất cả các axit đều có ảnh hưởng đến *E. coli*, trong đó HCl yếu nhất, kế đến là axit lactic. Axit formic và HMB có hoạt tính mạnh nhất, hoàn toàn diệt khuẩn sau 24 giờ.

Thêm vào đó, mỗi axit có phổ kháng khuẩn riêng. Ví dụ, axit sorbic được biết đến nhiều hơn với tác dụng kháng nấm mốc, ngược lại axit lactic chống lại vi khuẩn hiệu quả hơn. Một số axit như formic, propionic và HMB có hoạt tính kháng khuẩn rộng hơn và có thể có hiệu quả với cả vi khuẩn và nấm, bao gồm nấm men (Partanen và Mroz, 1999). Phổ kháng khuẩn này đưa đến việc đánh giá và sử dụng hỗn hợp các axit hữu cơ trong thức ăn động vật. Các hỗn hợp axit đã cho thấy có hoạt tính kháng khuẩn hiệp lực khi theo dõi trong môi trường phòng thí nghiệm.



Hình 1.5 Ảnh hưởng của pH lên hoạt tính kháng khuẩn của axit HCl, lactic, formic và 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic. (Môi trường nuôi cấy: TSB)
(Nguồn: Dibner và Buttin, 2002).

1.3.3.2 Thành phần và tính chất của khẩu phần

Có lẽ yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của axit thường được nhắc đến nhất là độ đậm của khẩu phần mà axit được sử dụng. Có thể có lý khi cho rằng độ đậm của thức ăn bị ảnh hưởng đáng kể bởi sự chọn lựa thực liệu chế biến thức ăn, và có thể là một phần nguyên nhân do sự khác biệt trong hiệu quả của các axit.

Thành phần protein và khoáng cao đảm bảo sự tăng trưởng nhanh của động vật nhưng gây ra độ đậm cao, do đó làm giảm HCl tự do trong dạ dày. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng độ đậm của khẩu phần cao làm tăng pH dạ dày và gây hậu quả là giảm khả năng tiêu hóa các axit amin. Blank và ctv (1999) nhận thấy khi tăng độ đậm trong khẩu phần heo con cai sữa từ 23,5 - 56,7 đã giảm đến 10% tiêu hóa axit amin hồi tràng. Cần nhấn mạnh rằng độ đậm của khẩu phần là yếu tố khó kiểm soát và ảnh hưởng nhiều nhất đến hiệu quả của axit hữu cơ.

Một yếu tố khác trong khẩu phần ảnh hưởng đến mức độ đáp ứng với các axit là tỷ lệ trong công thức và tính chất của các thực liệu và ảnh hưởng của chúng đến hệ vi sinh đường ruột. Quá nhiều protein khó tiêu trong ruột sẽ có lợi cho sự phát triển của các vi khuẩn sử dụng protein, chúng sẽ tạo ra nhiều độc tố (Corthier và ctv, 1989) hay các chất biến dưỡng độc như là các amine (Smulders và ctv, 1999). Người ta đã thấy rằng khi loại bỏ chất kháng sinh khỏi khẩu phần có nhiều protein khó tiêu hóa thì những ảnh hưởng bất lợi tăng lên (Smulders và ctv, 1999). Cũng như với kháng sinh, khẩu phần có mức protein khó tiêu hóa cao ít nhiều cũng làm cho hiệu quả của axit dễ thấy hơn. Mặt khác, các thực liệu trong khẩu phần có thể làm giảm hiệu quả của axit là do sự lên men lactose trong các sản phẩm từ sữa xảy ra trong ruột. Sự tạo thành axit lactic đó có thể ảnh hưởng đến hiệu quả của axit trong thức ăn, đặc biệt là trên heo con vừa cai sữa.

Các thực liệu có những ảnh hưởng có lợi hoặc bất lợi với hệ VSV nhưng không phải luôn được hiểu rõ. Ví dụ, lúa mì là một thực liệu gây ra nhiều rối loạn đường ruột hơn bắp, chủ yếu khi nó mới được thu hoạch. Ngược lại, lúa mạch được xem là thuận lợi cho sự di chuyển thức ăn trong ruột và do đó thường được dùng trong thức ăn heo con. Do đó, Partanen (2001) cho rằng hiệu quả của axit có khuynh hướng cao hơn khi sử dụng lúa mì so với sử dụng bắp hay lúa mạch.

Một yếu tố liên quan nữa là sự hiện diện của các tác nhân kháng khuẩn trong khẩu phần thí nghiệm. Hiếm khi thấy một thí nghiệm về axit hữu cơ mà trong khẩu phần có chất kháng sinh, nhưng các tác nhân khác thỉnh thoảng có thể có, như là khẩu phần có mức Cu cao hay các thuốc chống cầu trùng. Các tác nhân này có ảnh hưởng lên hệ VSV và có thể làm dư thừa hiệu quả của axit hữu cơ.

1.3.3.3 Đối tượng động vật sử dụng

Qua nhiều nghiên cứu các tác giả đều đề xuất rằng tuổi của heo có thể ảnh hưởng đến đáp ứng với axit, các heo con mới cai sữa cho thấy có đáp ứng cao nhất (Ravindran và Kornegay, 1993; Bergstrom và ctv, 1996). Các axit đạt hiệu quả tốt nhất trong vài ngày đầu SCS và có xu hướng giảm theo ngày tuổi. Điều đó bởi vì dạ dày của heo con cai sữa vẫn chưa trưởng thành về mặt sinh lý và có thể không tiết

đủ lượng axit để hỗ trợ tiêu hóa các thức ăn cứng hay ức chế sự sinh sôi của các vi khuẩn gây hại. Sử dụng axit cho heo lúc này sẽ thấy được hiệu quả rõ nhất.

Trong một số nghiên cứu, đáp ứng với axit xảy ra trong suốt vài tuần đầu SCS (Radecki và ctv, 1988; Giesing và ctv, 1991; Mahan và ctv, 1996), nhưng giảm dần sau 3 - 4 tuần. Những nghiên cứu rất sớm về sự phát triển của hoạt động pepsin trên heo con đã đề xuất rằng khả năng tiết axit thấp cho đến khi heo đạt 2 - 4 tuần tuổi (Lewis và ctv, 1957; Hartman và ctv, 1961). Vào lúc 4 tuần sau khi cai sữa, khả năng phân tiết enzyme tiêu hóa của heo đã thích ứng với thức ăn mới (Cranwell, 1985; Lindermann và ctv, 1986) nên có thể đã che mất hiệu quả của axit trong khẩu phần (Ravindran và Kornegay, 1993). Do đó, sự thiếu đáp ứng trên heo lớn tuổi hơn với các axit có thể liên quan đến khả năng phân tiết axit đã tăng và chức năng dạ dày đã trưởng thành. Mặt khác, không phải heo nhỏ tuổi luôn đáp ứng với axit một cách có hiệu quả hơn. Bởi vì người ta cho rằng heo nhỏ tuổi nhạy cảm hơn với sự thay đổi của vị ngon thức ăn bởi sự thêm vào axit, lượng ăn vào và tăng trưởng sau đó có thể bị ảnh hưởng.

