

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Petra MORI

**KVASOVKE V PREHRANI KRAV MOLZNIC**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**YEAST IN THE DIET OF DAIRY COWS**

GRADUATION THESIS  
Higher professional studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega strokovnega študija kmetijstvo – zootehnika na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za zootehniko je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Andreja Lavrenčiča.

Recenzentka: viš. pred. dr. Lijana Fanedl

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: prof. dr. Janez SALOBIR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- Član: viš. pred. dr. Lijana FANEDL  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- Član: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 26. 9. 2016

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Petra Mori

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs  
DK UDK 636.2.084/.087(043.2)=163.6  
KG govedo/krave/molznice/prehrana živali/kvasovke  
KK AGRIS Q55/5214  
AV MORI, Petra  
SA LAVRENČIČ, Andrej (mentor)  
KZ SI- 1230 Domžale, Groblje 3  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko  
LI 2016  
IN KVASOVKE V PREHRANI KRAV MOLZNIC  
TD Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij)  
OP XI, 42 str., 7 pregl., 5 sl., 61 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI V diplomskem delu smo pregledali razpoložljivo literaturo o delovanju živih ali suhih celic kvasa v prehrani krav molznic. Raziskovalci navajajo pozitivne učinke dodajanja kvasovk v obroke za krave molznice, predvsem na izboljšano prebavo vlaknine in s tem povezanim povečanim zauživanjem suhe snovi, izboljšano kondicijo in zdravstveno stanje živali, povečano prirejo mleka, ter stabilnejšo pH vrednost v ampove vsebine, ki je ključnega pomena za zmanjševanje gastrointestinalnih težav pri molznicah. Visoko produktivne krave molznice imajo v zgodnji laktaciji zaradi obrokov z veliko vsebnostjo energijskih krmil negativno energijsko bilanco. Kvasovke za svojo rast porabljajo kisik in ga s tem odstranjujejo iz vampa, saj kisik upočasnjuje fermentacijo hranljivih snovi. Kvasovke so koristne za uravnavanje številčnosti mikrobne populacije v vampu, saj spodbujajo rast anaerobnih bakterij, ki razgrajujejo rastlinske celične stene. Najbolj pogosta vrsta kvasovk, ki jo uporabljamo v prehrani prežvekovalcev je *Saccharomyces cerevisiae*. Dodajamo jo kot žive ali suhe celice, ki jih moramo krmiti redno v majhnih količinah (do 60 g/dan). Večje količine kvasovk ne izboljšujejo prireje in zdravstvenega stanja krav molznic.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs  
DC UDC 636.2.084/.087(043.2)=163.6  
CX cattle/dairy cows/animal nutrition/yeast  
CC AGRIS Q55/5214  
AU MORI, Petra  
AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)  
PP SI- 1230, Domžale, Groblje 3  
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Animal Science  
PY 2016  
TI YEAST IN THE DIET OF DAIRY COWS  
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)  
NO XI, 42 p., 7 tab., 5 fig., 61 ref.  
LA SI  
AL sl/en  
AB In this thesis, we have reviewed the available literature on the functioning of live or dried yeast cells in the diet of dairy cows. Mostly, researchers have cited the positive effects of adding yeast in the diet of dairy cows, in particular on improved fiber digestion and the associated increased ingestion of dry matter, improved body condition and health status of the animals, increasing milk production and stable pH value of ruminal contents, which is crucial to reduce the gastrointestinal problems in cows. Highly productive dairy cows in early lactation are due to consume food containing high levels of energy and because of that they have negative energy balance. Yeasts for their growth consume oxygen, thereby being removed from the rumen, it causes slowing fermentation nutrients. Yeasts are useful for regulating the abundance of microbial population in the rumen, because they stimulate the growth of anaerobic bacteria that break down plant cell walls. The most common type of yeast, which is used in the diet of ruminants is *Saccharomyces cerevisiae*. Add it as a live or dried cells that need to be fed regularly in small quantities (up to 60 g/day). Larger quantities of yeast to improve the rearing and health of the cows.

