



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0004003

(51) **A23K 20/142; A23K 50/30; A23K 20/20**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00514

(22) 06/05/2016

(67) 1-2017-04692

(86) PCT/EP2016/060213 06/05/2016

(87) WO2016/177891 10/11/2016

(30) 20150560 06/05/2015 NO

(45) 25/03/2025 444

(43) 26/03/2018 360A

(71) YARA INTERNATIONAL ASA (NO)

P.O. Box 343 Skøyen, N-0213 Oslo, Norway

(72) ANDERSSON, Christian (SE); FROGNER, Tore (NO); GÖRANSSON, Leif (SE).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) **THỨC ĂN CHĂN NUÔI HỖN HỢP**

(21) 2-2023-00514

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa hợp chất nitrat vô cơ để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, và lượng hữu hiệu của L-arginin trong đó hợp chất nitrat vô cơ này là phụ gia thức ăn chăn nuôi và được cung cấp trong chế độ dinh dưỡng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này, để thu được liều hàng ngày của nitrat tính trên một kg cân nặng của động vật có vú này. Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa hợp chất nitrat vô cơ để sử dụng trong điều trị cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai và/hoặc cho con bú để làm giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh, và lượng hữu hiệu của L-arginin trong đó hợp chất nitrat vô cơ này là phụ gia thức ăn chăn nuôi và được cung cấp trong chế độ dinh dưỡng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này, để thu được liều hàng ngày của nitrat tính trên một kg cân nặng của động vật có vú này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến lĩnh vực chăn nuôi gia súc, cụ thể là thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho gia súc, cụ thể hơn là nguyên liệu bổ sung dinh dưỡng và chất phụ gia chăn nuôi dùng cho động vật có vú và dạ dày một khoang, và hợp chất nitrat vô cơ để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái; cũng như phương pháp cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, phụ gia chăn nuôi và thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa hợp chất nitrat vô cơ.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, như lợn, là mối quan tâm lớn đối với người nông dân, để chăn nuôi động vật có vú này trong các điều kiện tốt nhất. Các động vật có vú và dạ dày một khoang thuần chủng, như lợn, thường sinh nhiều con (ví dụ trung bình 25 đến 35 lợn con/lợn nái/năm, chia thành 2,2 đến 2,4 lứa sinh/lợn nái). Dưới góc độ kinh tế và sức khỏe động vật, cần giảm tối đa tỷ lệ chết của động vật mới sinh. Khả năng sinh sản cần được cải thiện bằng cách giảm tỷ lệ sinh non và phôi thai chết, do đó làm tăng kích cỡ lứa sinh khi sinh, cải thiện khả năng sinh trưởng của động vật mới sinh, nâng cao khả năng nuôi dưỡng động vật mới sinh, như bằng cách cai sữa sớm, tăng sức khỏe của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang mang thai và/hoặc cho con bú, do đó tăng tần suất mang thai của chúng. Ở các gia súc là động vật có vú, như lợn, khả năng sinh trưởng của động vật mới sinh và động vật chưa trưởng thành bị ảnh hưởng chủ yếu bởi cân nặng khi sinh của động vật mới sinh hoặc động vật chưa trưởng thành và chất lượng sữa và năng suất của động vật mẹ, ngoài các yếu tố chung, ví dụ nhiệt độ và độ ẩm của môi trường nuôi dưỡng động vật này. Trong trường hợp của lợn, ví dụ tỷ lệ chết của lợn con có cân nặng khi sinh nhỏ hơn 1 kg lên đến 55-100%, tỷ lệ bào thai chết lưu, phôi thai chết và tỷ lệ lợn con mới sinh chết sớm lên đến khoảng 8% mỗi con (hoặc 24%/lứa sinh), và tỷ lệ chết tổng số trước khi cai sữa xuất hiện ở 2 đến 6 tuần sau khi sinh lên đến 15-20% lợn con sinh ra sống sót. Tỷ lệ chết cao như vậy là do thực tế lợn con có cân nặng thấp khó duy trì nhiệt độ cơ thể, chỉ được bú sữa hạn chế và thường xuyên bị chèn ép bởi lợn mẹ hoặc các lợn còn lại xung

quanh.

Do đó, cần cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, đặc biệt là tăng sức khỏe của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang mang thai và/hoặc cho con bú, tăng số lượng động vật mới sinh sống sót được sinh bởi một động vật có vú đang mang thai và tăng cân nặng của động vật mới sinh, nhờ đó giảm tỷ lệ chết và tăng cân nặng khi cai sữa, ví dụ đối với lợn con ở 2 đến 6 tuần sau khi sinh. Tốt hơn nếu, phương pháp này được sử dụng trong thời kỳ mang thai, mặc dù có thể được sử dụng trong thời kỳ cho con bú, và tối đa là đến thời kỳ cai sữa cho động vật chưa trưởng thành.

Theo phương truyền thống, khả năng sinh sản của các động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái được cải thiện bằng cách bổ sung kháng sinh, đặc biệt là chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh, vào thức ăn chăn nuôi cho động vật có vú đang mang thai, sau sinh, đang cho con bú; và động vật mới sinh. Thuật ngữ “chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ được chất bất kỳ có khả năng tiêu diệt hoặc ức chế vi khuẩn và sử dụng ở liều thấp không nhằm mục đích điều trị không nhằm mục đích điều trị cho động vật mới sinh. Kháng sinh đã được sử dụng kết hợp với phương pháp chăn nuôi để cải thiện khả năng sinh trưởng. Các tác nhân truyền nhiễm, như *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Clostridium* và *Enterococci* làm giảm năng suất của động vật mới sinh và chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh đã được sử dụng để kiểm soát hữu hiệu các tác nhân này, đặc biệt ở đường miệng và đường tiêu hóa của động vật mẹ và động vật mới sinh. Việc sử dụng kháng sinh là vấn đề đáng quan tâm của các phương pháp chăn nuôi và các vấn đề gây ra bởi việc sử dụng kháng sinh là vấn đề đáng quan tâm ở các nước phát triển hơn là các nước đang phát triển. Việc sử dụng kháng sinh bất kỳ liên quan đến sự chọn lọc tính kháng của vi khuẩn gây bệnh và việc sử dụng các kháng sinh tạo ra hoạt tính ức chế chọn lọc đối với vi khuẩn kháng kháng sinh có thể được sử dụng trong lâm sàng hoặc thú y và/hoặc cho người, do đó ảnh hưởng đến việc tiếp tục sử dụng liệu pháp kháng vi sinh vật. Do đó, cần có các phương pháp, liệu pháp điều trị và chế phẩm thay thế để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái.

EP0710447 B1 (MEIJI CO Ltd, 1996) đề cập đến phương pháp làm giảm tỷ lệ mắc bệnh của lợn con chưa trưởng thành, bao gồm bước cung cấp thức ăn chăn nuôi cho

lợn nái đang mang thai ít nhất hai tuần trước khi sinh, thức ăn chăn nuôi này chứa sacarit, bao gồm chủ yếu fructo-oligosacarit, sau đó tiếp tục cung cấp thức ăn này trong thời gian sinh và cho đến khi cai sữa.

RU2130255 C1 (1999) đề cập đến phương pháp làm tăng khả năng sinh sản của lợn nái thông qua việc sử dụng kết hợp các chế phẩm hormon (progesteron) và vitamin (Tetravit) vào thức ăn chăn nuôi cho lợn nái trong thời kỳ mang thai, cũng như trong toàn bộ thời kỳ cho con bú.

EP1408771 A1 (Nutreco Nederland B.V., 2003) đề cập đến phương pháp làm tăng khả năng nhân giống của gia súc, đặc biệt là các giống lợn, bao gồm bước cung cấp chế độ dinh dưỡng cho gia súc đang mang thai này, để tạo ra liều hàng ngày của L-arginin nằm trong khoảng từ 200 đến 1300mg/kg cân nặng. EP1408771 A1 cũng đề cập đến hỗn hợp sơ bộ chứa L-arginin với hàm lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 50% khối lượng, hỗn hợp thức ăn sơ bộ này được trộn với thức ăn chăn nuôi thành phẩm ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20% khối lượng, tính theo tổng khối lượng của thức ăn chăn nuôi được trộn. Tác dụng của L-arginin là để làm giảm sự phát triển không đầy đủ của nhau thai, là nguyên nhân chính gây ra tỷ lệ sinh non, phôi thai chết và tỷ lệ chết của động vật mới sinh, bằng cách cải thiện khả năng tạo mạch, do đó khả năng phân bố mạch của nhau thai, nhờ đó sự phát triển của phôi và bào thai ở tử cung được cải thiện.

Phương pháp nêu trên cũng được đề cập đến trong bài báo Mateo RD, Wu G, Bazer FW, Park JC, Shinzato I, Kim SW. *Dietary L-arginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts*. J Nutr 137, 652-66 (2007) and Mateo RD, Wu G, Moon HK, Carroll JA, Kim SW. *Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets*. J Anim Sci 86, 827-35 (2008), trong đó tác dụng nêu trên liên quan đến tác dụng của nitric oxit (NO) trên hệ tim mạch. Nguyên lý của phương pháp này là bổ sung arginin vào chế độ dinh dưỡng cho lợn nái đang mang thai sẽ hoạt hóa các chu trình arginin-nitric oxit (NO) và polyamin, để tăng cường mạch máu nhau thai phát triển và/hoặc dòng máu đến nhau thai, nhờ đó cải thiện khả năng sống sót của bào thai và tốc độ sinh trưởng. Các tác dụng có lợi là tác dụng trên kích cỡ lứa sinh và cân nặng của lợn con khi sinh và đạt được cân nặng lứa sinh khi bú bằng cách bổ sung 1% khối lượng L-arginin vào chế độ dinh dưỡng.

UA45529 U (2009) đề cập đến phương pháp làm tăng khả năng sinh sản của lợn nái bao gồm bước làm giàu thức ăn chăn nuôi bằng β -caroten được sản sinh bởi vi sinh vật và sinh khối của chủng vi nấm *Blakeslea trispora* IMB F-10022.

RU2457678 C (2011) đề cập đến phương pháp trong đó lợn con trước khi sinh được cho ăn chế phẩm bổ sung axit humic từ than bùn trước khi sinh thông qua nhau thai của lợn nái đang mang thai, chế độ dinh dưỡng này giàu chế phẩm bổ sung axit humic từ than bùn trong 3 tuần trước khi sinh ở liều nằm trong khoảng từ 0,20 đến 0,40mL/kg cân nặng, và sau khi sinh trước khi chuyển sang nuôi dưỡng bằng sữa mẹ, chế độ dinh dưỡng này giàu chế phẩm bổ sung axit humic từ than bùn ở liều tương tự cho đến khi cai sữa. Phương pháp này cho phép làm giảm tỷ lệ chết của lợn con mới sinh, để tăng số lượng lợn con sống sót và tăng cân, cũng như tăng cường hiệu quả của phương pháp phòng ngừa thiếu máu do thiếu sắt của lợn con.

Các phương pháp đã biết chủ yếu hướng đến hệ vi sinh vật của động vật có vú giống cái và động vật mới sinh, hoặc mạch máu nhau thai phát triển và/hoặc dòng máu đến nhau thai của động vật có vú giống cái.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Các tác giả giải pháp hữu ích đã ngạc nhiên phát hiện thấy rằng bằng cách bổ sung lượng nhỏ nhưng hữu hiệu của hợp chất nitrat vô cơ vào thức ăn chăn nuôi cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang mang thai và/hoặc cho con bú, thì cân nặng của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái không bị tăng giảm bất thường trong thời kỳ cho con bú (giảm cân ít hơn), sao cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái có cân nặng cao hơn và tình trạng sức khỏe tốt hơn ở cuối thời kỳ cai sữa.

Phương pháp theo giải pháp hữu ích có thể được sử dụng cho động vật có vú giống cái, đang mang thai, hoặc mới sinh con và đang cho con bú, nhờ đó cung cấp dinh dưỡng cho động vật mới sinh. Tác dụng trên động vật mới sinh (như kích cỡ lứa sinh, cân nặng của động vật mới sinh và cân nặng lúc cai sữa) không thể thu được từ thức ăn chăn nuôi được cung cấp cho động vật mới sinh mà không phải là sữa mẹ.,.

Nitrat thường liên quan đến độc tính nitrit, ví dụ ở các thực vật dùng làm thức ăn chăn nuôi gia súc (P.J. O'Hara and A.J. Fraser, *Nitrate poisoning in cattle grazing crops*, New Zealand Veterinary Journal, 23 (4), 1975). Nitrat (NO^{-3}) là hợp chất có độc tính

không cao, nhưng trái lại sản phẩm chuyển hóa (khử hóa) của nitrat là nitrit (NO^{-2}) có độc tính cao. Nitrit có độc tính gấp khoảng 10 lần nitrat.