1.3.3.4 Các yếu tố khác

Theo Chế minh Tùng và Quách Tuyết Anh (2011), mức độ đáp ứng đối với axit còn liên quan đến nhiều yếu tố như pK_a và khả năng đệm của mỗi axit, khả năng đệm của thức ăn, tuổi của heo và một số yếu tố khác. Có lẽ yếu tố khó kiểm soát nhất chính là hệ vi sinh trong đường tiêu hóa. Mặc dù trạng thái cân bằng đã được thiết lập, các loài chiếm số lượng vượt trội luôn duy trì ưu thế nhưng sự có mặt của các loài chưa được xác định là không thể tránh khỏi và sẽ ảnh hưởng đến mức độ đáp ứng với axit.

Chương 2

NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm

❖ **Thời gian:** từ tháng 03 năm 2012 đến tháng 04 năm 2013

❖ **Địa điểm**

- Phòng thí nghiệm Bộ môn Chăn nuôi chuyên khoa và Sinh lý sinh hóa - Khoa CNTY, Trường ĐH Nông Lâm TP.HCM.

- Trại heo Đồng Hiệp, huyện Củ Chi, TP. Hồ Chí Minh

2.2 Nội dung nghiên cứu

2.2.1 Nội dung 1: Khảo sát ABC, BUF của thực liệu và TATM cho heo con SCS và sự liên hệ giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần.

2.2.2 Nội dung 2: Đánh giá ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến khả năng tăng trưởng và sức khỏe của heo con SCS.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Khảo sát ABC và BUF của thực liệu và TATM cho heo con SCS và sự liên hệ giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần

(1) **Mục tiêu:** Xác định ABC và BUF của thực liệu và TATM và phương trình hồi qui tuyến tính giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần

(2) **Đối tượng khảo sát**

Các mẫu thực liệu và khẩu phần thức ăn cho heo con SCS thu thập được trên thị trường: từ nhà máy chế biến thức ăn, trại chăn nuôi và đại lý bán thức ăn gia súc.

60 khẩu phần thức ăn tự trộn cho heo con SCS.

(3) **Các chỉ tiêu khảo sát**

Các chỉ tiêu khảo sát bao gồm: ABC và BUF của thực liệu ở pH 3, ABC và BUF của TATM ở pH 3, phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan giữa ABC-LT và ABC-TT của khẩu phần.

(4) Thu thập, xử lý và bảo quản mẫu

Mẫu thực liệu và mẫu TATM được lấy đại diện cho mỗi lô sản phẩm. Mỗi mẫu thực liệu có đầy đủ thông tin về tên mẫu, nơi lấy mẫu, nguồn gốc mẫu và thời gian lấy mẫu. Mẫu đưa về phòng thí nghiệm được đánh số ký hiệu, mẫu sau khi đánh số được trải ra khay nhựa lớn và trộn đều. Chia mẫu thực liệu đã được trộn đều thành hai phần: phần được phân tích và phần lưu mẫu lại để tổ hợp khẩu phần. Mẫu thực liệu và mẫu TATM được xay nhỏ với kích thước bé hơn 2 mm. Các mẫu thức ăn sau khi xay được lưu trữ trong hũ nhựa có bỏ silica-gel để hút ẩm. Các thực liệu và TATM dự định khảo sát được trình bày trong Bảng 2.1 và 2.2. Số lượng mẫu thực liệu dự định là 200 - 500 gam/mẫu và mẫu TATM là 100 - 200 gam/mẫu.

Bảng 2.1 Thực liệu dự định khảo sát

Nhóm thực liệu	Tên thực liệu	Số mẫu (n)	Ghi chú
Cung năng lượng	Bắp	10	
	Tám	10	
	Cám	10	
		
Cung đạm	Bột cá	10	
	Khô dầu đậu nành	10	
		
Cung khoáng	Muối (NaCl)	10	
	Dicalcium phosphate	10	
	Monocalcium phosphate	10	
	Premix khoáng	10	
	Premix vitamin	10	
	Bột sò	10	
	Bột đá vôi	10	
.....			

Bảng 2.2 Mẫu thức ăn thương mại cho heo con SCS

Nguồn gốc	Giai đoạn SCS (28-56 ngày tuổi)
Công ty A	Theo thực tế sản xuất của công ty
Công ty B	
.....	

Để xây dựng phương trình hồi qui, 60 khẩu phần thức ăn tự trộn cho heo con SCS giai đoạn từ 28 - 56 ngày tuổi. Khẩu phần được tổ hợp dựa theo khuyến cáo của hội đồng dinh dưỡng heo quốc gia của Hoa Kỳ về nhu cầu dinh dưỡng của heo con SCS (Bảng 2.3). Trong 60 khẩu phần, có 20 khẩu phần cơ bản không chứa axit hữu cơ và 40 khẩu phần có bổ sung axit hữu cơ với các mức bổ sung là 1,5 % và 3 %. Ở mỗi mức bổ sung axit có 20 khẩu phần. Axit được bổ sung vào khẩu phần bằng cách thêm axit vào và lấy bớt đi lượng bắp tương ứng với lượng axit thêm vào. Khẩu phần được tổ hợp dựa trên phần mềm “Diet Formulation and Evaluation” của hội đồng dinh dưỡng heo quốc gia Hoa Kỳ (phiên bản 1.2, 2010).

Bảng 2.3 Nhu cầu dinh dưỡng của heo con SCS giai đoạn 28- 56 ngày tuổi¹

	Giai đoạn (ngày tuổi)	
	28-42	42-56
Trọng lượng cơ thể, kg	4 - 7	7 - 15
Năng lượng trao đổi, kcal/kg	3500	3300
Vật chất khô, %	≥ 88	≥ 88
Protein thô, %	22	20 - 21
Béo thô, %	4 - 7	4 - 7
Xơ thô, %	< 4	< 4
Lactose, %	15	7
Lysine tổng số, %	1,65	1,44
Axit amin (tiêu hóa hồi tràng hiệu chỉnh), %		
Lysine	1,51	1,31
Threonine	0,94	0,81
Methionine	0,42	0,37
Methionine + Cysteine	0,88	0,76

Tryptophan	0,26	0,22
Isoleucine	0,83	0,72
Valine	0,98	0,85
Ca, %	0,85	0,85
P tổng số, %	0,70	0,70
P sẵn có, %	0,55	0,45

¹ Theo hướng dẫn của hội đồng dinh dưỡng heo Hoa Kỳ (phiên bản 1.2, 2010)

2.3.2 Đánh giá ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần đến tăng trưởng và sức khỏe của heo con SCS

(1) Mục tiêu

Xác định ảnh hưởng của axit hữu cơ và ABC của khẩu phần lên tăng trưởng và sức khỏe của heo con SCS.

