

## **ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC BỔ SUNG TANIN TRONG CHÈ XANH ĐẾN KHẢ NĂNG SẢN XUẤT VÀ PHÁT THẢI KHÍ MÊTAN TỪ DẠ CỎ CỦA BÒ SỮA**

Trần Hiệp<sup>1\*</sup>, Phạm Kim Đăng<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Bằng<sup>1</sup>, Chu Mạnh Thắng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

<sup>2</sup>*Viện Chăn nuôi Quốc gia*

Email\*: tranhiep@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 13.10.2015

Ngày chấp nhận: 03.05.2016

### TÓM TẮT

Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung tanin từ phụ phẩm chè xanh tới lượng thu nhận các chất dinh dưỡng, năng suất sữa, hiệu quả sử dụng thức ăn, mức độ và cường độ phát thải khí mêtan (CH<sub>4</sub>) của bò đang tiết sữa đã được đánh giá thông qua hai đợt thí nghiệm từ tháng 2 đến tháng 5/2015 (đợt 1) và từ tháng 6 đến tháng 9/2015 (đợt 2), mỗi đợt kéo dài 105 ngày (15 ngày nuôi thích nghi và 90 ngày thí nghiệm). Ở mỗi đợt thí nghiệm, 12 bò Holstein Friesian đang tiết sữa ở tháng 3-5, chu kỳ tiết sữa 2-6, có khối lượng trung bình 575,27 kg và năng suất sữa trung bình 22,13 kg/con/ngày được phân thành 4 lô: lô đối chứng (ĐC, khẩu phần cơ sở) và ba lô thí nghiệm được ký hiệu KP0.3, KP0.5 và KP0.7 tương ứng với ba mức 0,3%, 0,5% và 0,7% tanin (% DM) thông qua việc bổ sung bột phụ phẩm chè xanh vào khẩu phần cơ sở. Kết quả cho thấy khẩu phần bổ sung tanin đã làm tăng lượng thu nhận ME (1,15%, 1,96% và 5,7%) và CP (1,49%, 2,99% và 7,09%) tương ứng với các lô KP0.3, KP0.5 và KP0.7 so với lô ĐC. Trong đó, mức bổ sung 0,3% và 0,5% tanin không làm ảnh hưởng tới tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng nhưng mức bổ sung 0,7% tanin đã làm giảm tỷ lệ tiêu hóa (giảm 5% đến 10% tùy theo chất dinh dưỡng tiêu hóa). Bổ sung tanin đã làm tăng năng suất sữa (4,59%, 8,93% và 8,74%) (P < 0,05), đồng thời làm giảm lượng phát thải khí mêtan (7,47%, 22,77% và 8,62%) và giảm cường độ phát thải tính cho 1 kg vật chất khô thu nhận (DMI) (8,40%; 24,06% và 17,50%) hay tính cho 1 kg sữa tiêu chuẩn (FCM) (20,70%; 31,58% và 18,36%) tương ứng với các mức bổ sung 0,3%, 0,5% và 0,7% tannin trong khẩu phần (P < 0,05). Như vậy, bổ sung 0,5% tannin vào khẩu phần đã cải thiện năng suất chăn nuôi và hiệu quả môi trường.

Từ khoá: Bò tiết sữa, phát thải khí mêtan, phụ phẩm chè xanh, tanin.

### **Effects of Tea Tannin on Performance and Methane Emissions from Lactating Dairy Cows**

#### ABSTRACT

The effects of tannin from tea residue on the nutrient intake, milk yield, feed utilization efficiency, and the level and intensity of methane emissions (CH<sub>4</sub>) of lactating dairy cows were investigated in two experimental periods (from Feb to May and from Jun to September 2015), each period lasted 105 days (including: 15 days for adaptation + 90 days for data collection). In each experimental period, 12 lactating Holstein Friesian cows with an average body weight of 557.27 kg at 3-5<sup>th</sup> lactating months, 2-6<sup>th</sup> lactation cycles and milk yield of 22.13 l/head/day were randomly allocated into a randomized complete block design comprising 4 treatments. The control group received basal diet and, three other experiment groups were added with three different levels of tannin (% DM, i.e. Group T0.3: basal diet + 0.3% tannin, group T0.5: basal diet + 0.5% tannin, and group T0.7: basal diet + 0.7% tannin. The basal diet composed of corn silage (14 kg/d) + tender corm stove (29 kg/d) + TMR feed (5 kg/d) + alfafa (5 kg/d) + concentrate ((milk yield - 5) x 0.5 kg/d) + natural grass (*ad libitum*). Tannin was directly supplemented from tea residue based on its tannin level. Results showed that tea tannin supplement increased ME intake (by 1.15%, 1.96% and 5.7%) and CP intake (by 1.49%, 2.99% and 7.09%) corresponding to T0.3, T0.5 and T0.7 diets, compared with the control. Tannin supplements at 0.3% and 0.5% levels had no effect on digestibility but reduced digestibility at 0.7% level (by 5-10% depending on different nutrients). Tannin supplement increased milk yield (by 4.59%, 8.93% and 8.74% corresponding to T0.3, T0.5 and T0.7 diets) (P<0.05). In contrast, tannin supplement reduced total methane

emissions (by 7.47%, 22.77% and 8.62%) and methane emissions intensity calculated as L/kg dry matter intake (DMI) by 8.40%, 24.06%, 17.50% or as L/kg fat corrected milk (FCM) by 20.70%, 31.58%, and 18.36% ( $P < 0.05$ ). As a result, tannin supplement at 0,5% DMI improved animal performance and environment efficiency.

Keywords: Methane emissions, lactating dairy cows, tannin, tea residue.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo dự báo của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và Chương trình biến đổi khí hậu, nông nghiệp và an ninh lương thực (CCAFS), tổng lượng phát thải khí nhà kính (KNK) từ chăn nuôi tại Việt Nam trong năm 2010 khoảng 18,03 triệu tấn  $\text{CO}_2$  quy đổi, chiếm 20,4% tổng phát thải KNK trong nông nghiệp và con số này được dự báo sẽ tăng lên tới 24,95 triệu tấn, chiếm 24,8% vào năm 2020 (Nguyễn Tiến Dũng, 2015). Trong tổng lượng mêtan thải ra từ hoạt động chăn nuôi thì lượng mêtan từ chăn nuôi gia súc nhai lại là lớn nhất, khoảng 74% (Tamminga, 1992). Như vậy, nguy cơ phát thải  $\text{CH}_4$  vẫn tiếp tục tăng lên do số đầu con và quy mô chăn nuôi đang tăng liên tục để đáp ứng nhu cầu thịt, sữa ngày càng cao của con người (Leng, 2008).