Do có thể gây độc ở nồng độ hấp thu quá mức, nên Thông tư số. 2002/32/EC của Liên minh Châu Âu về tạp chất trong thức ăn chăn nuôi đã quy định giới hạn nồng độ tối đa cho natri nitrit trong thức ăn chăn nuôi hoàn chỉnh, không bao gồm thức ăn chăn nuôi dùng cho thú cưng, ngoại trừ gia cầm và các loài thủy sản, và bột cá xay thô tương ứng bằng 15mg/kg và 60mg/kg (tương đương với 10mg/kg và 40mg/kg ion nitrit). Nồng độ tối đa của nitrit trong nước uống theo quy định ở Châu Âu bằng 0,5 mg/L. Mức độ hấp thu hàng ngày thích hợp của nitrit nằm trong khoảng từ 0 đến 0,07mg/kg cân nặng/ngày đã được chấp thuận trong danh mục các tạp chất ô nhiễm trong thực phẩm của Cơ quan An toàn Thực phẩm Châu Âu khi đánh giá lợi ích/nguy cơ của nitrat trong rau xanh (The EFSA Journal 1017, 1-47 (2009)).

Ở các động vật nhai lại, như gia súc, cừu và dê, nitrat được chuyển hóa thành nitrit bởi hệ vi khuẩn dạ cỏ. Ở dạ cỏ, nitrat nhanh chóng được khử thành nitrit trong khi đó nitrit chậm bị chuyển hóa và khử độc thành amoniac.

Các động vật nhai lại hoàn toàn không nhạy cảm với nồng độ vừa phải của nitrat, nhưng cần đề phòng ngộ độc với liều cao hơn của nitrat. Dấu hiệu ngộ độc ban đầu xuất hiện khi nồng độ nitrit ở dạ cỏ vượt quá khả năng chuyển hóa nitrit của vi sinh vật thành amoniac. Sau đó, nitrit được hấp thu qua thành dạ cỏ vào dòng máu và liên kết với hemoglobin trong hồng cầu để tạo ra met-hemoglobin, dẫn đến làm giảm khả năng vận chuyển oxy của hồng cầu đến mô cơ thể.

Đã có báo cáo về tình trạng rất dễ bị ngộ độc sau khi hấp thu quá mức nitrit ở gia súc, lợn và các động vật nhai lại - là các nguồn cung cấp thực phẩm chính: điều này là do hoạt tính nitrit reductaza tương đối thấp và mức độ chuyển hóa cao nitrat ngoại sinh thành nitrit ở dạ cỏ. Do đó, sự có mặt của nồng độ nitrat và nitrit cao trong thực phẩm có thể làm tăng nguy cơ mắc bệnh ung thư ruột và hội chứng tăng met-hemoglobin máu, mà làm giảm khả năng vận chuyển oxy của máu. Mặt khác, các phát hiện gần đây cho thấy không có mối liên quan đáng kể giữa nitrat và bệnh ung thư. Ngoài ra, sự tích tụ nitrit ở dạ cỏ làm giảm hoạt tính vi sinh vật ở dạ cỏ, do đó có thể làm giảm mức độ hấp thu thức ăn của động vật.

Trái lại, các động vật có vú và dạ dày một khoang, như ngựa và lợn, không có hệ vi khuẩn dạ cỏ để chuyển hóa nitrat thành nitrit, phản ứng này xảy ra trong ruột của các động vật có vú và dạ dày một khoang khác, tức là nằm gần cuối đường tiêu hóa. Trong tình huống này, nitrit ít được hấp thu hơn. Cần lưu ý rằng lợn là loài dễ bị ngộ độc nhất do chúng có hoạt tính met-hemoglobin reductaza trong hồng cầu thấp và không thể hấp thu lượng lớn nitrat và nitrit.

Các tác giả giải pháp hữu ích đã nhận ra sự khác biệt này giữa động vật nhai lại và động vật có vú và dạ dày một khoang và phát triển phương pháp cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, bao gồm bước cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất nitrat vô cơ.

Có rất ít báo cáo về vai trò sinh lý của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat đối với các động vật có vú và thường đưa ra nhiều kết luận mâu thuẫn.

Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat và nitrit được chuyển hóa trong cơ thể theo một số cách thức, bởi tác dụng của nitrat reductaza vi khuẩn ở lưỡi và nitrat reductaza ở mô, và nitrit reductaza của động vật có vú. Trái ngược với quan điểm về độc tính, nitric oxit và hoặc hợp chất chuyển hóa khác của nitrat có tác dụng làm giãn mạch máu, làm giảm huyết áp và hỗ trợ chức năng tim mạch. Vai trò này của nitrit và tác dụng bảo vệ chống cung cấp oxy thấp ở các mô khác nhau tạo ra mối quan tâm mới về đặc tính sinh lý và dược lý của nitrit và nitrat (Butler AR, Feelisch M.. *Therapeutic Uses of Inorganic nitrit và nitrat from the past to the future*. Circulation 117, 2151-2159 (2008)). Nhiều rau xanh và hoa quả chứa nồng độ cao của nitrat và có giả thuyết cho rằng tác dụng làm giảm huyết áp của thực phẩm có nguồn gốc thực vật có thể là do tác dụng của nitrat trong đó (Hord ND, Tang Y, Bryan NS. *Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits*. Am J Clin Nutr 90:1-10 (2009)). Ngạc nhiên là, cả kali nitrit trong những năm 1880, và kali nitrat ở thế kỷ 8 tại Trung Quốc, được biết là có tác dụng điều hòa tăng huyết áp và chống đau thắt ngực.

Nitrit được axit hóa *in vitro* đã được kiểm chứng là có tác dụng kháng vi sinh vật gây bệnh ở người (Dyckhuizen RS, Frazer R, Duncan C, Smith C, Golden M, Benjamin N, Leifert C. *Antimicrobial effect of acidified nitrite on gut pathogens: Importance of dietary nitrate in host defense*. Antimicrobial agents and chemotherapy 40, 1422-1425

(1996)).

Thử thách miễn dịch bằng thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat với hàm lượng cao ở lợn đã làm tăng hàm lượng nitrit trong nước bọt, làm giảm độ đa dạng vi sinh vật ở miệng của lợn (Trevisi P, Casini L, Nisi I, Messori S, Bosi P. *Effect of high oral doses of nitrate on salivary recirculation of nitrates and nitrites and on bacterial diversity in the saliva of young pigs. J Anim Phys and Anim Nutr* 95, 206-213 (2011)).

Hàm lượng nitrit gia tăng trong nước bọt cũng được đề cập trong một nghiên cứu khác trên lợn con với hàm lượng cao của nitrat trong thức ăn chăn nuôi hỗn hợp (Posi P, Casini L, Tittarelli C, Minieri L, De Filippi S, Trevisi R, Clavenzani R, Mazzoni M. *Effect of dietary addition of nitrate on growth, salivary and gastric function, immune response, and excretion of Salmonella enterica serovar typhimurium, in weaning pigs challenged with this microbe strain. It J Anim Sci 6 Suppl* 1, 266-268 (2007)). Mặc dù các lợn con này đã được thử thách miễn dịch bằng *salmonella*, nhưng số lượng *salmonella* ở ruột không giảm. Ngạc nhiên là, IgA trong huyết thanh có xu hướng tăng ở các lợn được cho ăn thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat với hàm lượng cao và khả năng sinh sản không bị ảnh hưởng.

Bài báo Modesto M, D'Aimmo MR, Stefanini I, Mazzoni M, Bosi P, Biavati B. *Antimicrobial effect of dietary nitrate in weaning piglets challenged or not with Salmonella enterica serovar typhimurium. Cultivating the Future Based on Science: 2nd Conference of the International Society of Organic Agriculture Research ISOFAR, Modena, Italy, June 18-20, 2008*, 2, 146-149 (2008)) cũng đã kiểm chứng được rằng thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat với hàm lượng cao không ảnh hưởng đến quần thể *salmonella* ở dạ dày và hồng tràng của lợn con mới sinh đã được cai sữa và ghi nhận sự giảm số lượng vi khuẩn sinh axit lactic ở dạ dày và hồng tràng. Tài liệu này chỉ ra rằng tình trạng loét không bị ảnh hưởng. Bài báo Modesto M, Stefanini I, D'Aimmo MR, Nissena L, Tabanella D, Mazzoni M, Bosi P, Strozzi GP, Biavati B. *Strategies to augment non-immune system based defence mechanisms against gastrointestinal diseases in pigs. Wageningen J Life Sci* 58, 149- 156 (2011) cũng đề cập đến nồng độ tối đa của nitrat, được chấp thuận ở Châu Âu cho cỏ dùng làm thức ăn chăn nuôi, được kết hợp với một chế phẩm lợi khuẩn và một chế phẩm thức ăn của lợi khuẩn để cung cấp cho lợn con đã được cai sữa. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm này không ảnh hưởng đến số lượng vi

khuẩn sinh axit lactic, *Clostridia* và nấm men ở dạ dày hoặc hồng tràng, cũng như số lượng *E. coli*. Tuy nhiên, việc sử dụng nitrat kết hợp với chế phẩm lợi khuẩn đã cải thiện tăng cân nặng, hiệu suất của thức ăn chăn nuôi và tình trạng sức khỏe của lợn con đã được cai sữa.

Bài báo M.T Sørensen, B.B Jensen, H.D Poulsen *Nitrate and pig manure in drinking water to early weaned piglets and growing pigs* *Livestock Production Science* 39(2) 223-227 (1994) bộc lộ rằng việc bổ sung nitrat vào nước sử dụng cho lợn con đã được cai sữa làm giảm đáng kể số lượng vi khuẩn *Coliform* ở toàn bộ đường tiêu hóa và tăng nồng độ axit lactic và amoniac ở dạ dày và các đoạn đầu ruột non. Khả năng chuyển hóa thức ăn và cân nặng của lợn con được sử dụng nước uống có bổ sung nitrat được cải thiện đáng kể.

Chưa có tài liệu nào đề cập đến việc sử dụng nitrat cho các động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang mang thai hoặc cho con bú.

Phương pháp theo giải pháp hữu ích có tác dụng đặc hiệu kép đến khả năng sinh sản của động vật có vú giống cái. Cụ thể, phương pháp theo giải pháp hữu ích làm giảm số lượng vi khuẩn sinh nội độc tố tiềm tàng ở ruột của động vật có vú đang mang thai hoặc cho con bú, nhờ đó giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh, đồng thời hạn chế sự tăng giảm bất thường cân nặng của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang cho con bú (giảm cân ít hơn), sao cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này có cân nặng cao hơn và tình trạng sức khỏe tốt hơn ở cuối thời kỳ cai sữa, đồng thời cân nặng và kích cỡ lứa sinh không bị ảnh hưởng nhiều.

Việc sử dụng nitrat trong thức ăn chăn nuôi cho động vật nhai lại, như gia súc, đã được bộc lộ trong WO2011/010921 A2 (Provimi, 2011). Tài liệu này đề cập đến phương pháp làm giảm sản sinh metan ở đường tiêu hóa của động vật nhai lại, bao gồm bước cho động vật nhai lại này sử dụng lượng hữu hiệu chế phẩm kết hợp bao gồm hợp chất nitrat và hợp chất sulphat.

Bài báo Patra, A.K. and Yu, Z. đề cập đến chế phẩm kết hợp bao gồm nitrat, saponin và sulphat để làm giảm sản sinh metan bởi hệ vi sinh vật ở dạ cỏ *in vitro* đồng thời không ảnh hưởng bất lợi đến chuyển hóa thức ăn, lên men hoặc quần xã vi sinh vật, *Bio-resource Technology* 155, pp. 129-135 (2014).

Các tài liệu đã biết đều chưa bộc lộ việc sử dụng hợp chất nitrat vô cơ để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái.

Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến phụ gia chăn nuôi; thức ăn chăn nuôi hỗn hợp; và thức ăn chăn nuôi.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ thể hiện các phép đo được thực hiện trong ví dụ thử nghiệm 2.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Thuật ngữ “chứa” và các thuật ngữ hợp của nó được sử dụng trong bản mô tả với nghĩa không hạn chế về các thành phần theo sau thuật ngữ này được bao gồm, nhưng các thành phần không được đề cập cụ thể không bị loại trừ. Ngoài ra, dấu hiệu được thể hiện bởi mạo từ bất định “a” hoặc “an” không loại trừ khả năng nhiều hơn một dấu hiệu là có mặt, trừ khi có quy định rõ ràng chỉ có một và chỉ một trong số các dấu hiệu. Do đó, mạo từ bất định “a” hoặc “an” thường có nghĩa là “ít nhất một”.

Phương pháp cải thiện khả năng sinh sản

Giải pháp hữu ích mô tả phương pháp cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, bao gồm bước cung cấp chế độ dinh dưỡng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này, để thu được liều hàng ngày của nitrat, được sử dụng ở dạng hợp chất nitrat vô cơ, tính trên một kg cân nặng của động vật có vú này.