(2) Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trên 640 heo con cai sữa ở 28 ngày tuổi, có máu lai giữa các giống Duroc (Yorkshire x Landrace). Heo con trong cùng một khối được bố trí ngẫu nhiên vào 4 nghiệm thức thí nghiệm theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên hai yếu tố (ABC của khẩu phần: thấp và cao; bổ sung axit: có và không). Bốn khẩu phần thí nghiệm bao gồm: (1) khẩu phần có ABC thấp (ABC-T) + axit, (2) khẩu phần có ABC-T, (3) khẩu phần có ABC cao (ABC-C) + axit và (4) khẩu phần có ABC-C. Heo con được phân khối dựa vào trọng lượng cá thể ban đầu. Heo con ở các nghiệm thức trong cùng một khối đồng đều về giới tính và nguồn gốc ổ đẻ. Mỗi nghiệm thức có 8 ô chuồng, mỗi ô chuồng có 20 heo. Các ô chuồng đều được bố trí trong cùng một dãy chuồng nuôi cho heo con SCS và có điều kiện nuôi dưỡng chăm sóc như nhau. Sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2.4

Bảng 2.4 Sơ đồ bố trí thí nghiệm

	Khẩu phần có ABC thấp		Khẩu phần có ABC cao	
	Có axit	Không axit	Có axit	Không axit
Số lượng heo/ô chuồng	20	20	20	20
Số lần lặp lại (ô chuồng)	8	8	8	8
Tổng số heo	160	160	160	160

(3) Khẩu phần thí nghiệm

Khẩu phần thức ăn thí nghiệm được tổ hợp đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của heo con ở giai đoạn SCS theo yêu cầu của trại. Trước khi thí nghiệm, các mẫu thức ăn từ khẩu phần của trại được lấy mẫu để xác định giá trị ABC của thức ăn qua các giai đoạn nuôi. Khẩu phần thức ăn của trại được qui định là có giá trị ABC-C. Dựa vào giá trị ABC này, khẩu phần thức ăn thí nghiệm có ABC-T sẽ được tổ hợp dựa trên các nguồn thực liệu sẵn có của trại. Axit hữu cơ được bổ sung vào khẩu phần bằng cách lấy bột lượng bấp ra và thêm vào 1 lượng axit tương tự. Thức ăn từ mỗi khẩu phần thí nghiệm sẽ được lấy mẫu để kiểm tra ABC và xác định thành phần hóa học của khẩu phần. Thành phần dinh dưỡng tính toán của khẩu phần thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2.5

(4) Nuôi dưỡng và chăm sóc

Heo thí nghiệm được nuôi dưỡng trong dãy chuồng nuôi heo SCS. Các điều kiện về môi trường và quy trình chăm sóc nuôi dưỡng heo ở các lô thí nghiệm đều như nhau. Chuồng nuôi heo là dạng chuồng sàn công nghiệp, mỗi ô chuồng có diện tích là 2 m x 3 m. Mỗi ô chuồng nuôi 20 con và được xem là 1 lần lặp lại.

Heo được cho ăn và uống nước tự do. Thức ăn cho heo được cho ăn theo 1 giai đoạn duy nhất: 28 đến 56 ngày tuổi. Chuồng trại được vệ sinh hàng ngày, hàng tuần đều có phun thuốc sát trùng tiêu độc môi trường xung quanh.

Bảng 2.5 Nhu cầu dinh dưỡng của heo con sau cai sữa giai đoạn 28- 56 ngày tuổi của trại đang áp dụng.

Thành phần dinh dưỡng	Giai đoạn (28-56 ngày tuổi)
Năng lượng trao đổi, kcal/kg	3450
Vật chất khô, %	≥ 88
Protein thô, %	20,5
Béo thô, %	9
Xơ thô, %	2
Lactose, %	1,75
Lysine, %	1,7
Methionine, %	0,54
Methionine + Cysteine, %	0,88
Threonine, %	0,9
Tryptophan	0,25
Ca, %	1,06
P tổng số, %	0,85
P hữu dụng, %	0,57

(5) Các chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: Tăng trọng hàng ngày, tiêu thụ thức ăn hàng ngày, hệ số chuyển hóa thức ăn, tỷ lệ heo tiêu chảy, tỷ lệ ngày con tiêu chảy, tần suất sử dụng kháng sinh, tỷ lệ chết, pH phân, số lượng VSV (*E. coli*, *Clostridium perfringens*) trong 1 gam phân và định tính *Salmonella* trong phân.

2.4 Phương pháp đo lường, lấy mẫu và theo dõi các chỉ tiêu

2.4.1 Đo lường ABC và BUF của thực liệu và TATM

Phương pháp đo lường ABC và BUF của thực liệu và TATM theo phương pháp của Lawlor và ctv (2005). Khả năng trung hòa axit là lượng axit cần thiết tính bằng meq để làm giảm pH dung dịch ban đầu về pH 3 cho mỗi kg thực liệu hay TATM. Độ đệm axit là lượng axit cần thiết tính bằng meq để làm thay đổi một đơn vị pH của thực liệu. Tất cả các kết quả tính toán đều dựa trên vật chất khô của thực liệu và TATM. Cách tiến hành như sau:

Cân khoảng 0,5 g thực liệu cho vào cốc thủy tinh chứa 50 ml nước cất và khuấy đều dung dịch bằng máy khuấy từ trong 3 phút, ngưng khuấy và đo pH. Ghi nhận lượng pH đầu của dung dịch nước và mẫu. Tiếp theo, cho axit HCl 0,1 N (mỗi lần cho khoảng 0,1 - 0,5 ml) vào cốc để chuẩn độ cho đến khi pH đến 3 thì ngưng, nhưng vẫn tiếp tục khuấy đều trong 3 phút, ngưng khuấy và ghi nhận lượng axit thêm vào. Sau mỗi lần đo, cốc và đĩa khuấy từ được rửa sạch bằng nước cất trước khi đo mẫu kế tiếp.

Đối với các thực liệu có pH đầu thấp hơn mức 3, chuẩn độ ngược bằng dung dịch NaOH 0,1 N cho đến khi đạt đến pH 3. Lượng NaOH thêm vào được ghi nhận giống như trường hợp khi thêm HCl. Tuy nhiên, ABC và BUF trong trường hợp này có giá trị âm.

2.4.2 Phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan giữa ABC-LT và ABC-TT

ABC-LT của khẩu phần thức ăn tự trộn được tính dựa vào ABC của các thực liệu được sử dụng trong khẩu phần. ABC-TT của khẩu phần được đo lường và tính tương tự như khi đo thực liệu và TATM. Các giá trị ABC-LT và ABC-TT của 60 khẩu phần thức ăn tự trộn được sử dụng để xác định phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan giữa ABC-LT và ABC-TT.