Để giảm  $\text{CH}_4$  ở dạ cỏ cần tìm cách giảm sự tạo ra hydro, ngăn chặn và hạn chế sự hoạt động của nhóm vi khuẩn sinh  $\text{CH}_4$ , đưa hydro vào các sản phẩm trao đổi chất khác hoặc hạn chế sự hoạt động của nhóm protozoa (O'Mara *et al.*, 2008). Giảm thiểu mêtan phải đi liền với con đường trao đổi chất tiêu thụ hydro để tránh hiệu quả tiêu cực khi có quá nhiều hydro trong dạ cỏ (Martin *et al.*, 2008). Một trong những hướng nghiên cứu đang được quan tâm hiện nay là bổ sung các chất chiết có nguồn gốc thực vật, vừa có tác dụng giảm thiểu lượng khí phát thải trong dạ cỏ, vừa đảm bảo sức khỏe cho con vật và con người. Cây chè (*Camellia sinensis*) là một loại cây công nghiệp được trồng phổ biến ở Việt Nam. Thân và lá cây chè không những có hàm lượng protein thô cao (24%DM) mà còn giàu các hợp chất thực vật thứ cấp như tanin (17,6% DM) và saponin (27,6% DM) (Ramdani *et al.*, 2013). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng tanin và saponin là những hợp chất của thực vật có tác dụng ức chế hoạt động của các nhóm vi khuẩn sinh khí mêtan, ức chế hoạt động của protozoa và do đó có tác dụng giảm thiểu sự phát thải khí mêtan từ gia súc nhai lại (Hu *et al.*, 2005;

Huang *et al.*, 2010; Mao *et al.*, 2010; Puchala *et al.*, 2012). Jayanegara *et al.* (2012) phân tích một cách có hệ thống 15 thí nghiệm *in vitro* và 15 thí nghiệm *in vivo* đánh giá ảnh hưởng của các mức tanin (chủ yếu ở mức 0 - 2,3%), các nguồn và các cách bổ sung tanin khác nhau vào khẩu phần đến lượng phát thải khí mêtan từ gia súc nhai lại và chỉ ra rằng mức bổ sung tanin luôn tỷ lệ nghịch với cường độ phát thải khí mêtan. Trong số 15 thí nghiệm *in vivo* được xem xét trong bài tổng quan này và các nghiên cứu khác về việc bổ sung tanin vào khẩu phần cho gia súc nhai lại, có rất ít thí nghiệm nào đề cập tới nguồn tanin từ phụ phẩm chè xanh. Chính vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung tanin từ bột phụ phẩm chè xanh ở các mức (0; 0,3; 0,5 và 0,7%) đến sự phát thải khí mêtan và năng suất sữa của bò với giả thiết rằng bột phụ phẩm chè xanh (có ưu điểm rẻ tiền, giàu protein và giàu các chất chiết suất thực vật) sẽ vừa giúp nâng cao năng suất sữa vừa giúp giảm thiểu khí mêtan từ dạ cỏ bò sữa.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Hai đợt thí nghiệm được tiến hành tại Công ty cổ phần giống bò sữa Mộc Châu - thị trấn Nông trường Mộc Châu - huyện Mộc Châu - tỉnh Sơn La từ tháng 2 đến tháng 5 (đợt 1) và từ tháng 6 đến tháng 9 năm 2015 (đợt 2).

### 2.2. Gia súc và thức ăn thí nghiệm

Hai mươi bốn bò Holstein Friesian (HF) có khối lượng trung bình là  $575,27\text{kg} \pm 11,26\text{kg}$ , đang tiết sữa ở tháng thứ 3-5, chu kỳ tiết sữa 2 đến 6; năng suất sữa trung bình là 22,13 kg/con/ngày được chọn để sử dụng trong hai đợt thí nghiệm.

Thức ăn thí nghiệm bao gồm các loại thức ăn phổ biến tại vùng nghiên cứu: thân cây ngô chín sấp (90-100 ngày tuổi) đã ủ chua (thời gian

ủ là 60-90 ngày), cây ngô non, cỏ tự nhiên, cỏ Alfafa khô, thức ăn thô hỗn hợp và thức ăn tinh. Các loại thức ăn thô xanh được cắt ngắn 10 - 15cm. Nguồn tanin sử dụng là phụ phẩm chè xanh (đã được nghiền thành bột) có hàm lượng protein thô (CP) 22,88% và hàm lượng tanin 24,11%. Bột phụ phẩm chè xanh được bổ sung trực tiếp vào khẩu phần qua thức ăn tinh và cho ăn trước khi cho ăn thức ăn thô. Tất cả các loại thức ăn thô được trộn đều trước khi cho ăn.

### 2.3. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu phân lô so sánh với 2 đợt thí nghiệm, mỗi đợt kéo dài 105 ngày (15 ngày nuôi thích nghi và 90 ngày thí nghiệm). Ở mỗi đợt thí nghiệm, 12 bò HF được bố trí vào 4 lô (mỗi lô 3 bò): 3 lô thí nghiệm (KP0.3, KP0.5, KP0.7) và lô đối chứng (ĐC) sao cho đảm bảo đồng đều các yếu tố tuổi, chu kỳ tiết sữa và năng suất sữa trung bình/ngày (bảng 1). Trong thời gian nuôi thích nghi, lượng thức ăn thu nhận và thành phần DM của khẩu phần cơ sở được phân tích để làm cơ sở cho việc tính toán lượng bột phụ phẩm chè xanh cần bổ sung vào khẩu phần sao cho đảm bảo lượng tanin từ bột chè xanh chiếm 0, 0,3, 0,5 và 0,7% DM thu nhận ở các khẩu phần ĐC, KP0.3, KP0.5 và KP0.7. Sau mỗi tuần, lượng chè xanh được tính dựa trên xu hướng thu nhận thức ăn của tuần trước đó.

### 2.4. Nuôi dưỡng và quản lý

Thời gian nuôi thích nghi, bò được tiêm phòng bệnh tụ huyết trùng, lở mồm long móng và tẩy giun sán theo quy định của thú y đồng

thời chúng được nhốt riêng và cho ăn hai lần vào buổi sáng (8h) và buổi chiều (16h), nước uống cung cấp tự do. Thức ăn cung cấp và thức ăn thừa được cân hàng ngày trước khi cho ăn. Giai đoạn xác định tỷ lệ tiêu hóa, bò được nuôi nhốt riêng để tiến hành thu phân theo cá thể.