Động vật có vú theo giải pháp hữu ích luôn luôn là động vật có vú giống cái, đang mang thai hoặc cho con bú sau khi sinh. Do đó, thuật ngữ “động vật có vú” có nghĩa tương tự như thuật ngữ “động vật có vú giống cái”.

Thuật ngữ “khả năng sinh sản” được dùng trong bản mô tả để chỉ khả năng sinh sinh ra động vật mới sinh; khả năng nuôi dưỡng động vật mới sinh đến thời kỳ cai sữa; cũng như khả năng duy trì sức khỏe tốt của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái. Mục đích của giải pháp hữu ích là để cải thiện khả năng sinh sản, ví dụ bằng cách giảm tỷ lệ sinh non và phôi thai chết, do đó làm tăng kích cỡ lứa sinh khi sinh, tăng cân nặng khi sinh của động vật mới sinh, giảm tỷ lệ chết của động vật mới sinh, cải thiện khả năng sinh trưởng của động vật mới sinh, tăng sức khỏe của động vật có vú và dạ dày một

khoang giống cái đang mang thai và/hoặc cho con bú, do đó tăng tần suất mang thai của chúng, tăng năng suất và chất lượng sữa của động vật mẹ, và nâng cao khả năng nuôi dưỡng động vật mới sinh.

Động vật có vú và dạ dày một khoang theo giải pháp hữu ích là động vật có vú và dạ dày bao gồm một khoang duy nhất khác với động vật có vú nhai lại, như bò, dê hoặc cừu, có dạ dày gồm bốn khoang. Ví dụ về các động vật có vú và dạ dày một khoang bao gồm động vật ăn tạp, ví dụ khỉ, chuột cống, chó và lợn, và động vật ăn thịt, ví dụ mèo và động vật ăn cỏ, ví dụ ngựa và thỏ. Động vật ăn cỏ có dạ dày gồm một khoang có thể chuyển hóa xenluloza có trong thức ăn bởi hệ vi khuẩn đường ruột cộng sinh. Tuy nhiên, khả năng chuyển hóa xenluloza thành năng lượng của chúng thấp hơn các động vật nhai lại. Tốt hơn nếu, động vật có vú và dạ dày một khoang theo giải pháp hữu ích là các giống lợn, tốt hơn nữa nếu là heo hoặc lợn, còn tốt hơn nữa nếu là heo nái con, lợn nái con hoặc lợn nái. Thuật ngữ “động vật có vú và dạ dày một khoang” có nghĩa tương tự như thuật ngữ “động vật không nhai lại”.

Động vật có vú và dạ dày một khoang theo giải pháp hữu ích không bao gồm người. Đối tượng “động vật có vú là người” không nằm trong phạm vi của giải pháp hữu ích.

Thuật ngữ “cải thiện khả năng sinh sản” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ phương pháp làm giảm tỷ lệ sinh non và phôi thai chết, tăng kích cỡ lứa sinh khi sinh, tăng cân nặng khi sinh của động vật mới sinh, giảm tỷ lệ chết của động vật mới sinh, cải thiện khả năng sinh trưởng của động vật mới sinh, tăng năng suất và chất lượng sữa của động vật mẹ, cũng như khả năng duy trì sức khỏe tốt của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái và nâng cao khả năng nuôi dưỡng động vật mới sinh.

Giải pháp hữu ích mô tả phương pháp cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, trong đó liều hàng ngày của nitrat (ở dạng hợp chất nitrat vô cơ) được sử dụng cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai hoặc cho con bú.

Giải pháp hữu ích mô tả phương pháp cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, trong đó hợp chất nitrat vô cơ được sử dụng cho động vật có vú và dạ dày một khoang ở lượng tạo ra tổng liều trung bình hàng ngày của

nitrat vượt quá 1mg/kg cân nặng. Theo phương án ưu tiên, tổng liều trung bình hàng ngày của nitrat trong phương pháp theo giải pháp hữu ích nằm trong khoảng từ 1 đến 320mg/kg cân nặng. Thuật ngữ “nitrat” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ ion NO_3^{-2} . Ví dụ, muối canxi nitrat khan ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) chứa khoảng 76% nitrat.

Thuật ngữ “tổng liều trung bình hàng ngày” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ lượng trung bình của hợp chất nitrat vô cơ cụ thể tính trên 1kg cân nặng được sử dụng trong khoảng thời gian điều trị, ví dụ trong một tuần hoặc một tháng. Do đó, các hợp chất này có thể được sử dụng hàng ngày, hai ngày một lần, ba ngày một lần, v.v mà không nằm ngoài phạm vi của giải pháp hữu ích. Tốt hơn nếu, phương pháp theo giải pháp hữu ích bao gồm bước sử dụng hàng ngày hợp chất nitrat vô cơ ở liều nêu trên. Còn tốt hơn nữa nếu, hợp chất nitrat vô cơ này được sử dụng để chăn nuôi động vật có vú, ở lượng tạo ra liều hàng ngày nêu trên. Tốt nhất nếu, hợp chất nitrat vô cơ này được sử dụng hàng ngày để chăn nuôi động vật có vú, ở lượng tạo ra liều hàng ngày nêu trên.

Hợp chất nitrat vô cơ là hợp chất nitrat sinh lý dụng hoặc dễ dung nạp, tốt hơn nếu đạt tiêu chuẩn chất lượng để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi. Theo giải pháp hữu ích, ion nitrat cần được khử dễ dàng thành nitrit và hợp chất nitrat cần có độ hòa tan đủ trong nước. Do đó, theo giải pháp hữu ích, tốt hơn nếu hợp chất nitrat vô cơ này là hợp chất ion nitrat, tốt nhất nếu muối của hợp chất nitrat vô cơ, tốt nhất nếu được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc chế phẩm kết hợp, hỗn hợp hoặc muối kép bất kỳ của chúng, toàn bộ các hợp chất này đều dễ hòa tan trong nước ở nhiệt độ và áp suất chuẩn. Hơn nữa, từ khía cạnh an toàn và sức khỏe, tốt hơn nếu sử dụng muối phức hợp nitrat vô cơ, như canxi amoni nitrat, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (nhãn hiệu YaraLiva®) do Yara International ASA, Norway cung cấp.

Theo một phương án, nitrat cũng có thể được sử dụng dưới dạng axit nitric, ví dụ dung dịch nước axit nitric.

Hợp chất nitrat vô cơ này có thể được sử dụng ở dạng bột, bột nén, tinh thể, hạt nhỏ, cốm, chế phẩm lỏng, gel, dung dịch, hoặc dạng vảy.

Tốt hơn nếu, phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện bằng cách cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai sử dụng liều hàng ngày của nitrat

này trong một số thời kỳ quan trọng. Như đã biết, trong thời kỳ mang thai, động vật có vú, như lợn, trải qua ít nhất ba thời kỳ quan trọng, được đặc trưng bởi số lượng phôi hoặc bào thai giảm đáng kể. Đối với lợn, thời điểm ban đầu (tức là ở ngày 0 của thai kỳ, ngay sau khi thụ tinh), số lượng phôi sống sót khoảng 17. Sau khoảng 35-40 ngày của thai kỳ, số lượng phôi sống sót giảm đáng kể. Thời kỳ này tương đương với thời kỳ cấy phôi (thời kỳ quan trọng I) và xuất hiện trước thời kỳ sinh trưởng nhanh của nhau thai, xuất hiện ở khoảng ngày 14 đến 30 của thai kỳ. Trong thời kỳ sau khi cấy phôi, số lượng bào thai ít nhiều ổn định. Tiếp theo, ở khoảng ngày 55 đến 75 của thai kỳ, sự giảm đáng kể số lượng bào thai sống sót một lần nữa được quan sát. Thời kỳ này tương đương với thời kỳ trong đó nhau thai đạt kích cỡ tối đa (thời kỳ quan trọng II). Sau thời kỳ này, số lượng bào thai ổn định trở lại. Cuối cùng, ở khoảng ngày 105 đến 115 của thai kỳ ở lợn là tương đương với thời kỳ chu sinh (thời kỳ quan trọng II), số lượng bào thai sống sót giảm một lần nữa do tử cung chứa nhiều bào thai.

Phương pháp theo giải pháp hữu ích cũng được thực hiện trong một hoặc nhiều thời kỳ quan trọng nêu trên. Do đó, tốt hơn nếu phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện trong thời kỳ cấy phôi ở động vật có vú đang mang thai. Cũng tốt hơn nếu phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện trong thời kỳ sinh trưởng nhau thai tương đương với thời kỳ cấy phôi. Cuối cùng, tốt hơn nếu phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện trong thời kỳ sinh.

Đối với lợn, tức là lợn nái đang mang thai, phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện ít nhất trong thời gian từ ngày 14 đến 30 của thai kỳ, ngày 55 đến 75 của thai kỳ hoặc ngày 105 đến 115 của thai kỳ.

Tuy nhiên, phương pháp theo giải pháp hữu ích không chỉ giới hạn ở các thời kỳ nêu trên và có thể được thực hiện ở khoảng thời gian nằm ngoài các thời kỳ này.

Tốt nhất nếu, liều hàng ngày của nitrat này được sử dụng liên tục cho động vật có vú và dạ dày một khoang, đặc biệt là lợn nái, trong cả thời kỳ mang thai và cho con bú.

Phương pháp theo giải pháp hữu ích có thể được thực hiện riêng hoặc kết hợp luân phiên hoặc đồng thời với một phương pháp khác, đặc biệt là phương pháp khác để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái. Tốt hơn nếu, phương pháp theo giải pháp hữu ích được thực hiện kết hợp với phương pháp được mô tả

trong EP 1408771 A1, trong đó lượng hữu hiệu, đặc biệt là liều hàng ngày của L-arginin nằm trong khoảng từ 200 đến 1300mg/kg cân nặng được sử dụng cho động vật này.

Như nêu trên, phương pháp theo giải pháp hữu ích bao gồm bước sử dụng qua đường miệng hợp chất nitrat vô cơ, và tùy ý kết hợp với chất phụ gia bất kỳ khác. Tốt hơn nữa, phương pháp theo giải pháp hữu ích bao gồm bước sử dụng qua đường miệng thức ăn chăn nuôi hỗn hợp và/hoặc phụ gia chăn nuôi như mô tả dưới đây, mặc dù các chế phẩm có thể tiêu hóa dùng qua đường miệng dạng lỏng, dạng rắn hoặc bán rắn khác có thể được sử dụng mà không nằm ngoài phạm vi của giải pháp hữu ích.

Phương pháp điều trị theo giải pháp hữu ích là phương pháp điều trị không chữa bệnh, tức là phương pháp không cải thiện sức khỏe của động vật có vú và dạ dày một khoang đang bị tình trạng cụ thể, phương pháp này không có tác dụng điều trị bệnh hoặc rối loạn cụ thể và cũng không cải thiện đáng kể sức khỏe của động vật có vú và dạ dày một khoang cần điều trị so với động vật có vú và dạ dày một khoang không sử dụng phương pháp điều trị theo giải pháp hữu ích. Ưu điểm của phương pháp theo giải pháp hữu ích không chỉ giới hạn ở khía cạnh kinh tế và sức khỏe động vật được nâng cao, tức là giảm thiểu tỷ lệ chết của động vật mới sinh và tối ưu hoá quá trình chăn nuôi gia súc.

Giải pháp hữu ích cũng mô tả phương pháp điều trị cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai hoặc cho con bú bằng cách bổ sung hợp chất nitrat vô cơ. Giải pháp hữu ích cũng mô tả việc sử dụng hợp chất nitrat vô cơ và thức ăn chăn nuôi có bổ sung hợp chất nitrat vô cơ trong điều trị và/hoặc phòng ngừa cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai hoặc cho con bú. Đã kiểm chứng được rằng việc bổ sung nitrat cho động vật có vú có thể làm giảm số lượng vi khuẩn sinh nội độc tố tiềm tàng trong ruột của động vật có vú này, nhờ đó giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh. Cũng có giả thuyết cho rằng hợp chất nitrat vô cơ và thức ăn chăn nuôi có bổ sung hợp chất nitrat vô cơ có thể cải thiện cung cấp dinh dưỡng cho bào thai ở động vật có vú đang mang thai bằng cách cải thiện khả năng tạo mạch và/hoặc phân bố mạch của nhau thai, nhờ đó cải thiện phát triển của phôi và bào thai ở tử cung.