2.4.3 Tăng trọng hàng ngày, tiêu thụ thức ăn hàng ngày và hệ số chuyển hóa thức ăn

Heo con được cân lúc bắt đầu thí nghiệm và sau đó cân mỗi 2 tuần cho đến khi kết thúc thí nghiệm để tính tăng trọng hàng ngày. Heo thí nghiệm được cân vào lúc sáng sớm, trước khi cho ăn và cân cùng 1 loại cân trong suốt quá trình thí nghiệm. Heo được cân theo nhóm để tính trọng lượng bình quân của heo cho mỗi ô chuồng. Lượng thức ăn tiêu thụ ở mỗi ô chuồng được ghi nhận hàng ngày để tính tiêu thụ thức ăn hàng ngày ở mỗi giai đoạn cho ăn và toàn bộ thời gian thí nghiệm. Hệ số chuyển hóa thức ăn được tính toán dựa trên tăng trọng hàng ngày và tiêu thụ thức ăn hàng ngày.

2.4.4 Tỷ lệ tiêu chảy và tần suất sử dụng kháng sinh hàng ngày

Heo được xác định bị tiêu chảy khi heo đi phân lỏng hoặc sệt và phân dính hậu môn. Quan sát sự tiêu chảy của heo 2 lần 1 ngày (sáng và chiều) và ghi nhận số heo tiêu chảy trong ngày.

Trong quá trình thí nghiệm, heo bị bệnh có điều trị bằng kháng sinh thì được ghi nhận lại để tính tần suất sử dụng kháng sinh. Mỗi lần tiêm kháng sinh được xem là 1 lần điều trị.

2.4.5 Tỷ lệ nuôi sống

Tỷ lệ nuôi sống được tính dựa trên số lượng heo hiện diện ở cuối mỗi giai đoạn và cuối thí nghiệm. Những heo bị chết hay bị loại thải được xem như là heo chết. Heo bị loại thải bao gồm: heo điều trị không khỏi và heo bị còi (có trọng lượng < 30% so với heo trong bầy).

2.4.6 Định lượng VSV (*E.coli* và *Clostridium perfringens*) trong 1 gam phân và định tính *Salmonella* trong phân

2.4.6.1 Lấy mẫu phân và bảo quản

Mẫu phân được lấy 3 lần: 28 ngày tuổi (trước khi cho heo ăn khẩu phần thí nghiệm), 42 và 56 ngày tuổi. Ở 28 ngày tuổi, 3 heo được chọn ngẫu nhiên từ mỗi ô chuồng để lấy mẫu phân, những mẫu phân ở 2 lần lấy sau đó cũng được lấy từ những heo đã chọn ở 28 ngày. Mẫu phân được thu thập bằng cách dùng đĩa vô trùng lấy phân ở trực tràng. Sau đó cho đĩa có mẫu phân vào túi nylon vô trùng, đặt túi nylon vào thùng có chứa nước đá và đưa mẫu về phòng thí nghiệm để phân tích. Mẫu phân lấy từ 3 heo trong 1 ô chuồng sẽ được trộn lại với nhau để trở thành mẫu đại diện cho mỗi ô chông. Như vậy, số lượng mẫu phân trong thí nghiệm là 32 (8 mẫu phân/nghiệm thức).

2.4.6.2 Định lượng vi khuẩn *E. Coli* trong 1 gam phân

Số lượng vi khuẩn *E. coli* được đếm theo phương pháp MPN (Most probable number)

a. Nguyên tắc

Phương pháp này dựa vào nguyên tắc mẫu được pha loãng thành một dãy thập phân (hai nồng độ kế tiếp khác nhau 10 lần); 3 hoặc 5 mẫu có độ pha loãng thập phân liên tiếp được ủ trong ống nghiệm chứa môi trường thích hợp có ống bẫy khí Durham. Mỗi nồng độ pha loãng được ủ từ 3 đến 5 ống lặp lại. Theo dõi sự sinh hơi và đổi màu để định tính sự hiện diện trong từng ống thử nghiệm. Ghi nhận số ống nghiệm cho phản ứng dương tính ở mỗi nồng độ pha loãng và dựa vào bảng MPN để suy ra số lượng nhóm VSV tương ứng hiện diện trong 1 gam mẫu ban đầu.

b. Chuẩn bị dung dịch mẫu

Cân chính xác 25 gam phân cho vào bình nón chứa sẵn 225 ml nước muối đệm pepton (Buffered peptone water - BPW) 9‰. Lắc đều 2 - 3 phút. Thu được dung dịch mẫu thử 10^{-1}

c. Quy trình phân tích

Tuần tự cấy 1 ml dung dịch mẫu đã pha loãng 10^{-1} vào 3 ống nghiệm giống nhau, mỗi ống chứa 10 ml canh LSB (lauryl sulphate broth). Thực hiện tương tự với dịch mẫu đã pha loãng 10^{-2} và 10^{-3} . Đây là trường hợp xác định MPN bằng hệ 3 dãy nồng độ và 3 ống nghiệm lặp lại (hệ 3 x 3 hay 9 ống nghiệm). Nếu nghi ngờ số lượng VSV trong mẫu quá cao, phải sử dụng các mẫu có bậc pha loãng cao hơn. Ủ các ống nghiệm ở 37°C trong 48 giờ. Ghi nhận ống có sinh hơi. Dùng que cấy vòng cấy chuyển dịch mẫu từ các ống LSB (+) sang các ống có chứa canh BGBL (Brilliant Green Lactose Bile Salt) và ủ ở $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 48 giờ. Ghi nhận số ống cho kết quả (+) (có sinh hơi) ứng với mỗi độ pha loãng.

Dùng que cấy vòng chuyển một vòng dịch mẫu từ các ống canh LSB (+) sang môi trường canh EC (*E. coli* medium), ủ ở $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ. Đếm số lượng các ống cho kết quả (+) (sinh hơi) ở mỗi độ pha loãng.

Dùng que cấy vòng rìa dịch mẫu từ các ống (+) trên môi trường canh EC sang môi trường thạch đĩa EMB (Eosin methylene-blue lactose sucrose agar). Ủ các đĩa này ở 37⁰C trong 24 giờ để tìm khuẩn lạc *E. coli* giả định (tròn, dẹt hình đĩa và có ánh kim tím). Chọn khuẩn lạc có đường kính lớn hơn 1 mm và cấy vào các môi trường MRVP, Simmon Citrate Agar để thực hiện các thử nghiệm IMViC. Khuẩn lạc *E.coli* giả định cho kết quả thử nghiệm IMViC tuân tự là ++ - - chính là *E.coli*. Ống nghiệm cho kết quả trong môi trường EC và khuẩn lạc *E.coli* giả định trên môi trường EMB cho kết quả thử nghiệm IMViC như trên là ống nghiệm có *E.coli* (+). Thực hiện tương tự cho tất cả các ống nghiệm cho kết quả (+) trong môi trường EC và tạo được khuẩn lạc *E.coli* giả định trên môi trường EMB. Ghi nhận số lượng các ống nghiệm có *E.coli* (+) ở mỗi độ pha loãng của mẫu.

d. Cách đọc kết quả

Ở tất cả các trường hợp nêu trên, từ số lượng các ống nghiệm có *E.coli* (+) ở mỗi độ pha loãng của mẫu, dùng bảng MPN thích hợp (bảng 3 x 3 tức 9 ống nghiệm) để tính ra mật độ VSV trong mẫu và biểu diễn dưới dạng trị số MPN/gam mẫu.