### 2.5. Xác định các chỉ tiêu

Phương pháp lấy mẫu, xác định thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng: Mẫu thức ăn gia súc lấy theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4325:2007. Các chỉ tiêu phân tích bao gồm: vật chất khô (DM), chất hữu cơ (OM), chất béo thô (EE), năng lượng trao đổi (ME), protein thô (CP), xơ trung tính (NDF), xơ axit (ADF) và khoáng tổng số (Ash). DM, CP, EE và Ash được phân tích theo các tiêu chuẩn tương ứng TCVN 4326:2001, TCVN 4328:2007, TCVN 4331:2001 và TCVN 4327:2007. NDF và ADF được phân tích theo của Goering và Van Soest (1970). Giá trị ME được ước tính theo NRC (2001) ( $GE \text{ (kcal)} = 4143 + 56EE + 15CP - 44Ash$  (các giá trị EE, CP, Ash tính theo% DM);  $DE \text{ (Mj/kg DM)} = - 4,4 + 1,10GE \text{ (Mj)} - 0,024CF \text{ (g)}$ ;  $ME \text{ (Mj/kg DM)} = 0,82DE$ ). Thành phần tanin của chè xanh được phân tích theo phương pháp của Makkar (2003). Các mẫu thức ăn và mẫu phân được phân tích tại Phòng thí nghiệm trung tâm - Khoa Chăn nuôi.

*Lượng thức ăn thu nhận hàng ngày:* Lượng thức ăn thu nhận hàng ngày của bò được xác định bằng cách cân lượng thức ăn cho ăn, thức ăn thừa hàng ngày theo từng cá thể sử dụng cân đồng hồ Nhơn Hòa (loại cân 5kg và 150kg). Hàng tháng thức ăn cho ăn và thức ăn thừa được

**Bảng 1. Sơ đồ thiết kế thí nghiệm**

Chỉ tiêu	ĐC	KP0.3	KP0.5	KP0.7
Gia súc	3	3	3	3
Tháng tiết sữa	3-5	3-5	3-5	3-5
Chu kỳ tiết sữa	2-6	2-6	2-6	2-6
Số lần lặp lại	2	2	2	2
Khẩu phần cơ sở	Cỏ tự nhiên: bò ăn tự do Ngô ủ: 14 kg/con/ngày; cây ngô: 29 kg/con/ngày; cỏ Alfafa: 5 kg/con/ngày Thức ăn thô hỗn hợp <sup>(1)</sup> : 5 kg/con/ngày; Thức ăn tinh: $(SL \text{ sữa kg/ngày} - 5) * 0,5$			
Mức bổ sung tanin (% DM thu nhận)	0	0,3	0,5	0,7

Ghi chú: <sup>(1)</sup>Thức ăn thô hỗn hợp (TMR) do Công ty cổ phần giống bò sữa Mộc Châu sản xuất

**Bảng 2. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm**

Thức ăn	DM %	ME kcal/kg DM	CP % DM	NDF % DM	ADF % DM	EE % DM	Ash % DM
Bột chè xanh (24,11% tanin)	90,67	2816	22,88	32,45	21,13	2,08	6,36
Cây ngô ủ chua	19,39	2140	8,64	64,95	37,10	2,23	5,60
Cây ngô	4,56	2204	15,34	67,73	35,46	1,8	8,87
Cỏ xanh	35,11	2166	10,20	65,22	34,17	2,92	7,60
Cỏ Alfalfa	83,61	2199	14,65	51,98	35,26	2,35	8,27
Thức ăn thô hỗn hợp	49,56	2547	13,21	50,21	29,46	2,31	8,40
Thức ăn tinh	83,20	3021	17,30	55,52	13,36	0,62	9,94

Ghi chú: DM: chất khô; ME: năng lượng trao đổi; OM, chất hữu cơ; CP, Protein thô; NDF: xơ tan trong môi trường trung tính; ADF: xơ tan trong môi trường axi; EE: chất béo thô; Ash: khoáng tổng số

được lấy mẫu theo quy trình của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4325:2007 để phân tích thành phần hóa học (DM, CP, NDF, ADF và khoáng tổng số) và ước tính giá trị ME. Lượng thức ăn thu nhận được tính toán dựa trên lượng thức ăn cho ăn, lượng thức ăn thừa và giá trị dinh dưỡng của các loại thức ăn.

**Xác định tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng:** Tổng lượng thức ăn cho ăn, thức ăn thừa và tổng lượng phân thải ra được xác định liên tục 4 ngày cuối của tháng thí nghiệm thứ nhất và tháng cuối (các ngày 26-30 và 52-56). Mẫu thức ăn cho ăn và thức ăn thừa được lấy theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4325:2007. Mẫu phân được lấy ở mức 5% tổng lượng phân thải ra. Mẫu thức ăn và mẫu phân được thu thập và bảo quản trong tủ lạnh âm sâu (-20°C). Đến cuối kỳ thu phân, các mẫu thức ăn cho ăn, mẫu thức ăn thừa, mẫu phân được trộn đều theo cá thể, lấy mẫu đại diện và gửi đi phân tích các chỉ tiêu DM, CP, NDF, ADF và Ash. Tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng được tính dựa trên tổng lượng dinh dưỡng thu nhận và thải ra trong phân.

**Xác định khối lượng cơ thể:** Khối lượng bò được xác định ở các thời điểm bắt đầu thí nghiệm và kết thúc thí nghiệm bằng cân bằng cân điện tử RudWeight (Úc). Bò được cân từng con vào buổi sáng, trước khi cho ăn và được cân liên tiếp trong hai ngày để lấy số liệu trung bình.

**Xác định năng suất sữa:** Năng suất sữa hàng ngày của từng cá thể bò được cân bằng cân đồng hồ Nhơn Hòa (loại cân 60 kg). Mẫu sữa được lấy hàng tuần theo TCVN 5860:2007 để

phân tích tỷ lệ mỡ sữa trong thời gian thí nghiệm tiêu hóa và thời gian thu khí xác định mêtan thải ra. Hàm lượng mỡ sữa được xác định bằng máy Eko Milk Analyzer. Năng suất sữa tiêu chuẩn (FCM) được tính theo công thức: FCM (kg) = 0,4 x Năng suất sữa thực tế (kg) + 15 x Lượng mỡ sữa thực tế (kg).