Hợp chất nitrat vô cơ theo giải pháp hữu ích là phụ gia thức ăn chăn nuôi, có thể được sử dụng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái ở một số dạng chế biến, được mô tả dưới đây. Theo một phương án, phụ gia thức ăn chăn nuôi này có thể

được trộn với các phụ gia thức ăn chăn nuôi khác thành hỗn hợp thức ăn sơ bộ, tùy ý còn chứa vitamin, nguyên tố vi lượng, enzym và các chất phụ gia khác. Hỗn hợp thức ăn sơ bộ này thích hợp để bổ sung vào phụ gia chăn nuôi hoặc thức ăn chăn nuôi hỗn hợp hoàn chỉnh. Theo một phương án khác, phụ gia thức ăn chăn nuôi này cũng có thể được trộn trực tiếp với thức ăn chăn nuôi hoàn chỉnh hoặc phụ gia chăn nuôi. Ví dụ, phụ gia thức ăn chăn nuôi này có thể được trộn với phụ gia chăn nuôi ở dạng thức ăn rải trên mặt đất, thức ăn chăn nuôi chứa khoáng chất, viên liếm hoặc các dạng khác của thức ăn chăn nuôi bổ sung.

Phụ gia chăn nuôi

Thuật ngữ “phụ gia chăn nuôi” được dùng trong bản mô tả để chỉ hỗn hợp thức ăn sơ bộ hoặc nguyên liệu phụ gia thức ăn chăn nuôi, như định nghĩa nêu trên.

Theo một khía cạnh khác, giải pháp hữu ích đề xuất phụ gia chăn nuôi, chứa hợp chất nitrat vô cơ với hàm lượng nằm trong khoảng từ 10% đến 100% khối lượng để sử dụng trong điều trị cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai và/hoặc cho con bú để cải thiện khả năng sinh sản., cũng như để làm giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang cho con bú .

Thông thường, phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích chế biến ở dạng bột hoặc dạng rắn được nén, hạt hoặc dạng lỏng. Trong thực tế, phụ gia chăn nuôi có thể được sử dụng cho gia súc bằng cách bổ sung trực tiếp vào khẩu phần ăn, ví dụ khẩu phần ăn được rải trên mặt đất, hoặc có thể được sử dụng trong điều chế hoặc sản xuất các sản phẩm, như thức ăn chăn nuôi hỗn hợp hoặc viên liếm, sẽ được mô tả chi tiết dưới đây. Giải pháp hữu ích không chỉ giới hạn ở khía cạnh này. Phụ gia chăn nuôi, theo giải pháp hữu ích được sử dụng cho động vật ở lượng nằm trong khoảng từ 16 đến 2500g/động vật/ngày.

Phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích chứa hợp chất nitrat, thường là hợp chất nitrat sinh lý dụng hoặc dễ dung nạp, tốt hơn nếu đạt tiêu chuẩn chất lượng để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi. Theo giải pháp hữu ích, ion nitrat cần được khử dễ dàng thành nitrit và hợp chất nitrat cần có độ hòa tan đủ trong nước. Do đó, tốt hơn nếu hợp chất nitrat vô cơ này là hợp chất ion nitrat, tốt nhất nếu muối của hợp chất nitrat vô cơ, tốt nhất nếu được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc chế phẩm kết hợp, hỗn hợp hoặc muối kép bất kỳ của chúng, toàn bộ các hợp chất này

đều dễ hòa tan trong nước ở nhiệt độ và áp suất chuẩn. Hơn nữa, từ khía cạnh an toàn và sức khỏe, tốt hơn nếu sử dụng muối phức hợp nitrat vô cơ, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, đạt tiêu chuẩn để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi do Yara International ASA, Norway cung cấp.

Hợp chất nitrat vô cơ này có thể được sử dụng ở dạng bột, bột nén, tinh thể, hạt nhỏ, cốm, chế phẩm lỏng, gel, hoặc dạng vảy.

Theo phương án ưu tiên, phụ gia chăn nuôi chứa hợp chất nitrat vô cơ này ở lượng nằm trong khoảng từ 10% đến 100% khối lượng, tốt hơn nếu lượng này vượt quá 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97% hoặc 99% khối lượng, tính theo khối lượng khô.

Hợp chất nitrat vô cơ này trong phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích thường tạo ra tổng lượng của nitrat vượt quá 0,2g/kg, tính theo khối lượng khô. Trong thực tế, lượng này thường nhỏ hơn 750g/kg.

Trừ khi có quy định khác, toàn bộ lượng và/hoặc liều của “nitrat” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ lượng của nitrat chứa trong hoặc được tạo ra bởi hợp chất nitrat, so với tổng khối lượng khô của chế phẩm. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được lượng tối ưu của các thành phần chứa trong phụ gia chăn nuôi và lượng phụ gia chăn nuôi được sử dụng trong chế biến khẩu phần ăn hoặc thức ăn chăn nuôi hỗn hợp, v.v có tính đến loài động vật có vú cụ thể và điều kiện sinh trưởng của nó. Liều ưu tiên của mỗi thành phần được thể hiện dưới đây.

Phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích có thể chứa thành phần bổ sung bất kỳ mà không nằm ngoài phạm vi của giải pháp hữu ích. Phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích có thể chứa các tá dược đã biết cần thiết để chế biến dạng sản phẩm mong muốn và phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích có thể chứa các chất phụ gia bổ sung để cải thiện chất lượng của thức ăn chăn nuôi và/hoặc khả năng tiêu thụ phụ gia chăn nuôi của động vật. Ví dụ về các tá dược thích hợp bao gồm chất mang hoặc tá dược độn, như lactoza, sucroza, manitol, tinh bột, xenluloza tinh thể, natri hydro carbonat, natri clorua và tương tự, và tá dược dính, như gôm arabic, gôm tragacanth, natri alginat, tinh bột, PVP và dẫn xuất xenluloza, v.v. Ví dụ về phụ gia thức ăn chăn nuôi đã biết trong lĩnh vực này bao gồm vitamin, axit amin và nguyên tố vi lượng, chất tăng cường chuyển hóa và chất

ổn định hệ vi sinh vật đường ruột và các chất tương tự.

Theo phương án ưu tiên, phụ gia chăn nuôi còn chứa lượng hữu hiệu của L-arginin, như được mô tả trong EP1408771 A1, sao cho liều hàng ngày của L-arginin ít nhất bằng 200mg/kg cân nặng của động vật có vú, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 200 đến 1300mg/kg cân nặng của động vật có vú. Tốt hơn nếu, phụ gia chăn nuôi này chứa L-arginin với hàm lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 50% khối lượng, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1,25% đến 10% khối lượng.

Theo phương án cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất viên liếm (cũng được gọi là khối liếm) chứa phụ gia chăn nuôi theo giải pháp hữu ích. Như đã biết, viên liếm này đặc biệt thích hợp để bổ sung khoáng chất, protein và carbohydrat cho thức ăn chăn nuôi, ví dụ thức ăn cho ngựa được chăn thả tự nhiên hoặc trên bãi cỏ. Ngoài hợp chất nitrat vô cơ, viên liếm theo giải pháp hữu ích còn chứa các loại tá dược dính khác nhau, ví dụ bột xương, thạch cao, vôi, canxi phosphat, carbonat, và/hoặc gelatin, và tùy ý các chất phụ gia bổ sung, như vitamin, nguyên tố vi lượng, muối khoáng, chất điều vị, v.v.

Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp

Theo một khía cạnh khác, giải pháp hữu ích đề xuất thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa phụ gia chăn nuôi nêu trên.

Theo một khía cạnh, giải pháp hữu ích đề xuất thức ăn chăn nuôi hỗn hợp, chứa hợp chất nitrat vô cơ để thu được tổng lượng của nitrat vượt quá 0,1g/kg tính theo khối lượng khô.

Thuật ngữ “thức ăn chăn nuôi hỗn hợp” được dùng trong bản mô tả để chỉ chế phẩm thích hợp để sử dụng làm thức ăn chăn nuôi và được trộn từ các loại nguyên liệu thô hoặc chất liệu có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên và/hoặc các chất phụ gia. Do đó, thuật ngữ “hỗn hợp” được sử dụng để phân biệt chế phẩm thức ăn chăn nuôi theo giải pháp hữu ích với nguyên liệu thô bất kỳ có trong tự nhiên. Các hỗn hợp này hoặc thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được chế biến theo nhu cầu của động vật cụ thể cần chăn nuôi. Các thành phần chính được sử dụng trong thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích bao gồm cám lúa mì, cám gạo, bột ngô xay thô, hạt ngũ cốc, như lúa mạch, lúa mì, lúa mạch đen và yến mạch, bột đậu tương xay thô, bột cỏ linh lăng xay thô, bột lúa mì và bột tương tự. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích sẽ chứa không

nhỏ hơn 10% khối lượng protein thô và không nhỏ hơn 75% khối lượng chất khô, mặc dù giải pháp hữu ích không chỉ giới hạn ở khía cạnh này. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dạng lỏng, dạng rắn cũng như dạng bán rắn cũng nằm trong phạm vi của giải pháp hữu ích, và chế phẩm dạng rắn và dạng bán rắn được đặc biệt ưu tiên. Các chế phẩm này được chế biến dưới dạng bột, hạt cải, bột nghiền, bột ngũ cốc ăn sáng, viên thức ăn ép đùn hoặc viên thức ăn trương nở. Trong thực tế, gia súc thường được cho ăn chế phẩm kết hợp bao gồm thức ăn chăn nuôi hỗn hợp, như thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích, và cỏ ủ tươi hoặc cỏ khô hoặc thức ăn tương tự. Thông thường, thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được sử dụng cho động vật ở lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 12 kg/động vật/ngày, phụ thuộc vào loài động vật. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được lượng tối ưu của các thành phần chứa trong thức ăn chăn nuôi hỗn hợp, có tính đến loài động vật có vú cụ thể và điều kiện sinh trưởng của nó.

Hợp chất nitrat trong thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích thường tạo ra tổng lượng của nitrat vượt quá 0,1g/kg, tính theo khối lượng khô. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích có thể chứa phụ gia thức ăn chăn nuôi bổ sung bất kỳ thường được sử dụng trong lĩnh vực này. Thuật ngữ “phụ gia thức ăn chăn nuôi” được dùng trong bản mô tả để chỉ sản phẩm, được sử dụng để cải thiện chất lượng của thức ăn chăn nuôi và thực phẩm có nguồn gốc động vật, hoặc cải thiện khả năng của động vật, ví dụ tăng cường chuyển hóa các nguyên liệu thức ăn chăn nuôi. Ví dụ không giới hạn về các phụ gia thức ăn chăn nuôi bao gồm chất phụ gia chế biến, như chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất nhũ hóa, chất ổn định, chất điều hòa độ axit và chất phụ gia bổ sung vào cỏ ủ chua; chất điều vị, đặc biệt là chất thơm và chất màu; chất phụ gia dinh dưỡng, như vitamin, axit amin và nguyên tố vi lượng; và chất phụ gia thú y, như chất tăng cường chuyển hóa và chất ổn định hệ vi sinh vật đường ruột.

Như đã biết, thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo giải pháp hữu ích có thể chứa thành phần bổ sung hoặc chất phụ gia bất kỳ, mà không nằm ngoài phạm vi của giải pháp hữu ích.

Hợp chất nitrat vô cơ tăng cường hệ vi sinh vật đường ruột khỏe mạnh.

Hệ vi sinh vật trong phân của các lợn nái là yếu tố tạo ra hệ vi sinh vật khỏe mạnh ở lợn con mới sinh với đường tiêu hóa vô trùng. Đã biết rằng hệ vi sinh vật cân bằng ở

lợn con đang bú làm giảm tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy trong thời kỳ bú sữa và sau cai sữa. Do đó, hệ vi sinh vật cân bằng sẽ ảnh hưởng đến khả năng nuôi dưỡng lợn con của lợn nái.

Đã kiểm chứng được rằng số lượng vi khuẩn, như số lượng *Clostridia perfringens*, trong phân của lợn nái được bổ sung muối kép canxi nitrat thấp hơn trong cả thời kỳ mang thai và cho con bú. Do đó, thức ăn chăn nuôi có bổ sung hợp chất nitrat vô cơ, như muối kép canxi nitrat, có thể làm giảm số lượng vi khuẩn sinh nội độc tố tiềm tàng ở ruột của động vật có vú đang mang thai hoặc cho con bú, nhờ đó giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh, do đó ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của lợn nái, ví dụ khả năng nuôi dưỡng lợn con.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất hợp chất nitrat vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, để làm giảm số lượng vi khuẩn sinh nội độc tố tiềm năng ở ruột, và/hoặc tăng cường hệ vi sinh vật đường ruột khỏe mạnh và/hoặc làm giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh. Theo một phương án, giải pháp hữu ích đề cập đến thức ăn chăn nuôi có bổ sung hợp chất nitrat vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, để phòng ngừa và/hoặc điều trị hội chứng loạn tiết sữa sau sinh.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập đến Phụ gia chăn nuôi, chứa hợp chất nitrat vô cơ với hàm lượng nằm trong khoảng từ 10% đến 100% khối lượng, hoặc hợp chất nitrat vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, để sử dụng làm chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh.