## KAZALO VSEBINE

	str.
<b>Ključna dokumentacijska informacija (KDI) .....</b>	<b>III</b>
<b>Key Words Documentation (KWD) .....</b>	<b>IV</b>
<b>Kazalo vsebine .....</b>	<b>V</b>
<b>Kazalo preglednic.....</b>	<b>VI</b>
<b>Kazalo slik.....</b>	<b>VII</b>
<b>Okrajšave in simboli .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>2</b>
2.1 KVASOVKE	2
2.2 VRSTE KVASOVK	3
2.2.1 <i>Candida sp.</i>	4
2.2.2 <i>Sacharomyces sp.</i>	5
2.3 PRIDOBIVANJE KVASA	5
2.3.1 Naravni kvas	6
2.3.2 Pivski kvas	6
2.3.3 Industrijski kvas	6
2.4 KEMIJSKA SESTAVA KVASA	7
2.5 PREHRANSKI DODATKI, KI VSEBUJEJO KVASOVKE	10
2.5.1 Žive kvasovke	11
2.5.2 Aktivne suhe kvasovke	14
2.5.3 Kvasni ekstrakt	14
2.5.4 Celične stene kvasovk	15
<b>3 DELOVANJE KVASOVK V PREBAVILIH PREŽVEKOVALCEV .....</b>	<b>16</b>
3.1 VPLIV KVASOVK NA RAZGRADLJIVOST IN PREBAVLJIVOST HRANLJIVIH SNOVI (ORGANSKE SNOVI, SUROVIH BELJAKOVIN IN SUROVE VLAKNINE)	17
3.1.1 Vpliv kvasovk na prebavo vlaknine	19
3.1.2 Metanogeneza	21
3.2 VPLIV KVASOVK NA RAST MIKROORGANIZMOV V VAMPU	22
3.3 VPLIV KVASOVK NA TVORBO HLAJNIH MAŠČOBNIH KISLIN V VAMPU	23
3.3.1 Vpliv kvasovk na fermentacijo hranljivih snovi	24
3.4 VPLIV KVASOVK NA pH V PREDŽELODCIH	25
3.4.1 Vpliv znižanega vampovega pH na učinkovitost delovanja vampa in produktivnost živali	25
3.4.2 Acidoza in alkalozna predželodcev	27
3.4.3 Vročinski stres	27
<b>4 VPLIV KVASOVK NA PRIREJO PREŽVEKOVALCEV .....</b>	<b>30</b>
4.1 VPLIV KVASOVK NA MLEČNOST IN SESTAVO MLEKA	30
<b>5 SKLEPI .....</b>	<b>33</b>
<b>6 POVZETEK.....</b>	<b>34</b>
<b>7 VIRI.....</b>	<b>35</b>

**ZAHVALA**

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Sestava suhega kvasa v odstotkih (%) (Composition of Yeast, 2007).....	7
Preglednica 2: Kemijska sestava suhega pivskega kvasa ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ).....	8
Preglednica 3: Vsebnost aminokislin v suhem pivskem kvasu.....	8
Preglednica 4: Vsebnost mineralov v suhem pivskem kvasu .....	9
Preglednica 5: Vsebnost vitaminov v suhem pivskem kvasu .....	10
Preglednica 6: Prebava vlaknine ob dodatku Sc 47, Biocell fam mix (Live Yeast Supplements ..., 2016). .....	19
Preglednica 7: Vpliv hranjenja dodatka Diamond V XP, Rumenco, na mlečnost in sestavo mleka (Zavorski in sod., 2014, cit. po Rumenco, 2016) .....	32

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Celica kvasovke pod mikroskopom (Carr, 2016) .....	2
Slika 2: Brstenje celic kvasovk (Carr, 2016) .....	3
Slika 3: Kvasovka <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pod mikroskopom (Carr, 2016) .....	5
Slika 4: Actisaff SC47 (Live Yeast Supplements ..., 2016) .....	12
Slika 5: Vpliv dodatka Biocell na pH v vampu (Biocell, 2016) .....	26

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

EU – Evropska unija

HMK – hlapne maščobne kisline

KDV – v kislem detergentu netopna vlaknina (*ang. ADF – acid detergent fiber*)

MSG - Mononatrijev glutamat

NDV – v nevtralnem detergentu netopna vlaknina (*ang. NDF – neutral detergent fiber*)