2.4.6.3 Định lượng vi khuẩn *Clostridium perfringens* trong 1 gam phân

Số lượng *Clostridium perfringens* được đếm theo phương pháp đếm khuẩn lạc

a. Nguyên tắc

Vi khuẩn *Clostridium perfringens* trong môi trường thạch TSC (Tryptose Sulfide Cycloserin) ở điều kiện kỵ khí sẽ phát triển thành các khuẩn lạc có màu đen. Chọn khuẩn lạc điển hình, xác định tính chất sinh vật hoá học theo thường quy

b. Chuẩn bị dung dịch mẫu

Cân chính xác 25 gam phân cho vào bình nón chứa sẵn 225 ml nước muối đệm pepton BPW (Buffered peptone water) 9‰. Lắc đều 2- 3phút. Thu được dung dịch mẫu thử 10⁻¹

- Hút chính xác 1 ml dung dịch mẫu thử 10^{-1} cho sang ống nghiệm chứa sẵn 9 ml BPW 9%. Lắc đều trong 2 - 3 phút. Thu được dung dịch 10^{-2} .

- Tiếp tục làm tương tự như vậy, ta thu được các dung dịch mẫu thử tương ứng 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}

c. Phương pháp tiến hành

- Rót 6 - 7 ml thạch TSC vào mỗi đĩa petri đã được đánh dấu nồng độ pha loãng. Lắc cho thạch láng đều mặt đĩa.

- Khi thạch đông chặt, lấy pipet hút chính xác 1 ml ở mỗi nồng độ pha loãng dung dịch mẫu thử nhỏ lên mặt thạch. Mỗi nồng độ cấy trong hai đĩa petri tương ứng.

- Rót tiếp 15 ml thạch TSC vào mỗi đĩa petri đã được láng mẫu thử. Lắc trộn đều sao cho thạch phủ đều khắp bề mặt đĩa petri.

- Khi thạch đông chặt, lật ngược đĩa, đặt vào bình kỵ khí (ví dụ, các túi hóa chất tạo kỵ khí hoặc tủ ấm nuôi vi khuẩn kỵ khí).

- Đặt bình kỵ khí vào tủ ấm $35^{\circ}\text{C}/20$ -24 giờ.

d. Đọc kết quả

- Đếm toàn bộ các khuẩn lạc có các đặc tính: tròn, lồi, bờ đều, nhẵn, có màu đen.

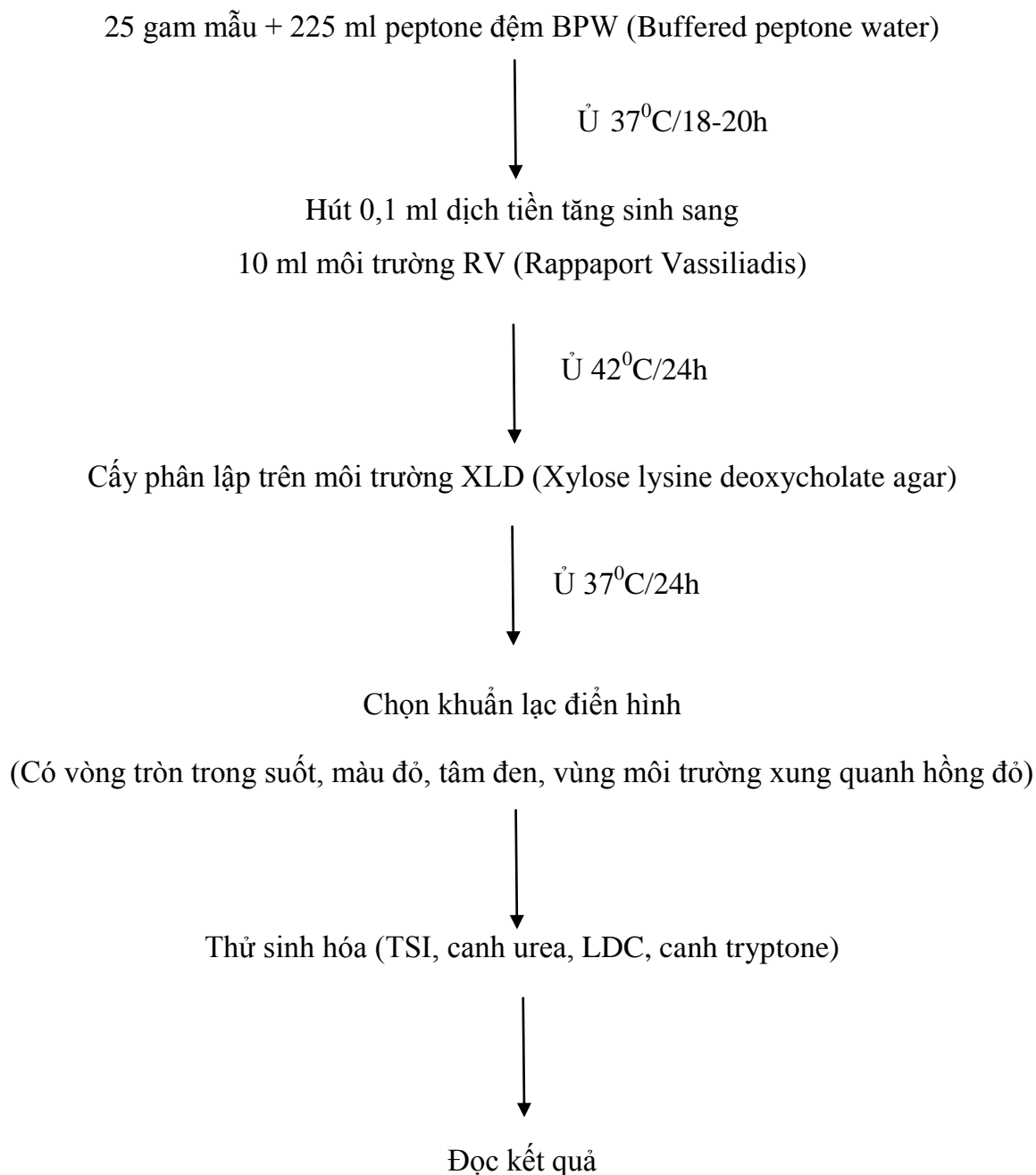
- Tính số lượng vi khuẩn *Clostridium perfringens*/1 gam mẫu bằng trung bình cộng giữa các đĩa nuôi cấy cùng nồng độ pha loãng nhân với hệ số pha loãng tương ứng.