Thuật ngữ “chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ được chất bất kỳ có khả năng tiêu diệt hoặc ức chế vi khuẩn. Chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh có thể được sử dụng ở liều hàng ngày dưới dạng phụ gia chăn nuôi cho động vật có vú đang mang thai, sau khi sinh và cho con bú.

Chất kích thích sinh trưởng có hoạt tính kháng sinh cũng có thể được sử dụng ở liều thấp không nhằm mục đích điều trị cho động vật mới sinh.

Đã kiểm chứng được rằng chế phẩm theo giải pháp hữu ích có tác dụng đặc hiệu kép đến khả năng sinh sản của động vật có vú giống cái. Cụ thể, chế phẩm theo giải pháp hữu ích làm giảm số lượng vi khuẩn sinh nội độc tố tiềm tàng ở ruột của động vật có vú đang mang thai hoặc cho con bú, nhờ đó giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh, đồng thời hạn chế sự tăng giảm bất thường cân nặng của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái đang cho con bú (giảm cân ít hơn), sao cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này có cân nặng cao hơn và tình trạng sức khỏe tốt hơn ở cuối thời kỳ cai sữa. Mặc dù cân nặng tăng ít hơn trong thời kỳ mang thai, nhưng cân nặng và kích cỡ lứa sinh không bị ảnh hưởng nhiều.

Tuy nhiên, các kết quả thử nghiệm cho thấy cân nặng của các lợn nái được cho ăn muối kép canxi nitrat ($P = 0,043$) giảm đáng kể so với các lợn nái được cho ăn chế phẩm thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đối chứng, điều này sẽ có tác dụng tích cực đến khả năng sinh sản của lợn nái trong thời kỳ tiếp theo.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất hợp chất nitrat vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, như lợn nái. Theo một phương án, hợp chất nitrat vô cơ theo giải pháp hữu ích được chọn từ nhóm nêu trên, được sử dụng cho các động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai và/hoặc cho con bú. Theo một phương án cụ thể, hợp chất nitrat vô cơ này được sử dụng ở liều hàng ngày của nitrat vượt quá 1mg/kg cân nặng, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 320mg/kg cân nặng, ít nhất trong thời gian từ ngày 14 đến 30 của thai kỳ, từ ngày 55 đến 75 của thai kỳ hoặc từ ngày 105 đến 115 của thai kỳ. Theo một phương án khác, liều hàng ngày được sử dụng trong cả thời kỳ mang thai và cho con bú.

Theo phương án cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất thức ăn chăn nuôi, thích hợp để sử dụng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, đặc biệt là lợn nái, trong thời kỳ mang thai và/hoặc cho con bú, chứa protein thô với hàm lượng nằm trong khoảng từ 50 đến 200g/kg , tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 100 đến 150g/kg ; chất béo thô với

hàm lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100g/kg, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 10 đến 50g/kg; sợi thô với hàm lượng nằm trong khoảng từ 25 đến 200g/kg, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 50 đến 100g/kg; tinh bột với hàm lượng nằm trong khoảng từ 150 đến 600g/kg, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 200 đến 400g/kg; đường với hàm lượng nằm trong khoảng từ 25 đến 200g/kg, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 50 đến 100g/kg; canxi amoni nitrat với hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 5,0% khối lượng, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,2% đến 2,0% khối lượng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề xuất thức ăn chăn nuôi, thích hợp để sử dụng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, đặc biệt là lợn nái, trong thời kỳ mang thai và/hoặc cho con bú, trong đó thức ăn này còn chứa L-arginin với hàm lượng nằm trong khoảng từ 1,25 đến 10% khối lượng.

Mặc dù giải pháp hữu ích được mô tả thông qua các phương án cụ thể nêu trên, nhưng cần hiểu rằng một số phương án cải biến cũng nằm trong phạm vi của giải pháp hữu ích. Phạm vi của bộ yêu cầu bảo hộ không chỉ giới hạn bởi các phương án cụ thể được bộc lộ trong bản mô tả này.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat đến sức khỏe của lợn nái.

Thử nghiệm 1 sử dụng 3 thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được chế biến để thu được các hàm lượng khác nhau của muối kép canxi nitrat: 0,31%, 0,63%, 1,25% muối kép canxi nitrat) với 5 lợn nái/nhóm thử nghiệm. Các lợn nái được cho ăn các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong 2 tuần cuối của thai kỳ. Thành phần của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ 1 được thể hiện trong phụ lục 1.

Các mẫu máu để xác định nồng độ met-hemoglobin được lấy ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm cho ăn (mẫu đối chứng), sau 1 tuần cho ăn và cuối thử nghiệm cho ăn và 1 tuần sau khi kết thúc thử nghiệm cho ăn ($n = 4$ mẫu máu/lợn nái). Hơn nữa, mức độ hấp thu thức ăn được ghi lại hàng ngày.

Trong tổng số, 48 lợn nái đã kết thúc thành công thử nghiệm và được sử dụng để

phân tích. Liên quan đến tác dụng không mong muốn của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung muối kép canxi nitrat, kết quả thử nghiệm cho thấy tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin chỉ hơi tăng ở ngày thứ 7 thử nghiệm nhưng trở về bình thường trước ngày thứ 14 thử nghiệm.

Kết quả thử nghiệm

Trong ví dụ 1, tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat đến nồng độ hemoglobin và met-hemoglobin máu và triệu chứng lâm sàng của tình trạng ngộ độc nitrat được phân tích ở 15 lợn nái. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được phân tích về nồng độ nitrat để kiểm chứng tỷ lệ liên kết của muối kép canxi nitrat (Bảng 1). Hàm lượng nitrat phân tích hơi thấp hơn hàm lượng dự tính. Tuy nhiên, độ chênh lệch này vẫn nằm trong khoảng để phân tích tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat ở hàm lượng cao đến nồng độ met-hemoglobin trong máu của các lợn nái thử nghiệm.

Bảng 1: Nồng độ nitrat dự tính và hàm lượng nitrat phân tích trong các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm.

	T1		T2		T3	
	0,31% muối kép canxi nitrat		0,63% muối kép canxi nitrat		1,25% muối kép canxi nitrat	
	Hàm lượng dự tính	Nồng độ phân tích	Hàm lượng dự tính	Nồng độ phân tích	Hàm lượng dự tính	Nồng độ phân tích
Nitrat ($\mu\text{g/g}$)	2000	1700	4000	3500	8000	7000

Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm không ảnh hưởng đến tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin (Bảng 2). Nồng độ của met-hemoglobin hơi tăng ở ngày thứ 7 thử nghiệm đối với toàn bộ các chế phẩm thử nghiệm, tuy nhiên nồng độ của met-hemoglobin không tăng ở ngày thứ 14 thử nghiệm. Hơn nữa, triệu chứng lâm sàng của tình trạng ngộ độc nitrat không xuất hiện, như tỷ lệ hô hấp tăng, suy yếu và rung cơ biểu hiện nồng độ met-hemoglobin cao. Do thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat không làm tăng đáng kể nồng độ met-hemoglobin trong thời kỳ cung cấp các chế phẩm này, nên không cần lấy mẫu máu ở giai đoạn cuối (7 ngày sau cai sữa) để theo dõi tình trạng hồi phục của các lợn nái thử nghiệm.

Bảng 2: Tác dụng của nồng độ nitrat tăng đến các thông số máu (hemoglobin (Hb), met-hemoglobin (Met-Hb) và tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin).

Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm	Ngày 0			Ngày 7			Ngày 14		
	Hb g/dL	Met-Hb g/dL	Met-Hb %	Hb g/dL	Met-Hb g/dL	Met-Hb %	Hb g/dL	Met-Hb g/dL	Met-Hb %
0,31% muối kép canxi nitrat	16,93	0,33	1,85	14,30	0,66	4,99	10,94	0,18	1,68
0,63% muối kép canxi nitrat	15,99	0,27	1,74	14,19	0,51	3,52	9,69	0,16	1,46
1,25% muối kép canxi nitrat	15,26	0,23	1,58	12,01	0,78	6,35	10,19	0,08	0,75

Ví dụ 2: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đến khả năng sinh sản của lợn nái.

1. Thiết kế thử nghiệm

Trong thử nghiệm 2, các lợn nái được theo dõi trong một thời kỳ sinh sản (từ thời điểm cai sữa này đến thời điểm cai sữa tiếp theo). Các lợn nái sinh nhiều con mỗi lứa (63) được chia thành 3 nhóm thử nghiệm; 1) nhóm đối chứng, 2) có chế độ dinh dưỡng như nhóm đối chứng với thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa 0,31% muối kép canxi nitrat và 3) có chế độ dinh dưỡng như nhóm đối chứng với thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung 0,15% L-arginin. Hàm lượng L-arginin được bổ sung vào để thu được cùng lượng nitơ bằng 0,31% muối kép canxi nitrat. Các nhóm thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 3. Thành phần của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ 2 được thể hiện trong phụ lục 2.

Bảng 3: Chế phẩm thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đối chứng và thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được sử dụng trong thử nghiệm 2.

	Lợn lái thử nghiệm	Tỷ lệ liên kết	Chế độ dinh dưỡng		
	(WOI ¹ , mang thai và cho con bú)		WOI	Mang thai	Cho con bú
1	Đối chứng	-	A	D	A
2	Nitrat	0,31% muối kép canxi nitrat	B	E	B
3	Arginin	0,15% L-Arginin	C	F	C

¹ Cai sữa đến thời kỳ đông dục

¹ Cai sữa đến thời kỳ động dục

2. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp và phương pháp chế biến

Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được chế biến để đáp ứng toàn bộ nhu cầu dinh dưỡng thiết yếu cho lợn nái và lợn con theo khuyến cáo SFR. Thành phần của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được thể hiện trong phụ lục 2. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được chế biến bởi ABZ-Diervoeding tại Leusden. Cơ sở này chuyên chế biến các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm với độ chính xác cao. Các thức ăn

chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được chế biến bằng phương pháp trộn kép. Trước tiên, thức ăn chăn nuôi hỗn hợp cơ bản, đủ cho toàn bộ thử nghiệm được chế biến. Sau đó thức ăn chăn nuôi hỗn hợp cơ bản này được chia thành ba phần và nguyên liệu thử nghiệm được bổ sung vào để thu được hai thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm khác nhau. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được tạo hạt cải ở nhiệt độ xử lý tối đa bằng 80°C. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được chế biến thành 3 lô dùng cho thời kỳ mang thai và 2 lô dùng cho thời kỳ cho con bú. Sau khi chế biến, toàn bộ các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được chuyển đến các cơ sở thử nghiệm của Schothorst Feed Research (Hà Lan).

3. Phân tích thành phần hóa học của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp

Các mẫu từ mỗi thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đã được tạo hạt cải được lấy để phân tích. Các mẫu này được chia thành 3 phần để phân tích bởi Schothorst Feed Research, phân tích bởi YARA AB và để bảo quản. Toàn bộ các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được phân tích độ ẩm, protein thô, chất béo thô, sợi thô và tinh bột bởi Schothorst Feed Research để xác định thành phần. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp này được phân tích hàm lượng nitrat để kiểm chứng tỷ lệ liên kết của hợp chất này bởi YARA AB. Các mẫu lưu trữ của toàn bộ các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp này được bảo quản ở nhiệt độ -20°C và lưu trữ trong 5 năm tại Schothorst Feed Research.

4. Động vật thử nghiệm và chuồng nuôi

Trong tổng số 63 lợn nái (số lần mang thai và sinh sinh nằm trong khoảng từ 2 đến 8) được sử dụng trong thử nghiệm 2; 2 nhóm với 29 lợn nái ở nhóm 1 và 34 lợn nái ở nhóm 2. Thử nghiệm này được thực hiện với các lợn nái có điều kiện cơ thể bình thường và sức khỏe tốt ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm. Các lợn nái có số lần mang thai và sinh sinh trung bình bằng 4,7 và số lần mang thai và sinh sinh được cân bằng qua các thử nghiệm càng nhiều càng tốt. Chế độ ăn tập được áp dụng trong vòng 3 ngày sau khi sinh trong thời gian thử nghiệm để chuẩn hóa kích cỡ lứa sinh nằm trong khoảng từ 12 đến 14 lợn con.

Từ thời điểm cai sữa trước đến 2 ngày sau khi thụ tinh, các lợn nái được nhốt trong các chuồng riêng (2,00m x 0,70m). Các chuồng này được trang bị ống cấp nước và gầu cấp thức ăn và có sàn được lót một phần (0,8m). Trong thời kỳ mang thai, các lợn nái

được nhốt trong chuồng theo từng nhóm với các nhóm khoảng 150 lợn nái và 4 trạm cấp thức ăn/nhóm. Các lợn nái được chuyển từ chuồng mang thai sang chuồng sinh ở khoảng ngày thứ 108 của thai kỳ. Các chuồng sinh (2,25 x 2,50m) được trang bị gầu cấp thức ăn và các lợn nái được cho ăn đầy đủ bằng cách kéo thanh kim loại trong gầu này. Các lợn nái không được sử dụng ổ rơm hoặc các vật liệu làm ổ khác. Nước uống tinh khiết được cấp đầy đủ tùy ý trong thời kỳ mang thai và cho con bú. Các chuồng có sàn được lót tấm nhựa bao gồm vùng sưởi ấm cho lợn con. Biểu đồ nhiệt độ giảm từ 23°C khi sinh đến 20°C sau 5 ngày sinh. Ánh sáng nhân tạo được cung cấp từ 6:00 đến 22:00 giờ.