**Xác định lượng CH<sub>4</sub> thải ra:** Lượng mêtan thải ra hàng ngày được xác định theo phương pháp của Madsen *et al.* (2010) dựa trên tỷ lệ CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> thải ra từ dạ cỏ. Mẫu khí được thu thập 2 ngày liên tục ở hai đợt: bắt đầu thí nghiệm (sau 15 ngày nuôi thích nghi) và kết thúc thí nghiệm. Tại mỗi ngày lấy mẫu, mẫu khí sẽ được lấy 2 lần (trước và sau khi cho ăn vào buổi sáng). Phương pháp thu thập mẫu khí và đo trên máy được tiến hành theo hướng dẫn của Sophea và Preston (2011) như sau: từng gia súc được nhốt trong chuồng kín di động (có bố trí quạt đảo mẫu) trong vòng 10-15 phút. Sau đó mẫu khí được bơm vào dụng cụ đựng khí có tính chống thấm thấu khí và gửi đi phân tích nồng độ CH<sub>4</sub> và CO<sub>2</sub> trong vòng ba ngày. Mẫu khí được phân tích bằng máy GASMET Portable Analyser tại phòng thí nghiệm Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh theo quy trình của nhà sản xuất. Lượng khí CH<sub>4</sub> thải ra được tính theo công thức của Madsen *et al.* (2010):

$$\text{Tổng CH}_4 \text{ thải ra (lít/ngày)} = a \times (b-d)/(c-e)$$

Trong đó: a là lượng CO<sub>2</sub> thải ra, l/ngày

b là nồng độ CH<sub>4</sub> bên trong cũi tiêu hóa, ppm

c là nồng độ CO<sub>2</sub> bên trong cũi tiêu hóa, ppm

d là nồng độ CH<sub>4</sub> bên ngoài cũi tiêu hóa, ppm  
e là nồng độ CO<sub>2</sub> bên ngoài cũi tiêu hóa, ppm

Lượng khí CO<sub>2</sub> thải ra/ngày (a) được ước tính từ tổng lượng ME ăn vào và tổng lượng nhiệt sản sinh theo công thức: a (lít/ngày) = tổng lượng nhiệt sản sinh (HP, heat production)/21,75. Đối với bò sữa: HP (kj) = kj ME ăn vào - (kg tăng khối lượng x 20.000kj/kg tăng khối lượng) - (kg sữa chuẩn x 3.130kj/kg sữa chuẩn).

Tổng lượng CH<sub>4</sub> thải ra mỗi ngày được sử dụng để tính toán cường độ phát thải mêtan: lượng CH<sub>4</sub> thải ra theo kg DM, NDF, ADF thu nhận (tương ứng là l/kg DM, l/kg NDF, l/kg ADF) và lượng CH<sub>4</sub> thải ra theo khả năng sản xuất sữa (l/kg FCM).

*Phương pháp quy đổi khí mêtan ra năng lượng thô:* Theo Brouwer (1965), 1 lít CH<sub>4</sub> tương đương 0,71 g metan và tương đương 0,04 MJ năng lượng thô (GE).

## 2.6. Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý thống kê mô tả và thống kê so sánh bằng phần mềm Minitab 16, sử dụng phép so sánh Tukey ở mức ý nghĩa P < 0,05.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của bổ sung tanin đến lượng thức ăn thu nhận

Khi bổ sung tanin từ chè ở các mức thí nghiệm đã không làm ảnh hưởng đến lượng thức ăn thu nhận, lượng thu nhận chất khô (% KL)

dao động từ 3,61 đến 3,64% và giữa các lô không có sự sai khác (P > 0,05) (Bảng 3). Như vậy, ở các mức tanin này không ảnh hưởng đến tính ngon miệng của khẩu phần.

Lượng thu nhận thức ăn đối với một loại thức ăn phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có các yếu tố chính là nhu cầu dinh dưỡng và giới hạn của đường tiêu hoá. Bên cạnh đó còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố phụ như cân bằng dinh dưỡng của khẩu phần. Trong thí nghiệm này, lượng thu nhận năng lượng ME có xu hướng tăng tỷ lệ thuận với mức bổ sung và khẩu phần tanin từ bột phụ phẩm chè xanh. Tương tự như vậy, hàm lượng CP thu nhận ở các khẩu phần có bổ sung tanin cũng tăng lên 1,49%, 2,99% và 7,09% so với ĐC, tương ứng với các khẩu phần T0.3, T0.5 và T0.7. Các chất dinh dưỡng thu nhận như OM, NDF và ADF của các khẩu phần bổ sung tanin và phần lượng chất khô thu nhận tính theo kg/c/ngày, % khối lượng cơ thể đều không có sự sai khác về ý nghĩa thống kê (P > 0,05) (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu của Kguerer *et al.* (2010) cũng cho thấy việc bổ sung tanin từ cây keo đen (*Acacia mearnsii*) vào khẩu phần ăn của bò đực ở mức 14,9 g/kg DM đã không làm giảm lượng thu nhận các chất hữu cơ của khẩu phần.

### 3.2. Ảnh hưởng của bổ sung tanin đến tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng

Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung từ 0,3% đến 0,7% tanin vào khẩu phần đã làm giảm đáng kể tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng.

**Bảng 3. Lượng thức ăn thu nhận các chất dinh dưỡng**

Chỉ tiêu	ĐC	KP0.3	KP0.5	KP0.7	SEM	P-value
Chất khô thu nhận						
kg/c/ngày	19,85	20,05	20,19	20,83	0,18	0,135
% KL cơ thể	3,64	3,64	3,55	3,61	0,08	0,380
Chất dinh dưỡng thu nhận						
ME, Mcal/c/ngày	50,75 <sup>b</sup>	51,33 <sup>ab</sup>	51,74 <sup>ab</sup>	53,64 <sup>a</sup>	0,52	0,000
OM, kg/c/ngày	18,19	18,38	18,52	19,10	0,17	0,062
CP, kg/c/ngày	2,68	2,72	2,76	2,87	0,03	0,138
NDF, kg/c/ngày	11,94	12,01	12,06	12,38	0,11	0,016
ADF, kg/c/ngày	5,06	5,10	5,13	5,23	0,04	0,149

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,05).