*** Ghi chú:**

- Chỉ đếm các đĩa thạch có khoảng 20 - 200 khuẩn lạc để tính kết quả.

- Nếu các khuẩn lạc phân bố trên đĩa nuôi cấy không rõ ràng thì phải làm lại.

2.4.6.4 Định tính vi khuẩn *Salmonella* trong phân



Sơ đồ 2.1 Phương pháp định tính *Salmonella* trong phân

2.4.7 Đo pH phân

Mẫu phân thu thập như mục 3.4.6 được pha loãng với nước cất theo tỉ lệ 1:7,5 về trọng lượng. Đo pH của dung dịch sau pha loãng bằng máy đo pH (Walsh và ctv, 2007)

2.5 Các công thức tính toán

- Khả năng trung hòa axit của thực liệu ở pH 3 (ABC-TL)

$$ABC-TL = \frac{\text{Lượng axit thêm vào để đạt pH } 3 \times 0,1}{\text{Trọng lượng vật chất khô của mẫu}} \times 1000 \text{ (meq/kg)}$$

- Độ đệm axit của thực liệu ở pH 3 (BUF-TL)

$$BUF-TL = \frac{\text{Khả năng trung hòa axit ở pH } 3}{\text{Độ chênh lệch pH ở lúc đầu và cuối}} \text{ (meq/kg)}$$

- Khả năng trung hòa axit của TATM ở pH 3 (ABC-TATM)

$$ABC-TATM = \frac{\text{Lượng axit thêm vào để đạt pH } 3 \times 0,1}{\text{Trọng lượng vật chất khô của mẫu}} \times 1000 \text{ (meq/kg)}$$

- Độ đệm axit của TATM ở pH 3 (BUF-TATM)

$$BUF-TATM = \frac{\text{Khả năng trung hòa axit ở pH } 3}{\text{Độ chênh lệch pH lúc đầu và cuối}} \text{ (meq/kg)}$$

- Khả năng trung hòa axit của khẩu phần theo lý thuyết ở pH 3

$$ABC-LT = \frac{\text{Trọng lượng thực liệu} \times ABC-TL}{1000} \text{ (meq/kg)}$$

- Khả năng trung hòa axit của khẩu phần theo thực tế ở pH 3

$$ABC-TT = \frac{\text{Lượng axit thêm vào để đạt pH } 3 \times 0,1}{\text{Trọng lượng vật chất khô của mẫu}} \times 1000 \text{ (meq/kg)}$$

- Phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan

Các giá trị ABC-LT và ABC-TT được sử dụng để xác định phương trình hồi qui tuyến tính và hệ số tương quan giữa ABC-LT và ABC-TT.

- Tăng trọng tuyệt đối (TTTĐ, g/con/ngày):

$$TTTĐ = \frac{\text{Tổng tăng trọng}}{\text{Tổng số ngày con nuôi}}$$

- Thức ăn tiêu thụ (TATT, g/con/ngày)

$$TATT = \frac{\text{Tổng lượng thức ăn tiêu thụ}}{\text{Tổng số ngày con nuôi}}$$

- Hệ số chuyển hóa thức ăn (HSCHTĂ, kg TĂ/kg tăng trọng)

$$\text{HSCHTĂ} = \text{Tổng lượng thức ăn tiêu thụ} / \text{Tổng tăng trọng}$$

- Tỷ lệ heo tiêu chảy (TLHCTC, %)

$$\text{TLHCTC} = (\text{Tổng số con tiêu chảy} / \text{Tổng số con khảo sát})$$

- Tỷ lệ ngày con tiêu chảy (TLNCTC, %)

$$\text{TLNCTC} = (\text{Tổng số ngày con tiêu chảy} / \text{Tổng số ngày con nuôi}) \times 100$$

- Tỷ lệ nuôi sống (TLNS, %)

$$\text{TLNS} = (\text{Số heo còn sống} / \text{Số heo nuôi}) \times 100$$

- Tần suất sử dụng kháng sinh hàng ngày (TSSDKSHN, %)

$$\text{TSSDKS} = (\text{Tổng số lượt điều trị bằng kháng sinh} / \text{Tổng Số ngày con nuôi}) \times 100$$

2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý dựa vào phần mềm thống kê sinh học SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Đối với mỗi thực liệu và thức ăn thương mại, chúng tôi tính toán và báo cáo giá trị bình quân và độ lệch chuẩn của các chỉ tiêu như pH thực liệu, ABC-TL, BUF-TL, ABC-TATM và BUF-TATM. Đối với khẩu phần, phương trình hồi qui giữa ABC-LT và ABC-TT được thiết lập dựa trên 60 khẩu phần cho heo SCS. Mô hình thống kê như sau:

$$y = bx + a$$

Trong đó: y là ABC-TT của khẩu phần

b là hệ số hồi qui tuyến tính, biểu thị độ nghiêng

a là hệ số chặn

x là ABC-LT của khẩu phần

Số liệu thu ở nội dung 2 được xử lý theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên 2 yếu tố. Ô chuồng là đơn vị thí nghiệm và khối là trọng lượng heo lúc bắt đầu thí nghiệm. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được xác định dựa vào trung bình bình phương nhỏ nhất và trắc nghiệm Tukey. Các chỉ tiêu về tỷ lệ ngày con tiêu chảy, tỷ

lệ chết và tần suất sử dụng kháng sinh được chuyển dạng sang arsin trước khi xử lý thống kê. Ảnh hưởng của các nghiệm thức được xem là có ý nghĩa khi $P < 0,05$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barrow P. A., Fuller R. and Newport M. J., 1977. Changes in the microflora and physiology of the anteriorintestinal tract of pigs weaned at 2 days with special reference to the pathogenesis of diarrhea. *Infection and Immunity* 18: 586-595.
2. Bearson B.L., Wilson L. and Foster J.W., 1998. A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress. *Journal of Bacteriology* 180 (9): 2409-2417.
3. Bergstrom J. R., Nelssen J. L., Tokach M. D., Goodband R. D., Loughmiller J. A., Musser R. E. and Nessmith W. B. Jr., 1996. An evaluation of several diet acidifiers commonly used in pig starter diets to improve growth performance. *Kansas Agri-cultural Experiment Station Progress Report* 772: 74-78.
4. Biomin, 2010. Advantages of organic acids for hog feed and feed raw materials. *Feed Business Asia*, 40-44.
5. Blank R., Mosenthin R., Sauer W. C. and Huang S., 1999. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. *Journal of Animal Science* 77: 2974-2984.
6. Bolduan G., 1988. The regulation of the intestinal flora in piglets and sows - a new feeding strategy. In: *From Research and Practical Experience* No. 23. pp. 1-17. Ludwigshafen: BASF.
7. Bolduan G., Jung H., Schnabel E. and Schneider R., 1988. Recent advances in the nutrition of weaner pigs. *Pig News and Information* 9: 381-385.
8. Bosi P., Jung H. J., Han In K., Perini S., Cacciavillani J. A., Casini L., Creston D., Gremokolini C. and Mattuzzi S., 1999. Effects of dietary buffering characteristic and protected or unprotected acids on piglet growth,