5. Chế độ chăn nuôi

Trong thời gian thử nghiệm, các lợn nái được cho ăn theo chế độ được mô tả trong Bảng 4. Lợn con được cho ăn tùy ý từ ngày 14 trở đi.

Bảng 4. Chế độ chăn nuôi các lợn nái trong thời gian thử nghiệm

Thời kỳ	Ngày	Chế độ dinh dưỡng	Khẩu phần ăn (kg/ngày)
WOI ¹	1-4	Cai sữa	3,5
	5-6		2,5
Mang thai	1-39	Mang thai	2,8
	40-79		2,6
	80- 108		3,1
	109-112		3,1
	113-115		2,5
Cai sữa	1	Cai sữa	2,5
	2		3,0
	3		3,5
	4		4,0
	5		4,5
	6		5,0
	7		5,5
	8		6,0
	9		6,5
	10-cai sữa		Tùy ý

¹Cai sữa đến thời kỳ động dục

6. Các tiêu chuẩn quan sát và các thông số được ghi lại

Một số tiêu chuẩn quan sát để xác định khả năng sinh sản của lợn nái và khả năng sinh trưởng của lợn con được ghi lại trong thời gian thử nghiệm. Các lợn nái và lợn con được quan sát hàng ngày về dấu hiệu bất thường và bệnh tật. Các điều trị y tế được thực hiện riêng. Các phép đo được thực hiện và ghi lại trong thời gian thử nghiệm được mô tả

dưới đây và thể hiện trong phụ lục 3.

Các phép đo chuẩn

- Khẩu phần ăn hàng ngày và phế thải từ thức ăn/lợn nái riêng biệt trong thời kỳ cai sữa đến động dục (WOI), mang thai và cho con bú;
- Cân nặng và mỡ lưng (siêu âm, P2) ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm (cai sữa), ngày thứ 108 (chuyển vào chuồng sinh) và thời điểm cai sữa (ngày thứ 26);
- Tổng số lượng lợn con sinh ra, số lượng lợn con sống, số lượng lợn con chết lúc sinh và số lượng lợn mẹ;
- Cân nặng của từng lợn con khi sinh, sau 3 ngày chuẩn hóa và cai sữa;
- Tỷ lệ lợn con chết trong thời kỳ cho con bú;
- Thức ăn tạp được sử dụng từ khoảng ngày thứ 14 đến thời điểm cai sữa.

Cân nặng và mức độ tích tụ mỡ lưng của lợn nái và khả năng sinh trưởng của lợn con được tính toán. Hơn nữa, mức độ thay đổi cân nặng khi sinh và cân nặng khi cai sữa trong một lứa sinh được xác định.

Các phép đo bổ sung

- Ở ngày thứ 60 của thai kỳ và ở ngày thứ 21 của thời kỳ cho con bú, các mẫu máu được lấy từ toàn bộ các lợn nái để xác định tác dụng của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến nồng độ met-hemoglobin.

- Ở ngày thứ 60 của thai kỳ và ngày thứ 1-2 của thời kỳ cho con bú, các mẫu phân được lấy từ toàn bộ các lợn nái để xác định tác dụng của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến số lượng vi khuẩn thật tổng số, *Lactobacilli*, *E. coli* và *C. Perfringens* tổng số trong phân.

- Vào sáng ngày sau khi sinh, nhiệt độ trực tràng của toàn bộ các lợn nái được đo để xác định tác dụng của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến chứng viêm vú.

7. Quy định bảo vệ động vật

Thử nghiệm này được thực hiện theo Quy định của Ủy ban đạo đức thử nghiệm trên động vật và Quy tắc thực hành phòng thí nghiệm tại Hà Lan (Tài liệu AVD 246002015173).

8. Phân tích thống kê

Dữ liệu thô được phân tích về các trị số ngoại lệ và các trị số ngoại lệ tiềm năng có ảnh hưởng được loại bỏ bằng các số dư được chuẩn hóa vượt quá 2,5 đơn vị độ lệch chuẩn. Sau đó, các kết quả không có trị số ngoại lệ được phân tích thống kê bằng phân tích phương sai (ANOVA), sử dụng phần mềm GenStat® dùng cho Windows (ấn bản thứ 17). Khi có tác dụng điều trị đáng kể, thì phương pháp khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa được sử dụng để so sánh các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm.

Dữ liệu được phân tích theo mô hình sau:

$$Y_{ij} = \mu + diet_j + e_{ij}$$

trong đó:

Y_{ij} = biến phụ thuộc.

μ = trị số trung bình chung.

$diet_j$ = thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm dùng cho lợn nái ($j = T1, T2, T3$).

e_{ij} = sai số dư.

Do đồng tham số đối với cân nặng và chiều dày mỡ lưng, cân nặng và mỡ lưng của lợn nái ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm (ngày cai sữa) được sử dụng. Tỷ lệ phần trăm lợn con mới sinh chết, cân nặng của từng lợn con khi sinh và hệ số biến thiên khi sinh được hiệu chỉnh theo tổng số lợn con sinh ra. Khả năng sinh trưởng của lứa sinh trước cai sữa và tỷ lệ chết trước cai sữa được hiệu chỉnh theo số lượng lợn con sinh ra sống sót, và nếu thích hợp được hiệu chỉnh theo tuổi cai sữa.

Mức độ khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$ và $0,05 \leq P < 0,10$ được xem là gần như có ý nghĩa thống kê. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phép kiểm định hai chiều.

Kết quả thử nghiệm

Để xác định tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat đến khả năng sinh sản của lợn nái và khả năng sinh trưởng của lợn con, 21 lợn nái/nhóm được bắt đầu thử nghiệm này. Tuy nhiên, 15 lợn nái đã phải loại bỏ khỏi thử nghiệm này chủ yếu do động dục trở lại (3), sảy thai (5) và kích cỡ lứa sinh nhỏ (3). Điều này dẫn đến 48 lợn nái được

sử dụng để phân tích thống kê (Bảng 5).

Bảng 5: Phân bố và nguyên nhân loại bỏ lợn nái.

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin
Kích cỡ lứa sinh nhỏ		2	1
Động dục trở lại	2	1	
Sảy thai	1	2	1
Không động dục			2
Khác		1	2
Còn lại	18	15	15

1. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp và phân tích

Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được chế biến thành 2 lô dùng cho thời kỳ cho con bú và 3 lô dùng cho thời kỳ mang thai. Các mẫu của mỗi lô thức ăn chăn nuôi hỗn hợp được phân tích bằng SFR để xác định hàm lượng chất khô, tro, protein thô, sợi thô, chất béo thô để xác định thành phần. Kết quả phân tích được thể hiện trên Bảng 6. Các thành phần dinh dưỡng phân tích được là giống như các thành phần được tính toán. Độ chênh lệch cao nhất là ở hàm lượng chất khô và hàm lượng của các thành phần dinh dưỡng còn lại là giống như các trị số kỳ vọng.

Bảng 6: Hàm lượng của các thành phần dinh dưỡng được phân tích và tính toán (g/kg) trong các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm.

	Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ cho con bú						Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ mang thai					
	A		B		C		D		E		F	
	Tính toán	Phân tích	Tính toán	Phân tích	Tính toán	Phân tích	Tính toán	Phân tích	Tính toán	Phân tích	Tính toán	Phân tích
Tro	66,2	60,6	66,3	59,6	64,8	60,2	52,9	52,9	52,9	51,5	51,5	51,9
Chất khô	878,4	896,6	878,4	896,7	878,4	896,3	882,6	895,2	882,6	895,9	882,6	896,4
Sợi thô	65,1	61,7	65,1	61,2	64,1	61,9	102,6	103,8	102,6	105,1	102,6	105,9
Protein thô	141,6	148,2	141,6	150,3	144,5	149,4	111,3	119,2	111,3	120,7	114,2	120,2
Chất béo thô	34,6	39,8	34,6	39,9	34,6	39,6	42,8	49,7	42,8	49,2	42,8	48,4

Hơn nữa, mỗi lô của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm được phân tích hàm lượng nitrat để kiểm chứng tỷ lệ liên kết của muối kép canxi nitrat (Bảng 7). Hàm lượng nitrat phân tích hơi thấp hơn hàm lượng dự tính. Tuy nhiên, độ chênh lệch này vẫn nằm trong khoảng để phân tích tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat đến khả năng sinh sản của các lợn nái và lợn con.

Bảng 7: Nồng độ nitrat dự tính và hàm lượng nitrat phân tích trong các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm ($\mu\text{g/g}$).

	Đối chứng		Muối kép canxi nitrat		L-Arginin	
	Dự tính	Phân tích	Dự tính	Phân tích	Dự tính	Phân tích
Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ mang thai						
lô 1	-	95	2000	1700	-	93
lô 2	-	65	2000	1930	-	79
lô 3	-	130	2000	2050	-	120
Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ cho con bú						
lô 1	-	20	2000	1500	-	18
lô 2	-	16	2000	1960	-	15

2. Mức độ hấp thu thức ăn, cân nặng và chiều dày mỡ lưng.

Mức độ hấp thu thức ăn của các lợn nái được tính toán dựa trên mức độ khác biệt về khẩu phần ăn và phế thải từ thức ăn trong thời gian thử nghiệm. Mức độ hấp thu thức ăn trung bình trong thời kỳ mang thai (ngày thứ 0 đến 108) bằng 2,7kg/ngày và mức độ hấp thu thức ăn trong thời kỳ cho con bú (ngày thứ 109 của thai kỳ đến thời điểm cai sữa) bằng 5,2kg/ngày. Ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm (lần cai sữa trước), các lợn nái có cân nặng trung bình bằng 234kg và chiều dày mỡ lưng bằng 16,6mm. Các lợn nái đã đạt được cân nặng trung bình bằng 44,2kg và chiều dày mỡ lưng bằng 4,4mm trong thời kỳ mang thai và cân nặng trung bình đã giảm xuống 36,6kg và chiều dày mỡ lưng bằng 4,1mm trong thời kỳ cho con bú.

Mức độ hấp thu thức ăn của các lợn nái trong các thử nghiệm khác nhau được thể hiện trong Bảng 8. Mức độ hấp thu thức ăn trong thời kỳ mang thai của các lợn nái được cho ăn muối kép canxi nitrat thấp hơn đáng kể so với các nhóm thử nghiệm còn lại ($P = 0,008$), dẫn đến ít tăng cân. Mặc dù, các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm không ảnh hưởng đến mức độ hấp thu thức ăn trong thời kỳ cho con bú, nhưng cân nặng của các lợn nái được cho ăn muối kép canxi nitrat ($P = 0,043$) đã giảm đáng kể so với các lợn nái được cho ăn thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đối chứng, và các lợn nái được cho ăn L-arginin thể hiện kết quả trung gian.

Bảng 8: Tác dụng của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến mức độ hấp thu thức ăn, cân nặng và chiều dày mỡ lưng.

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin	LSD ¹	Trị số P
Mức độ hấp thu thức ăn (kg/d)					
WOI (cai sữa-thụ tinh)	3,03	3,09	3,10	0,241	0,820
Mang thai (thụ tinh-ngày 108)	2,76 ^a	2,72 ^b	2,76 ^a	0,028	0,008
Cho con bú (ngày 109-cai sữa)	5,25	5,17	5,31	0,354	0,750
Cai sữa-cai sữa	3,39	3,35	3,39	0,095	0,567
Cân nặng tăng (kg)²					
Cai sữa (bắt đầu)	230	239	235	18,2	0,627
Ngày 108	281	275	279	6,3	0,123
Cai sữa (kết thúc)	238	243	242	8,2	0,355
Cai sữa-ngày 108	46,9	40,6	44,5	6,27	0,123
Ngày 108-cai sữa	-41,8 ^a	-30,8 ^b	-36,1 ^{ab}	8,85	0,043
Cai sữa-cai sữa	5,1	9,8	8,4	8,18	0,467
Chiều dày mỡ lưng (mm)²					
Cai sữa (bắt đầu)	15,4 ^a	16,9 ^{ab}	17,7 ^b	1,87	0,037
Ngày 108	19,7	19,9	20,0	1,26	0,855
Cai sữa (kết thúc)	15,5	15,8	16,0	1,24	0,733
Cai sữa-ngày 108	3,23	3,28	3,71	1,135	0,649
Ngày 108-cai sữa	-4,16	-4,05	-4,03	1,584	0,985
Cai sữa-cai sữa	-1,03	-0,45	-0,63	1,174	0,582
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					
² Cân nặng và chiều dày mỡ lưng được hiệu chỉnh theo cân nặng và mỡ lưng của lợn nái ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm (cai sữa).					
^{ab} Các ký tự chỉ số trên khác nhau trong một hàng thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm thử nghiệm.					