**Bảng 4. Tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng**

Tỷ lệ tiêu hóa (%)	ĐC	KP0.3	KP0.5	KP0.7	SEM	P-value
DM	71,12 <sup>a</sup>	69,91 <sup>ab</sup>	69,04 <sup>ab</sup>	64,53 <sup>b</sup>	1,44	0,016
OM	73,02 <sup>a</sup>	71,89 <sup>ab</sup>	71,09 <sup>ab</sup>	66,86 <sup>b</sup>	1,34	0,016
CP	74,54 <sup>a</sup>	73,61 <sup>ab</sup>	72,95 <sup>ab</sup>	69,43 <sup>b</sup>	1,27	0,040
NDF	71,97 <sup>a</sup>	70,66 <sup>a</sup>	69,71 <sup>ab</sup>	65,00 <sup>b</sup>	1,40	0,008
ADF	61,09 <sup>a</sup>	59,41 <sup>a</sup>	58,16 <sup>a</sup>	50,47 <sup>b</sup>	1,89	0,002

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Bảng 5. Sự thay đổi khối lượng bò và năng suất sữa**

Chỉ tiêu	ĐC	KP0.3	KP0.5	KP0.7	SEM	P
<i>Thay đổi khối lượng</i>						
KL bắt đầu, kg	543,22	552,50	568,00	565,35	26,93	0,206
KL kết thúc, kg	550,92	562,3	578,90	572,7	27,42	0,082
KL trung bình, kg	547,07 <sup>c</sup>	557,35 <sup>bc</sup>	573,46 <sup>ab</sup>	579,02 <sup>a</sup>	26,44	0,041
<i>Năng suất sữa</i>						
NS đầu kỳ, kg FCM/ngày	22,16	21,08	22,87	22,41	0,42	0,085
NS cuối kỳ, kg FCM/ngày	18,75	18,12	21,20	21,46	0,36	0,051
NS trung bình, kg FCM/ngày	20,26 <sup>b</sup>	19,33 <sup>b</sup>	22,07 <sup>a</sup>	22,03 <sup>a</sup>	0,41	0,046
Hệ số sụt sữa, %/tuần	-4,80	-3,70	-2,08	-1,08	-	-

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ), KL là khối lượng, NS là năng suất.

Các khẩu phần bổ sung tanin đều có tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng thấp hơn so với khẩu phần đối chứng, thấp nhất ở lô KP0.7 (giảm tỷ lệ tiêu hóa DM và ADF 6,59% và 10,62%) (Bảng 4). Kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Tiemann *et al.* (2008). Theo tác giả này, khi bổ sung tannin từ cây keo củi (*Calliandra calothyrsus*) và cây đậu *Flemingia macrophyll* vào khẩu phần ăn của cừu SwissWhite ở mức 1,11 - 1,75% DM mặc dù đã làm giảm lượng phát thải khí mêtan, tuy nhiên cũng làm giảm tỷ lệ tiêu hoá OM, CP, NDF và ADF. Tương tự như vậy, các thí nghiệm của Bhatta *et al.* (2009), Patra *et al.* (2006), Grainger *et al.* (2009) cũng cho thấy rằng việc bổ sung tanin tách chiết và các cây chứa tanin đã làm giảm tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng trong cả điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

### 3.3. Ảnh hưởng của bổ sung tanin đến khối lượng bò và năng suất sữa

Khối lượng trung bình của bò ở các lô thí nghiệm tỷ lệ thuận với các mức bổ sung tanin vào khẩu phần mặc dù khối lượng của bò ở các lô khi bắt đầu thí nghiệm là tương đương nhau. Khối lượng trung của bò bình tăng trong khoảng 7,7 kg đến 10,85 kg. Điều này hoàn toàn hợp lý vì khi bổ sung bột chè xanh vào khẩu phần đã làm tăng mật độ năng lượng cũng như hàm lượng protein thô. Đặc biệt tanin còn có vai trò bảo vệ protein thức ăn, tạo nguồn protein thoát qua hữu ích cho gia súc cao sản. Do đó, điều này có thể dẫn đến hiệu quả sử dụng protein của khẩu phần cao hơn khi bổ sung tanin ở mức hợp lý.

Kết quả cũng cho thấy mức bổ sung bột phụ phẩm chè xanh có ảnh hưởng đến năng suất

sữa, lô KP0.5 có năng suất sữa trung bình cao nhất (22,07 kg FCM/ngày), tiếp theo là lô KP0.7 (22,03 kg FCM/ngày), lô ĐC và lô KP0.3 có năng suất sữa trung bình thấp nhất (tương ứng là 20,26 kg FCM/ngày và 19,33 kgFCM/ngày). Như vậy, khi bổ sung tanin ở mức 0,5% và 0,7% đã làm tăng năng suất sữa. Khi xem xét đến hệ số sụt sữa, bảng 5 cho thấy hệ số sụt sữa của tất cả các khẩu phần thí nghiệm đều thấp hơn so với khẩu phần ĐC. Như vậy, việc bổ sung tanin đã làm tăng năng suất sữa và sự ổn định lâu dài ở mức cao của đường cong tiết sữa.

Việc sử dụng bột phụ phẩm chè xanh trong khẩu phần ăn của bò đã làm tăng năng suất sữa có thể được giải thích trước hết là do tanin trong chè xanh có thể kết hợp với protein trong khẩu phần tạo phức hợp tanin-protein. Phức hợp này ổn định trong môi trường dạ cỏ và chỉ bị phân tách trong dạ múi khế và phần trước của tá tràng nơi có pH thấp. Quá trình này có tác dụng bảo vệ protein khi qua dạ cỏ và làm tăng tỷ lệ các axit amin có trong thức ăn thoát qua khỏi dạ cỏ (Waghorn, 1990). Hơn thế nữa bản thân bột phụ phẩm chè xanh có hàm lượng protein rất cao (CP 22,88%DM) do đó việc bổ sung bột phụ phẩm chè xanh cũng đồng nghĩa với việc bổ sung đáng kể một lượng protein vào khẩu phần. Do đó sản lượng sữa ở các lô thí nghiệm cao hơn so với lô đối chứng.

### 3.4. Ảnh hưởng của bổ sung tanin đến mức độ và cường độ phát thải khí mêtan

#### - Mức độ phát thải khí mêtan

Tổng nhiệt sản sinh giảm theo các mức bổ sung tanin như KP0.3 giảm 7,34%, KP0.5 giảm 4,60%, nhưng lại tăng ở KP0.7 (10,95%). Tổng lượng khí CO<sub>2</sub> ở các khẩu phần bổ sung tanin so với khẩu phần ĐC giảm 7,34% ở KP0.3, giảm 4,60% ở KP0.5 nhưng lại tăng 10,95% ở KP0.7. Khi xác định tỷ lệ CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>, kết quả nghiên cứu cho thấy ở lô ĐC và KP0.3 (0,111) đạt giá trị cao nhất, thấp nhất là KP0.7 và KP0.5 (0,090).