- digestibility and characteristics of gut content. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences* 12 (7): 1104-1110.
9. Canibe N., Steien S. H., Øverland M. and Jensen B. B., 2001. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglet, and on gastric alterations. *Journal of Animal Science* 79: 2123-2133.
 10. Chế Minh Tùng và Quách Tuyết Anh, 2011. Tổng quan về ảnh hưởng của việc bổ sung axit trong thức ăn heo. *Tạp chí khoa học kỹ thuật chăn nuôi* 8: 8-17.
 11. Corthier G., Muller M.C., Elmer G.W., Lucan F. and Dubos-Ramare F., 1989. Interrelationships between digestive proteolytic activities and production and quantitation of toxins in pseudo-membranous colitis induced by *Clostridium difficile* in gnotobiotic mice. *Infection and Immunity* 57: 3922–3927.
 12. Cranwell P. D., 1985. The development of acid and pepsin (EC 3. 4. 23. 1) secretory capacity in the pig; the effects of age and weaning: 1. Studies in anaesthetized pigs. *British Journal of Nutrition* 54: 305-320.
 13. Cranwell P. D., Noakes D. E. and Hill K. J., 1976. Gastric secretion and fermentation in the suckling pig. *British Journal of Nutrition* 36: 71-86.
 14. Cranwell P.D. and Moughan P.J., 1989. Biological limitations imposed by the digestive system to the growth performance of weaned pigs. In: *Manipulating Pig Production 11* (eds. J. L. Barnett and D. P. Hennessy). Werribee, Victoria, Australia: Australian Pig Science Association, pp. 140-159.
 15. Dibner J. J. and Buttin P., 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal Applied Poultry Resreach* 11: 453-463.
 16. Ducluzeau R., 1983. Implantation and developenzymet of the gut flora in the newborn animal. *Annales de Recherches Veterinaires* 14: 354-359.

17. Easter R. A., 1988. Acidification of diets for pigs. In: *Recent Advances in Animal Nutrition* (eds. W. Haresign and D. J. A. Cole). Butterworths, London. UK. pp. 61-72.
18. Etle T., Mentschel K. and Roth F. X., 2004. Effect of organic acids on dietary self-selection by the piglet. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 13: 125.
19. Foster J.W., 1991. *Salmonella* acid shock proteins are required for the adaptative acid tolerance response. *Journal of Bacteriology* 73 (21): 6896 – 6902.
20. Fuller R., 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science* 18: 89-94.
21. Gabert V.M. and Sauer W. C., 1994. The effects of supplementing diets for weanling pigs with organic acids. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences* 3: 73-87.
22. Galfi P. and Bokori J., 1990. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. *Acta Veterinaria Hungarica* 38: 3-17.
23. Gauthier R., 2002. Intestinal health, the key to productivity - the case of organic acids. Precongreso Científico Avícola IASA XXVII convencion ANECA-WPDC. Puerto Vallarta, Jal. Mexico.
24. Gedek B., 1993. Probiotics as bioregulators. In: *Vitamine und weitere Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier* (eds. G. Flachowsky and R. Schubert). Symposium 4 (30/09-01/10), Jena, Thüringen, pp. 253-262.
25. Giesting D. W. and Easter R. A., 1985. Response of starter pigs to supplementation of corn soybean meal diets with organic acids. *Journal of Animal Science* 60 (5): 1288-1294.
26. Giesting D. W., Roos M. A. and Easter R. A., 1991. Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition on performance of starter pigs fed diets of different types. *Journal of Animal Science* 69: 2489-2496.

27. Grassmann E., Roth F. X. and Kirchgessner M., 1992. Metabolic effects of formic acid in daily use: 6. Nutritive value of organic acids in piglet rearing. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 67: 250-257.
28. Harada E., Kiriyama H., Kobayashi E. and Tsuchita H., 1988. Postnatal development of biliary and pancreatic exocrine secretion in piglets. *Comparative Biochemistry and Physiology* 91: 43-51.
29. Harada E., Niiyama M. and Syuto B., 1986. Comparison of pancreatic exocrine secretion via endogenous secretin by intestinal infusion of hydrochloric acid and monocarboxylic acid in anesthetized piglets. *The Japanese Journal of Physiology* 36: 843-856.
30. Hartman P. A., Hays W. E., Baker R. O., Neage L. W. and Carton D. V., 1961. Digestive enzyme development in the young pigs. *Journal of Animal Science* 20: 114-123.
31. Inoue R., Tsukahara T., Nakanishi N. and Ushida K., 2005. Development of the intestinal microbiota in piglet. *Journal of General and Applied Microbiology* 51: 257- 265.
32. Jasaitis D. K., Wohlt J. E. and Evans J. L., 1987. Influence of feed-ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. *Journal of Dairy Science* 70: 1391 - 1403.
33. Jensen M. S., Jensen S. K. and Jakobsen K., 1997. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the Stomach and Pancreas. *Journal of Animal Science* 75: 437-445.
34. Jongbloed A. W., 1987. In: *Phosphorus in the feeding of pigs*. Agricultural University of Wageningen, p. 343.
35. Jongbloed A. W., Mroz Z., Weij-Jongbloed R. van der. and Kemme P. A., 2000. The effects of microbial phytase, organic acid and their interaction in diets for growing pigs. *Livestock Production Science* 67: 113-122.
36. Kidder D. E. and Manners M. J., 1978. Digestibility. In: *Digestion in the pig* (eds. D. E. Kidder and M. J. Manners). Kingeton Press, Bath, UK, page. 190.

37. Kirchgessner M. and Roth F. X., 1982. Fumaric acid as a feed additive in pig nutrition. *Pig News and Information* 3: 259.
38. Kirchgessner M. and Roth F. X., 1988. Nutritive effects of organic acids in piglet rearing and pig fattening. *Übersichten zur Tierernährung* 16: 93-108.
39. Kirchgessner M. and Roth F.X., 1991. Nutritive effects of organic acids. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin* 191: 265-276.
40. Lambert R. J. and Stratford M., 1999. Weak acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology* 86: 157-164.
41. Lawlor P. G., Lynch P. B. and Caffrey P. J., 1994. Measurements of the acid binding capacity of ingredients used in diets for starter pigs. *Journal of Animal Production* 58: 468.
42. Lawlor P. G., Lynch P. B., Caffrey P. J., O'Reilly J. J. and O'Connell M. K., 2005. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. *Irish Veterinary Journal* 58 (8): 447 - 452.
43. Levic J., Prodanovic O. and Sredanovic S., 2005. Understanding the buffering capacity in feedstuffs. *Biotechnology Animal Husbandry* 21: 309 - 313.
44. Lewis C. J., Hartman P. A., Lin C. H., Baker R. O. and Carton D. V., 1957. Digestive enzyme development in the young pigs. *Journal of Animal Science* 20: 114.
45. Lindemann M. D., Cornelius S. G., El Kandelgy S. M., Moser R. L. and Pettigrew J. E., 1986. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. *Journal of Animal Science* 62: 1298-1307.
46. Lupton J. R. and Krutz P. P., 1993. Relationship of colonic luminal short-chain fatty acids and pH to in vivo cell proliferation in rats. *Journal of Nutrition* 123: 1522-1530.