3. Khả năng sinh sản của lợn nái

Trung bình, các lợn nái trong thử nghiệm này có tổng số 17,2 lợn con sinh ra và 16,0 lợn con sinh ra sống sót với cân nặng trung bình khi sinh bằng 1281g (tổng số lợn con sinh ra).

Kích cỡ lứa sinh và cân nặng khi sinh của các lợn con được thể hiện trên Bảng 9.

Bảng 9: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đến kích cỡ lứa sinh và cân nặng khi sinh của lợn con.

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin	LSD ¹	Trị số P
Kích cỡ lứa sinh (n)					
Tổng số lợn con sinh ra	17,8	16,7	17,1	1,78	0,470
Lợn con sinh ra sống sót	16,4	15,3	16,1	1,63	0,346
Lợn con chết khi sinh	1,3	1,3	1,0	1,11	0,809
Lợn mẹ	0,3	0,5	0,5	0,53	0,720
% Lợn con chết khi sinh ²	6,7	8,5	5,8	5,64	0,631

Cân nặng khi sinh (TB)					
Lứa sinh (kg)	21,9	19,6	23,0	3,04	0,078
Tổng lợn con (g) ²	1274	1211	1355	134,3	0,106
Hệ số biến thiên (%) ²	22,9	25,5	22,9	3,89	0,324
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					
² Được hiệu chỉnh theo tổng số lợn con sinh ra.					

4. Khả năng sinh trưởng của lợn con

Trong thử nghiệm này, các lợn con có cân nặng trung bình khi cai sữa bằng 7,6kg, có nghĩa là tốc độ sinh trưởng trung bình bằng 234g/ngày từ khi sinh đến lúc cai sữa. Hơn nữa, tỷ lệ lợn con chết trung bình trước cai sữa bằng 7,1%.

Tác dụng của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến khả năng sinh trưởng của lợn con được thể hiện trên Bảng 10.

Bảng 10: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến khả năng sinh trưởng của lợn con trước cai sữa.

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin	LSD¹	Trị số P
Số lượng lợn con					
Bắt đầu (sau khi chuẩn hóa)	13,2	13,1	13,2	0,64	0,908
Cai sữa	12,4	12,0	12,1	0,96	0,574
Lứa sinh (kg)					
Cân nặng lúc cai sữa	96,9	91,7	91,2	10,90	0,498
Tốc độ sinh trưởng ²	79,6	75,5	73,8	9,36	0,425
Cân nặng lợn con (kg)					
Cân nặng lúc cai sữa ²	7,74	7,60	7,52	0,580	0,742
Hệ số biến thiên (%) ²	15,4	15,4	15,9	2,81	0,646
Tốc độ sinh trưởng ²	6,35	6,27	6,08	0,563	0,604
Tỷ lệ chết (%)					
Bắt đầu-cai sữa ²	5,4	8,0	8,4	6,86	0,621
Thức ăn tập (g)					
Lợn con/ngày	11,5	13,9	12,8	7,49	0,808
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					
² Được hiệu chỉnh theo số lượng lợn con sau khi chuẩn hóa và tuổi cai sữa.					

5. Sức khỏe đường ruột

Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến sức khỏe đường ruột được phân tích bằng cách xác định số lượng vi khuẩn thực tổng số, *Lactobacilli*, *E. coli* và *Cl. Perfringens* trong phân trong thời kỳ mang thai và hai ngày sau khi sinh. Như được thể hiện trên Bảng 11, thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm không ảnh hưởng đến số lượng vi khuẩn đếm được trong phân. Tuy nhiên, số lượng *Cl. Perfringens* đếm được ở các lợn nái được bổ sung muối kép canxi nitrat trong cả thời kỳ mang thai và cho con

bú thấp hơn.

Bảng 11: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đến số lượng vi khuẩn đếm được trong phân (cfu log₁₀).

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L- Arginin	LSD ¹	Trị số P
Ngày thứ 60 của thai kỳ					
Vi khuẩn thực tổng số	12,3	12,3	12,3	0,09	0,597
<i>Lactobacilli</i>	10,8	10,8	11,0	0,27	0,436
<i>E. coli</i>	8,4	8,4	8,4	0,49	0,963
<i>Cl. Perfringens</i>	9,0	8,6	8,7	0,27	0,147
Sau khi sinh					
Vi khuẩn thực tổng số	12,3	12,5	12,4	0,20	0,127
<i>Lactobacilli</i>	10,9	10,9	10,8	0,54	0,868
<i>E. coli</i>	9,3	9,6	9,5	0,53	0,480
<i>Cl. Perfringens</i>	9,0	8,5	9,0	0,61	0,227
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					

Hơn nữa, thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm không ảnh hưởng đến nhiệt độ trực tràng của các lợn nái - là dấu hiệu của chứng viêm vú (Bảng 12).

Bảng 12: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến nhiệt độ trực tràng của các lợn nái vào sáng ngày sau khi sinh.

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L- Arginin	LSD ¹	Trị số P
Nhiệt độ trực tràng (°C)	38,9	39,0	38,9	0,378	0,952
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					

6. Các thông số máu

Như trong ví dụ 1, các mẫu máu cũng được lấy trong ví dụ 2 để xác định tác dụng của muối kép canxi nitrat đến nồng độ met-hemoglobin máu. Như được thể hiện trong Bảng 13, ở ngày thứ 60 của thai kỳ, các lợn nái được cho ăn bằng thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa L-arginin có nồng độ met-hemoglobin thấp hơn đáng kể so với các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp còn lại ($P = 0,001$), dẫn đến tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin thấp hơn đáng kể ($P = 0,002$). Các lợn nái chỉ được cho ăn muối kép canxi nitrat có nồng độ met-hemoglobin hơi tăng ở ngày thứ 60 của thai kỳ so với các lợn nái được cho ăn thức ăn chăn nuôi hỗn hợp đối chứng. Các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm không ảnh hưởng đến nồng độ met-hemoglobin, hemoglobin và tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin trong máu ở ngày thứ 21 của thời kỳ cho con bú.

Bảng 13: Tác dụng của thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm đến các thông số máu (hemoglobin (Hb), met-hemoglobin (Met-Hb) và tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin (Met-Hb/Hb).

	Đối chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin	LSD ¹	Trị số P
Ngày thứ 60 thai kỳ					
Hb (g/dL)	13,0	13,0	12,9	1,09	0,986
Met-Hb (g/dL)	2,4 ^a	2,9 ^a	1,6 ^b	0,62	0,001
Met-Hb/Hb (%)	18,8 ^a	22,7 ^a	12,9 ^b	5,33	0,002
Ngày thứ 21 của thời kỳ cho con bú					
Hb (g/dL)	12,5	12,7	12,5	1,11	0,939
Met-Hb (g/dL)	2,2	1,6	2,0	0,75	0,264
Met-Hb/Hb (%)	16,1	13,4	15,9	5,25	0,504
¹ LSD là mức độ khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa thống kê ở $\alpha < 0,05$.					
^{ab} Các ký tự chỉ số trên khác nhau trong một hàng thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm thử nghiệm.					

Mục tiêu của giải pháp hữu ích là đánh giá tác dụng của muối kép canxi nitrat, được bổ sung cho lợn nái từ một thời điểm cai sữa đến thời điểm cai sữa tiếp theo đến khả năng sinh sản của lợn nái và khả năng sinh trưởng của lợn con. Giả thuyết ban đầu về việc bổ sung muối kép canxi nitrat vào thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ mang thai và cho con bú là muối này sẽ có tác dụng tương tự đến khả năng sinh sản như L-arginin do có cùng cơ chế tác dụng. Arginin có tác dụng đến phát triển của nhau thai và tuyến vú bằng cách kích thích phát triển các mạch máu, cải thiện khả năng cung cấp máu, do đó cải thiện khả năng cung cấp dinh dưỡng đến bào thai và mức độ hấp thu axit amin của tuyến vú. Khả năng cung cấp dinh dưỡng đến bào thai được cải thiện có thể làm tăng kích cỡ lứa sinh và cân nặng lợn con.

Do thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa nitrat sẽ được chuyển hóa một phần thành nitrit trong cơ thể của lợn nái, nên việc liệu thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung muối kép canxi nitrat có làm tăng tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin trong máu của lợn nái dẫn đến thiếu oxy trong máu hay không đã được đánh giá. Tuy nhiên, kết quả thử nghiệm cho thấy tỷ lệ met-hemoglobin/hemoglobin chỉ hơi tăng ở ngày thứ 7 nhưng trở về bình thường trước ngày thứ 14 thử nghiệm. Do đó, các lợn nái có thể tự điều chỉnh cơ thể theo nồng độ gia tăng của nitrat do bổ sung muối kép canxi nitrat vào chế độ dinh dưỡng. Do đó, sức khỏe của lợn nái không bị ảnh hưởng.

Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung muối kép canxi nitrat đã làm giảm nhẹ mức độ hấp thu thức ăn trong thời kỳ mang thai, điều này có thể giúp giải thích mức độ khác biệt về kích cỡ lứa sinh và cân nặng lợn con khi sinh giữa nhóm được cho ăn thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung L-arginin so với nhóm được cho ăn CAN. Tuy nhiên, cân nặng lứa sinh trước khi cai sữa giữa các lợn nái được cho ăn thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung L-arginin và muối kép canxi nitrat không khác biệt.

Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp có bổ sung muối kép canxi nitrat được sử dụng cho lợn nái đã làm giảm đáng kể cân nặng của các lợn nái trong thời kỳ cho con bú, có thể có tác dụng có lợi đến khả năng sinh sản của các lợn nái trong thời kỳ tiếp theo (Hoving et al., Dom Anim 47, 1009-1016 (2012) do nang trứng phát triển tốt hơn trong các tuần cuối của thời kỳ cho con bú.

Bên cạnh tác dụng trên nhau thai và tuyến vú, việc bổ sung nitrat vào chế độ dinh dưỡng của lợn cái đang mang thai và cho con bú được kỳ vọng sẽ gián tiếp tác động tích cực đến sức khỏe đường ruột, do đó làm giảm bài tiết vi khuẩn gây bệnh trong phân. Đã phát hiện thấy rằng tác dụng của việc bổ sung muối kép canxi nitrat đến số lượng vi khuẩn đếm được trong phân đã làm giảm đáng kể số lượng *Cl. Perfringens*, trong cả thời kỳ mang thai và cho con bú, có thể có lợi cho sức khỏe của các lợn nái và lợn con.

Do không có khác biệt đáng kể về việc bổ sung L-arginin và muối kép canxi nitrat trong thử nghiệm này, nên có thể kết luận rằng muối kép canxi nitrat có cơ chế tác dụng tương tự như L-arginin.

Phụ lục 1: Thành phần của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ

1

Bảng 14: Thành phần (%) và nồng độ các chất dinh dưỡng được tính toán của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ 1 (g/kg).