Lượng khí mêtan sinh ra ở tất cả các khẩu phần thí nghiệm bổ sung tanin đều thấp hơn so với đối chứng. Đặc biệt, lượng khí mêtan sinh ra đạt thấp nhất ở khẩu phần bổ sung tanin 0,5% (394,77 l/ngày). Tổng lượng khí CH<sub>4</sub> (tính theo l/ngày) ở lô KP0.3 giảm 7,47%,

KP0.5 giảm 22,77%, KP0.7 giảm 8,62% so với ĐC. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Tiemann *et al.* (2008). Theo tác giả này, khi bổ sung tannin từ cây keo củi (*Calliandra calothyrsus*) và cây đậu *Flemingia macrophyll* vào khẩu phần ăn của cừu SwissWhite ở mức 1,11 - 1,75% DM đã làm giảm lượng phát thải khí mêtan từ 3-21%. Tương tự như vậy, theo Hu *et al.* (2005) việc sử dụng các sản phẩm chứa tanin ở mức 1%, 2%, 3%, và 4% trong một khẩu phần ăn hỗn hợp có chứa bột ngô và bột cỏ (50:50) đã dẫn đến giảm lượng phát thải khí mêtan 13%, 22%, 25%, và 26% và làm giảm lượng protozoa 19%, 25%, 45%, và 79%, trong 24h ủ trong ống nghiệm với dịch dạ cỏ. Các loài cây nhiệt đới chứa nhiều tanin như *Lotus pedunculatus* khi sử dụng trong khẩu phần đã làm giảm tới 30% lượng mêtan thải ra (Waghorn *et al.*, 2002; Woodward, 2004). Trong điều kiện *in vivo*, Grainger *et al.* (2009) đã bổ sung hai mức tanin (8,6 và 14,6 g/kg DM thu nhận) được tách chiết từ *Acacia mearnsii* vào khẩu phần của bò sữa chăn thả ăn 4,5 kg thức ăn tinh. Kết quả cho thấy việc bổ sung này đã làm giảm thiểu 11,5 và 28% mêtan thải ra, nhưng cũng làm giảm tỷ lệ tiêu hóa của khẩu phần.

Như vậy, việc bổ sung tanin thích hợp vào khẩu phần sẽ làm giảm đáng kể lượng khí CH<sub>4</sub> thải ra. Trong thí nghiệm này, việc bổ sung mức 0,5% tanin vào khẩu phần đã có tác dụng lớn nhất trong việc giảm phát thải khí mêtan mà không làm mất tính ngon miệng của bò. Kết quả được minh họa rõ nét hơn ở hình 1.

#### - Cường độ phát thải khí mêtan

Bảng 6 cho thấy cường độ phát thải khí mêtan tính theo L CH<sub>4</sub>/kg FCM có xu hướng giảm dần khi mức bổ sung tanin tăng dần, dao động từ 18,36% - 31,58%. Cường độ phát thải cao nhất ở lô ĐC, tiếp theo là lô KP0.3, KP0.7 và cuối cùng thấp nhất ở lô KP0.5.

Cường độ phát thải (L CH<sub>4</sub>/kg DM, g CH<sub>4</sub>/kg DM, L CH<sub>4</sub>/kg NDF, L CH<sub>4</sub>/kg ADF, L CH<sub>4</sub>/kg FCM) của KP0.5 giảm mạnh nhất so với lô ĐC với các giá trị lần lượt là 24,06%, 24,04%, 23,48%, 23,90%, 32,58% so với ĐC. Ở KP0.7 với mức bổ sung tanin 0,7% mặc dù lượng chất dinh dưỡng thu nhận cao (bảng 3) nhưng tỷ lệ tiêu hóa trong

dạ cỏ lại thấp nhất (Bảng 4) nên cường độ phát thải khí mê-tan tính trên lượng các chất dinh dưỡng thu nhận cao hơn ở khẩu phần KP0.5. Trong khi đó ở KP0.5 bổ sung vừa đủ các chất dinh dưỡng và không ảnh hưởng đến tính ngon miệng, cũng như tỷ lệ tiêu hóa của khẩu phần nên cường độ phát thải khí mê-tan thấp nhất. Như vậy, bổ sung tanin vào khẩu phần ở mức 0,5% là phù hợp nhất để làm giảm thiểu cường độ phát thải khí mê-tan từ dạ cỏ bò sữa.

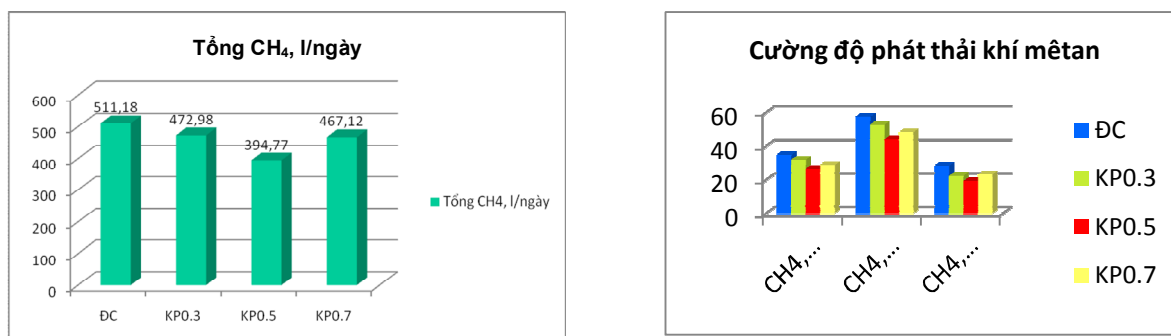
Theo O'Mara *et al.* (2008), nếu năng suất gia súc tăng lên thông qua dinh dưỡng tốt hơn, năng lượng cần cho duy trì tính theo tỷ lệ phần trăm của tổng nhu cầu năng lượng sẽ giảm đi và CH<sub>4</sub> sẽ giảm tương ứng, vì vậy CH<sub>4</sub>/kg sữa hoặc thịt cũng giảm. Hegarty *et al.* (2010) khi thí nghiệm trên cừu đã nhận thấy rằng: (1) mối