47. Mahan D. C., Newton E. A. and Cera K. R., 1996. Effect of supplemental sodium chloride, sodium phosphate, or hydrochloric acid in starter pig diets containing dried whey. *Journal of Animal Science* 74:1217-1222.
48. Makkink C., 2001. Acid binding capacity in feedstuffs. *Feed International* 22 (10): 24 – 27.
49. Mathew A. G., Franklin M. A., Upchurch W. G. and Chattin S. E., 1996. Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs. *Nutrition Research* 16 (5): 817-827.
50. Mayer E. A., 1994. The physiology of gastric storage and emptying. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract 3rd ed* vol. 1 (ed. L. R. Johnson). Lippencott Raven Press, New York, pp. 929-976.
51. Mroz Z., 2000. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. In: *Phytase in Animal Nutrition*. Proc. nnu.Conf, Lublin, Poland. page 1.
52. Nursey I., 1997. The control of *Salmonella*. *Kraftfutter* 10, 419 - 422.
53. Øverland M., Granli T., Kjos N. P., Fjetland O., Steien S. H. and Stokstad M., 2000. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* 78: 1875-1884.
54. Partanen K. H. and Mroz Z., 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews* 12: 117 - 145.
55. Partanen K., 2001. Organic acids – Their efficacy and modes of action in pigs. In: *Gut Environment of Pigs* (eds. A. Piva, K. E. Bach Knudsen, and J. E. Lindberg). Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 201.
56. Pluske J. R., Pethick D. W., Hopwood D. E. and Hampson D. J., 2002. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. *Nutrient Research Reviews* 15: 333-371.
57. Pratt V.C., Tappenden K. A., McBurney M. I. and Field C. J., 1996. Short chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition improves nonspecific

- immunity after intestinal resection in rats. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 20: 264-271.
58. Prohaszka L. and Baron F., 1980. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. *Zentralblatt für eterinärmedizin* 27: 222 - 232.
59. Radecki S. V., Juhl M. R. and Miller E. R., 1988. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: Effect on performance and nutrient balance. *Journal of Animal Science* 66: 2598-2605.
60. Ravindran V. and Kornegay E. T., 1993. Acidification of weaner pig diets: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62: 313-322.
61. Reither B., Marshal V. M. and Philips S. M., 1980. The antibiotic acitivity of the lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide system in the calf abomasum. *Research in Veterinary Science* 28: 116-122.
62. Risley C. R., Kornegay E. T., Lindemann M. D., Wood C. M. and Eigel W. N., 1992. Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. *Journal of Animal Science* 70: 196-206.
63. Roe A. J., McLaggan D., Davidson I., Oayrne C. and Booth I. R., 1998. Perturbation of anion balance during inhibition of growth of *Escherichia coli* by weak acids. *Journal of Bacteriology* 180 (4): 767-772.
64. Roselli M., Finamore A., Britti M.S., Bosi P., Oswald I. and Enzymegheri E., 2005. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. *Animal Research* 54: 203-218.
65. Roth F. X. and Kirchgessner M., 1989. Significance of dietary pH and buffering capacity in piglet nutrition. 1. pH and buffering capacity in diets supplemented with organic acids. *Landwirtschaftliche Forschung* 42: 157-167.

66. Roth F. X., Kirchgessner M. and Paulicks B. R., 1996. Nutritive use of feed additives based on diformates in the rearing and fattening of pigs and their effects on performance. *Agricultural and Biological Research* 49 (4): 307-317.
67. Sakata T., Adachi M., Hashida M., Sato N. and Kojima T., 1995. Effect of n-butyric acid on epithelial cell proliferation of pig colonic mucosa in short-term culture. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 102: 163-164.
68. Schoenherr W. D., 1994. Phosphoric acid-based acidifiers explored for starter diets. *Feedstuffs* 66 (40, Sept. 26).
69. Sciopini R., Zaghini G. and Biavati B., 1978. Researches on the use of acidified diets for early weaning of piglets. *Zootechnol Nutr. Anim.* 4: 201-218.
70. Sissons J. W., 1989. Potential of probiotic organisms prevent diarrhea and promote digestion in farm animals - A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 49: 1-13.
71. Smith H. W. and Jones J. E. T., 1963. Observations on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs. *Journal of Pathology & Bacteriology* 86: 387-412.
72. Smulders A. C. M. J., Veldman A., and Enting H., 1999. Effect of antimicrobial growth promoter in feeds with different levels of undigestible protein on broiler performance. Proc. *World's Poultry Science Association WPSA*, Veldhoven, The Netherlands.
73. Stonerock R., 2009. Possibilities of *Salmonella* control with the aid of acidifiers. In: *Acidifiers in Animal Nutrition: A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance* 2nd edition (ed. C. Lückstädt). Nottingham University Press, Erber AG, Austria, pp. 21 - 29.
74. Taylor W. H., 1959. Studies on gastric proteolysis. *Biochemical Journal* 71: 627-632.

75. Thaela M. J., Jensen M. S., Pierzynowski S. G., Jakob S. and Jensen B. B., 1998. Effect of lactic acid supplementation on pancreatic secretion in pigs after weaning. *Journal of Animal and Feed Sciences* 7 (1): 181-183.
76. Trần Thị Dân, 2004. *Sinh sản heo nái và sinh lý heo con*. NXB Nông nghiệp, Tp.HCM, trang 66-103.
77. Tschierschwitz A., Grassmann E., Kirchgessner M. and Roth F. X., 1982. The effect of fumaric acid supplements on activities of liver enzymes (GOT, GPT, SUCCDH) with different supplies of energy and protein to growing rats. *Zeitschrift fur Tierphysiologie, Tierernahrung und Futtermittelkunde*. 48: 253-259.
78. Walsh M. C., Sholly D. M., Hinson R. B., Saddoris K. L., Sutton A. L., Radcliffe J. S., Odgaard R., Murphy J. and Richert B. T., 2007. Effects of water and diet acidification with and without antibiotics on weanling pig growth and microbial shedding. *Journal of Animal Science* 85: 1799-1808.