		A	B	C
		0,31% muối kép canxi nitrat	0,63% muối kép canxi nitrat	1,25% muối kép canxi nitrat
Lúa mạch		15,00	15,00	15,00
Bắp		20,00	20,00	20,00
Mật mía >47,5%Su		4,00	4,00	4,00
Bột hạt cò xay thô, <20CF		5,00	5,00	5,00
Bột xay củ cải đường 20-25%		2,50	2,50	2,50
Bột đậu tương xay thô 47%CP		2,86	2,86	2,86
Lúa mỳ		22,07	22,07	22,07

Cám tấm lúa mỳ		13,39	13,39	13,39
Monocanxi phosphat		0,68	0,68	0,68
Muối		0,24	0,24	0,24
Vỏ hướng dương 38%CP		10,00	10,00	10,00
Lysin-HCl (L 79%)		0,35	0,35	0,35
Methionin (DL 99%)		0,01	0,01	0,01
Threonin (L 98%)		0,13	0,13	0,13
Hỗn hợp thức ăn sơ bộ chứa lysin và tryptophan 18/5		0,19	0,19	0,19
Muối khoáng và vitamin dùng cho lợn nái		0,50	0,50	0,50
Natri bicarbonat		0,31	0,31	0,31
Hỗn hợp thức ăn sơ bộ fytaza		0,33	0,33	0,33
Muối kép canxi nitrat		1,68	1,51	1,20
Đá vôi		0,31	0,63	1,25
Bột cá đuối		0,46	0,30	-
Các chất dinh dưỡng				
g/Kg	Độ ẩm	128,22	128,22	128,22
g/Kg	Tro	65,93	66,07	66,32
g/Kg	Protein thô	141,26	141,26	141,26
g/Kg	Chất béo thô	24,63	24,63	24,63
g/Kg	Sợi thô	53,93	53,93	53,93
g/Kg	Tinh bột	378,48	378,48	378,48
g/Kg	Đường	53,01	53,01	53,01
MJ/k g	Nhiệt dung riêng của lợn	8,77	8,77	8,77
g/Kg	Ca	9,30	9,30	9,30
g/Kg	P	6,07	6,07	6,07
g/Kg	Na	2,00	2,00	2,00
g/Kg	Cl	3,59	3,59	3,59
g/Kg	K	8,29	8,29	8,29
g/Kg	Cu	8,69	8,65	8,57
g/Kg	Zn	38,27	38,22	38,13
g/Kg	dEB	200,33	200,22	200,00
g/Kg	avCav	10,04	10,22	10,56
g/Kg	dP intns	3,20	3,20	3,20
g/Kg	FCHO	140,19	140,19	140,19
g/Kg	ICHO	95,53	95,53	95,53
g/Kg	NSP	216,96	216,96	216,96
g/Kg	SID_LYSs	7,14	7,14	7,14
g/Kg	SID_METs	2,20	2,20	2,20
g/Kg	SID_M+Cs	4,32	4,32	4,32
g/Kg	SID_THRs	5,01	5,01	5,01
g/Kg	SID_TRPs	1,41	1,41	1,41
g/Kg	SID_ARGs	7,84	7,84	7,84
	SID met/SID lys	0,31	0,31	0,31
	SID m+c/SID lys	0,60	0,60	0,60
Các chất dinh dưỡng		A	B	C
	SID threo/SID lys	0,70	0,70	0,70
	SID tryp/SID lys	0,20	0,20	0,20
	SID arg/SID lys	1,10	1,10	1,10
	C16+18,0/chất béo	0,16	0,16	0,16
g/Kg	C16+18:0	3,88	3,88	3,88

g/Kg	C16+18>0	16,51	16,51	16,51
	C16+18>0/C16+18,0	4,25	4,25	4,25
g/Kg	C18:2	11,26	11,26	11,26
/Kg	C18:2+3	11,94	11,94	11,94

Phụ lục 2: Thành phần của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ

2

Bảng 15: Thành phần (%) và nồng độ các chất dinh dưỡng tính toán được của các thức ăn chăn nuôi hỗn hợp thử nghiệm trong ví dụ 2 (g/kg).

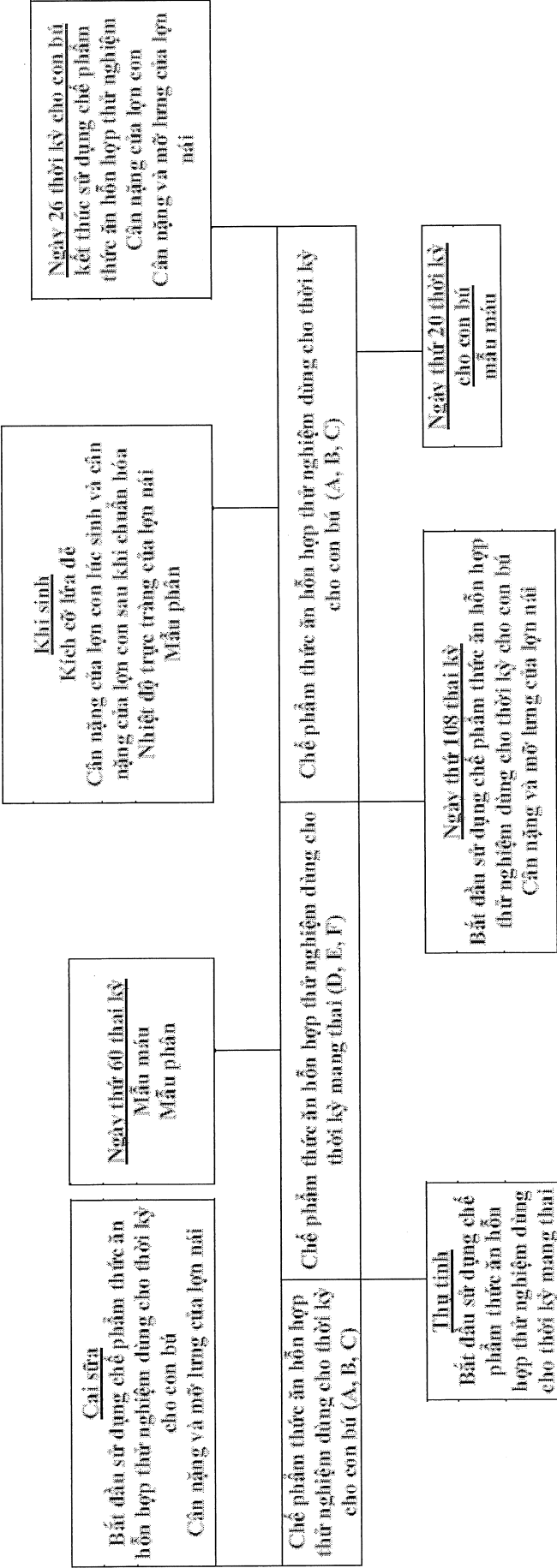
	Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ cho con bú			Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ mang thai		
	A	B	C	D	E	F
	Đôi chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin	Đôi chứng	Muối kép canxi nitrat	L-Arginin
Lúa mạch	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Bắp	20,00	20,00	20,00	10,00	10,00	10,00
Mật mía>47,5%Su	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Bột hạt cò xay thô, <20CF	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Bột xay củ cải đường 20-25%	2,50	2,50	2,50	6,56	6,56	6,56
Bột đậu tương xay thô 47%CP	2,86	2,86	2,86			
Lúa mỳ	22,07	22,07	22,07	17,3	17,3	17,3
Cám tấm lúa mỳ	13,39	13,39	13,39	15,00	15,00	15,00
Mono canxi phosphat	0,68	0,68	0,68	0,20	0,20	0,20
Muối	0,24	0,24	0,24			
Chất béo động vật <0,5%PFA				1,01	1,01	1,01
Vỏ đậu tương >36%CF				10,00	10,00	10,00
Vỏ hướng dương 38%CP	10,00	10,00	10,00	2,89	2,89	2,89
Lysin-HCl (L 79%)	0,35	0,35	0,35	0,18	0,18	0,18
Methionin (DL 99%)	0,01	0,01	0,01			
Threonin (L 98%)	0,13	0,13	0,13	0,06	0,06	0,06
Hỗn hợp thức ăn sơ bộ chứa lysin và tryptophan 18/5	0,19	0,19	0,19			
Bột xay củ cải đường 20-25				10,00	10,00	10,00
Muối khoáng và vitamin dùng cho lợn nái	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Natri bicarbonat	0,31	0,31	0,31	0,44	0,44	0,44
Đá vôi	1,84	1,68	1,84	0,88	0,73	0,88
Dầu cò (chất bao)				0,50	0,50	0,50
Hỗn hợp thức ăn sơ bộ fytaza	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Muối kép canxi nitrat		0,31			0,30	
Arginin (L 99%)			0,15			0,15
Bột cá đuối	0,61	0,46	0,46	0,15		
Các chất dinh dưỡng						

g/Kg	Độ ẩm	128,22	128,22	128,21	122,71	122,72	122,70
g/Kg	Tro	65,81	65,93	64,45	53,48	53,60	52,17
g/Kg	Protein thô	141,26	141,26	144,28	111,64	111,64	114,55
g/Kg	Chất béo thô	24,63	24,63	24,63	36,57	36,57	36,57
g/Kg	Sợi thô	53,93	53,93	53,93	95,69	95,69	95,69
g/Kg	Tinh bột	378,48	378,48	378,48	288,67	288,67	288,67
g/Kg	Đường	53,01	53,01	53,01	76,45	76,45	76,45
MJ/kg	Nhiệt dung riêng của lợn	8,77	8,77	8,79	8,52	8,52	8,53
g/Kg	Ca	9,30	9,30	9,30	6,20	6,20	6,20
g/Kg	P	6,07	6,07	6,07	3,97	3,97	3,97
g/Kg	Na	2,01	2,00	2,01	1,74	1,74	1,74
g/Kg	Cl	3,59	3,59	3,59	1,71	1,71	1,71
g/Kg	K	8,29	8,29	8,29	9,84	9,83	9,84
g/Kg	Cu	8,73	8,69	8,73	7,02	6,98	7,02
g/Kg	Zn	38,32	38,27	38,32	36,93	36,88	36,93
g/Kg	dEB	200,4	200,3	200,4	280,11	280	280,11
g/Kg	avCav	9,87	10,04	9,87	6,77	6,93	6,77
g/Kg	dP mild	3,51	3,51	3,51	2,40	2,40	2,40
g/Kg	dP intns	3,20	3,20	3,20	2,11	2,11	2,11
g/Kg	FCHO	140,19	140,19	140,19	225,00	225,00	225,00
g/Kg	ICHO	95,53	95,53	95,53	108,43	108,43	108,43
		Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ mang thai			Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp dùng cho thời kỳ cho con bú		
		T1	T2	T3	T1	T2	T3
g/Kg	NSP	216,96	216,96	216,96	317,11	317,11	317,11
g/Kg	SID_LYSs	7,14	7,14	7,14	4,35	4,35	4,35
g/Kg	SID_METs	2,20	2,20	2,20	1,50	1,50	1,50
g/Kg	SID_M+Cs	4,32	4,32	4,32	3,06	3,06	3,06
g/Kg	SID_THRs	5,01	5,01	5,01	3,14	3,14	3,14
g/Kg	SID_TRPs	1,41	1,41	1,41	0,92	0,92	0,92
g/Kg	SID_ARGs	7,84	7,84	9,32	5,2	5,2	6,63
	SID met/SID lys	0,31	0,31	0,31	0,34	0,34	0,34
	SID m+c/SID lys	0,60	0,60	0,60	0,70	0,70	0,70
	SID threo/SID lys	0,70	0,70	0,70	0,72	0,72	0,72
	SID tryp/SID lys	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21
	SID arg/SID lys	1,10	1,10	1,30	1,19	1,19	1,52
	C16+18,0/chất béo	0,16	0,16	0,16	0,25	0,25	0,25
g/Kg	C16+18:0	3,88	3,88	3,88	8,99	8,99	8,99
g/Kg	C16+18>0	16,51	16,51	16,51	20,52	20,52	20,52
	C16+18>0/C16+18,0	4,25	4,25	4,25	2,28	2,28	2,28
g/Kg	C18:2	11,26	11,26	11,26	10,37	10,37	10,37
g/Kg	C18:2+3	11,94	11,94	11,94	11,19	11,19	11,19

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa hợp chất nitrat vô cơ để cải thiện khả năng sinh sản của động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái, và lượng hữu hiệu của L-arginin trong đó hợp chất nitrat vô cơ này là phụ gia thức ăn chăn nuôi và được cung cấp trong chế độ dinh dưỡng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này, để thu được liều hàng ngày của nitrat tính trên một kg cân nặng của động vật có vú này, trong đó hợp chất nitrat vô cơ này được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, axit nitric, hoặc dẫn xuất hoặc tổ hợp, hỗn hợp hoặc muối kép bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.
2. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo điểm 1, trong đó hợp chất nitrat vô cơ này được sử dụng ở dạng bột, bột nén, tinh thể, hạt nhỏ, cốm, chế phẩm lỏng, gel, dung dịch, hoặc dạng vảy.
3. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp chứa hợp chất nitrat vô cơ để sử dụng trong điều trị cho động vật có vú và dạ dày một khoang đang mang thai và/hoặc cho con bú để làm giảm nguy cơ mắc hội chứng loạn tiết sữa sau sinh, và lượng hữu hiệu của L-arginin trong đó hợp chất nitrat vô cơ này là phụ gia thức ăn chăn nuôi và được cung cấp trong chế độ dinh dưỡng cho động vật có vú và dạ dày một khoang giống cái này, để thu được liều hàng ngày của nitrat tính trên một kg cân nặng của động vật có vú này, trong đó hợp chất nitrat vô cơ này được chọn từ nhóm bao gồm natri nitrat, kali nitrat, canxi nitrat, amoni nitrat, axit nitric, hoặc dẫn xuất hoặc tổ hợp, hỗn hợp hoặc muối kép bất kỳ của chúng, tốt nhất nếu hợp chất nitrat vô cơ này là $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.
4. Thức ăn chăn nuôi hỗn hợp theo điểm 3, trong đó hợp chất nitrat vô cơ này được sử dụng ở dạng bột, bột nén, tinh thể, hạt nhỏ, cốm, chế phẩm lỏng, gel, dung dịch, hoặc dạng vảy.

Phụ lục 3. Tổng quan các quan sát trong thử nghiệm 2



Các phép đo được thực hiện trong thử nghiệm 2

Fig.1