quan hệ giữa DMI và tăng khối lượng là tuyến tính dương và mối tương quan này càng lớn đối với thức ăn có tỷ lệ tiêu hóa cao; (2) tăng lượng DMI sẽ làm tăng lượng mê-tan thải ra; (3) cường độ phát thải mê-tan khi tính trên 1 đơn vị ME thu nhận là thấp nhất khi thức ăn có mật độ năng lượng cao; (4) lượng thu nhận tăng làm giảm cường độ phát thải mê-tan khi tính trên 1 đơn vị khối lượng tăng, cường độ phát thải tính 1 đơn vị DMI giảm khi thức ăn có chất lượng tốt; (5) một thay đổi nhỏ lượng ME thu nhận kéo theo thay đổi nhỏ lượng mê-tan thải ra nhưng tạo nên một thay đổi lớn về năng suất của gia súc. Điều này có thể thấy được việc bổ sung tanin từ bột chè xanh có hàm lượng protein cao có thể đã cải thiện được chất lượng của khẩu phần.

**Bảng 6. Mức độ và cường độ phát thải khí mê-tan**

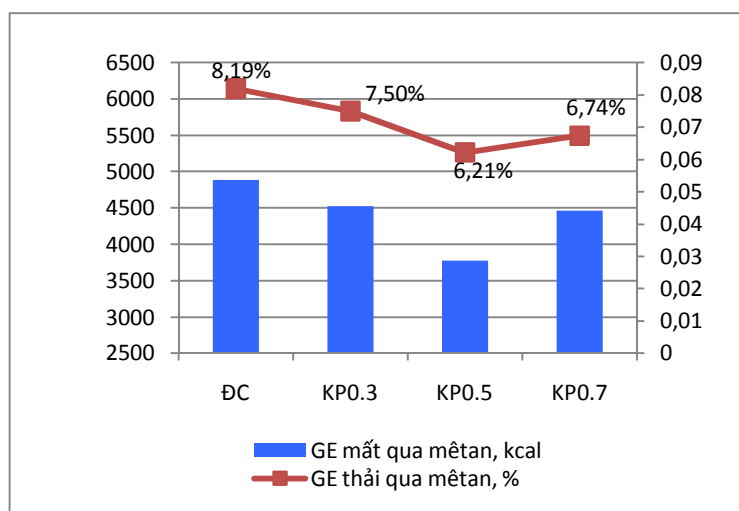
Chỉ tiêu	ĐC	KP0.3	KP0.5	KP0.7	SEM	P-value
<b>Mức độ phát thải khí CH<sub>4</sub></b>						
Tổng HP, kJ/ngày	101689 <sup>ab</sup>	94222 <sup>b</sup>	97007 <sup>b</sup>	112825 <sup>a</sup>	3760,41	0,008
Tổng CO <sub>2</sub> , l/ngày	4675 <sup>ab</sup>	4332 <sup>b</sup>	4460 <sup>b</sup>	5187 <sup>a</sup>	172,89	0,008
Tỷ lệ CH <sub>4</sub> /CO <sub>2</sub>	0,110 <sup>a</sup>	0,111 <sup>a</sup>	0,090 <sup>b</sup>	0,090 <sup>b</sup>	0,00	0,000
Tổng CH <sub>4</sub> , l/ngày	511,18 <sup>a</sup>	472,98 <sup>b</sup>	394,77 <sup>d</sup>	467,12 <sup>c</sup>	1,28	0,000
Tổng CH <sub>4</sub> , g/ngày	362,93 <sup>a</sup>	335,82 <sup>b</sup>	280,28 <sup>d</sup>	331,66 <sup>c</sup>	0,91	0,000
<b>Cường độ phát thải khí CH<sub>4</sub></b>						
L CH <sub>4</sub> /kgDM	34,75 <sup>a</sup>	31,83 <sup>b</sup>	26,39 <sup>d</sup>	28,67 <sup>c</sup>	0,26	0,000
g CH <sub>4</sub> /kg DM	24,67 <sup>a</sup>	22,6 <sup>b</sup>	18,74 <sup>d</sup>	20,36 <sup>c</sup>	0,19	0,000
L CH <sub>4</sub> /kg NDF	57,38 <sup>a</sup>	52,80 <sup>b</sup>	43,91 <sup>d</sup>	48,14 <sup>c</sup>	0,43	0,000
L CH <sub>4</sub> /kg ADF	141,44 <sup>a</sup>	129,72 <sup>b</sup>	107,63 <sup>d</sup>	121,04 <sup>c</sup>	1,00	0,000
L CH <sub>4</sub> /kg FCM	28,21 <sup>a</sup>	22,37 <sup>ab</sup>	19,30 <sup>b</sup>	23,03 <sup>ab</sup>	1,70	0,008

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )



**Hình 1. Mức độ và cường độ phát thải khí mê-tan**





**Hình 2. Lượng năng lượng mất đi qua phát thải khí mêtan**

- *Năng lượng mất đi qua phát thải khí mêtan*

Năng lượng mất đi qua phát thải khí mêtan có xu hướng giảm khi bổ sung các mức tanin vào khẩu phần. Mức năng lượng mất đi qua phát thải mêtan là 7,5%, 6,21% và 6,76% tương ứng với các lô KP0.3, KP0.5 và KP0.7, thấp hơn so với lô ĐC (8,19%). Kết quả cho thấy, mức năng lượng mất đi qua mêtan thấp nhất ở lô KP0.5 (Hình 2).

Johnson và Johnson (1995) nhận thấy khi lượng thức ăn thu nhận tăng thì cường độ phát thải mêtan giảm. Tuy nhiên tác giả cũng chỉ ra rằng mối liên hệ chặt chẽ giữa tỷ lệ tiêu hóa khẩu phần, lượng thu nhận và lượng mêtan thải ra chưa được chứng minh. Tác giả cũng kết luận rằng không có mối tương quan giữa tỷ lệ tiêu hóa GE và tỷ lệ GE mất đi dạng mêtan. Như vậy có thể xem ở KP0.7 có tỷ lệ tiêu hóa thấp nên năng lượng thất thoát vẫn cao hơn KP0.5.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy, việc bổ sung tanin từ bột phụ phẩm chè xanh đã làm tăng ME và CP thu nhận. Mức 0,3% và 0,5% không ảnh hưởng đến tỷ lệ tiêu hóa, nhưng mức bổ sung 0,7% đã làm giảm tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng. Việc bổ sung tanin đã làm tăng khối lượng và năng suất sữa, đồng thời giảm mức độ phát thải khí mêtan (7,47% đến 22,77%) và làm giảm cường độ phát thải mêtan

tính theo lượng DM thu nhận (8,40% đến 24,06%) và FCM (20,70% đến 31,58%). Căn cứ vào lượng thu nhận, tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng, năng suất sữa và cường độ phát thải mêtan, kết quả cho thấy bổ sung tanin từ phụ phẩm chè xanh vào khẩu phần ở mức 0,5% sẽ mang lại hiệu quả chăn nuôi và hiệu quả môi trường cao nhất.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhatta, R., Y. Uyeno, K. Tajima, A. Takenaka, Y. Yabumoto, I. Nonaka, O. Enishi, and M. Kurihara (2009). 'Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on mêtanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*, 92(11): 5512-5522.
- Brouwer E. (1965). Report of sub-committee on constants and factors. In *Energy Metabolism of Farm Animals*. Academic Press, London, UK, pp. 441-443.
- Goering H. K. and P. J. Van Soest (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications), USDA Agricultural Handbook, p.37.
- Grainger C., T. Clarke, M. J. Auldist, K. A. Beauchemin, S. M. McGinn, G. C. Waghorn and R. J. Eckard (2009). Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cow. *Can. J. Anim. Sci.*, 89: 241-251.
- Hegarty R. S., D. Alcock, D. L. Robinson, J. P. Goopy, P. E. Vercoe (2010). Nutritional and flock management options to reduce methane output and methane per

- unit product from sheep enterprises. *Animal Production Science*, 50: 1026-1033.
- Hu, W. L., J. X. Liu, J. A. Ye, Y. M. Wu, Y. Q. Guo (2005). Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 120: 333-339.
- Huang, X. D., J. B. Liang, H. Y. Tan, R. Yahya, B. Khamsekhiew, Y. W. Ho (2010). Molecular weight and protein binding affinity of Leucaena condensed tannins and their effects on in vitro fermentation parameters. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 159: 81-87.
- Jayanegara A., F. Leiber and M. Kreuzer (2012). Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96: 365-375.
- Johnson, K. A. and D. E. Johnson (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73(8): 2483-2492.
- Leng, R. A. (2008). The potential of feeding nitrate to reduce enteric methane production in ruminants. Commonwealth Government, Canberra.
- Madsen J., B. S. Bjerg, T. Hvelplund, M. R. Weisbjerg, P. Lund (2010). Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. *Livestock Science*, 129: 223-227.
- Makkar, H. P. S. (2003). Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage: A Laboratory Manual; Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Mao, H. L., J. K. Wang, Y. Y. Zhou, J. X. Liu (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest. Sci.*, 129: 56-62.
- Martin C., J. Rouel, J. P. Jouany, M. Doreau and Y. Chilliard (2008). 'Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *J. Anim. Sci.*, 86: 2642-2650.
- Nguyễn Tiến Dũng (2015). Việt Nam nỗ lực giảm phát thải khí nhà kính trong nông nghiệp. Báo công thương ngày 10/3/2015. Truy cập 15/3/2016. <http://baocongthuong.com.vn/viet-nam-no-luc-giam-phat-thai-khi-nha-kinh-trong-nong-nghiep.html>.
- NRC (2001). Nutrient requirements of dairy cattle (7 revised edition ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- O'Mara F. P., K. Beauchemin, M. Kreuzer and T. A. McAllister (2008). Reduction of greenhouse gas emissions of ruminants through nutritional strategies, in P. Rowlinson, M. Steele and A. Nevzaoui (eds), *Livestock and Global Climate Change*. Cambridge University Press, pp. 40-43.
- Patra A. K., D. N. Kamra and N. Agarwal (2006). Effect of plant extracts on in vitro methaneogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 128: 276-291.
- Puchala, R., G. Animut, A. K. Patra, G. D. Detweiler, J. E. Wells, V. H. Varel, T. Sahlu, A. L. Goetsch (2012). Effects of different fresh-cut forages and their hays on feed intake, digestibility, heat production, and ruminal methane emission by Boer x Spanish goats. *J. Anim. Sci.*, 90: 2754 - 2762.
- Ramdani, D., A. S. Chaudhry and C. J. Seal (2013). Chemical Composition, Plant Secondary Metabolites, and Minerals of Green and Black Teas and the effect of different Tea-to-Water Ratios during Their Extraction on the Composition of Their Spent Leaves as Potential Additives for Ruminants. *Journal of Agriculture and food chemistry*, 61(20): 4961-4967.
- Sophea I. V. and T. R. Preston (2011). Effect of different levels of supplementary potassium nitrate replacing urea on growth rates and methane production in goats fed rice straw, mimosa foliage and water spinach. *Livestock Research for Rural Development*, 23(4).
- Tamminga S., (1992). Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, 75: 345-357.
- TCVN 4325:2007. Tiêu chuẩn Việt Nam thức ăn chăn nuôi - Lấy mẫu.
- TCVN 4326:2001. Tiêu chuẩn Việt nam thức ăn chăn nuôi - Xác định độ ẩm và hàm lượng các chất bay hơi khác.
- TCVN 4327:2007. Tiêu chuẩn Việt Nam thức ăn chăn nuôi - Xác định tro thô.
- TCVN 4328:2007. Tiêu chuẩn Việt Nam thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô.
- TCVN 4331:2001. Tiêu chuẩn Việt Nam thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng chất béo.
- TCVN 5860:2007. Sữa và sản phẩm sữa - lấy mẫu và phân tích.
- Tiemann, T. T., C. E. Lascano, H. R. Wettstein, A. C. Mayer, M. Kreuzer and H. D. Hess (2008). Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes

- Calliandra calothyrsus and Flemingia macrophylla on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal*, 2: 790-799.
- Waghorn G. C. (1990). Beneficial effects of low concentrations of condensed tannins in forages fed to ruminants, *In*: Akin D. E., L. G. Ljungdahl, J. R. Wilson and P. J. Harris (Eds.), *Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants*. New York.
- Waghorn G. C., M. H. Tavendale and D. R. Woodfield (2002). Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proc.N. Z. Grassland Assoc.*, 64: 167-171.
- WoodwardSL, Waghorn GC, Laboyrie PG (2004). Condensedtannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) reduce methane emissions fromdairy cows. *Proceedings ofthe New Zealand Society of Animal Production*, 64:160-164.