NEBAL – negativna energijska bilanca

NH<sub>3</sub> – amonijak

COH – ogljikovi hidrati

OS – organska snov

SARA – subakutna vampova acidoza

SB – surove beljakovine

Se - selen

SM – surove maščobe

SS – suha snov

SV – surova vlaknina

SOH – strukturni ogljikovi hidrati

cfu – število bakterijskih kolonij



## 1 UVOD

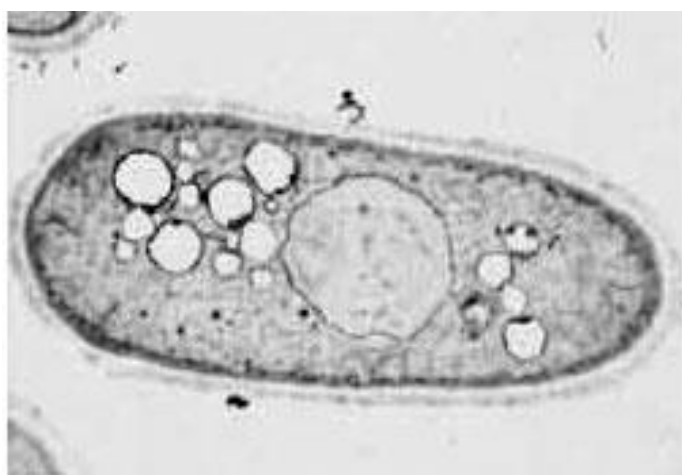
Posebna značilnost prehrane prežvekovalcev je hitro zaužitje krme, predvsem voluminozne ter žit. Ker živali krmo zelo malo prežvečijo, v vamp pridejo dolgi in grobi delci le-te. Dolžina in groba struktura zaužite krme sta povezani s količino in lastnostmi strukturnih ogljikovih hidratov (SOH), ki predstavljajo fizikalno učinkovito vlaknino. Le ta je predpogoj za normalno delovanje predželodcev. V obroku za prežvekovalce mora biti zadostna količina te fizikalno učinkovite vlaknine, ki s svojimi mehaničnimi učinki povzroča dva življenjsko pomembna procesa: prežvekovanje in ruminacija (gibanje predželodcev). Produkti njihove prebave in masa mikroorganizmov, ki nastajajo v predželodcih in v mikrobnih fermentaciji nerazgrajene in prebavljive hranljive snovi krme, so vir energije in beljakovin ter drugih hranljivih snovi (npr. vitamini) za prežvekovalce. Voluminozna krma ne vsebuje velikih količin hranljivih snovi. V njej prevladujejo SOH, predvsem celuloza, hemiceluloze in pektinske snovi. Teh snovi pa živali ne morejo izkoristiti z lastno biokemično prebavo v želodcu in tankem črevesju. Intenzivna mikrobnih fermentacija v predželodcih prežvekovalcem omogoča učinkovito izkoriščanje SOH. Šele, ko se rastlinske celice razgradijo mikrobnih prebavo, je vsebina rastlinske celice dostopna procesom prebave (Orešnik in Lavrenčič, 2013). Pri razgradnji celuloze lahko priskočijo na pomoč tudi kvasovke, ki porabljajo kisik za svojo rast, s tem pa ustvarjajo pogoje za rast anaerobnih mikroorganizmov, ki so potrebni za razgradnjo celuloze.

V diplomskem delu smo zbrali, pregledali in preučili smiselnost dodajanja kvasovk v obroke za prežvekovalce.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 KVASOVKE

Kvasovke<sup>1</sup> (slika 1) so ena gospodarsko najpomembnejših vrst gliv<sup>2</sup>. Uporabljajo jih na različnih področjih; na področju medicine, farmacije, kmetijstva in živilske industrije. Kvasovke so zaprtotrosonice, enocelični organizmi, ki se običajno razmnožujejo z brstenjem in imajo enostavno celično zgradbo. Najdemo jih povsod v naravi. (Yeast, 2016). Kvasovke proizvajajo encime, ki povzročajo vrenje ali fermentacijo. Najbolj znane so kvasovke iz rodu *Sacharomyces*, ki v procesu fermentacije sladkor pretvarjajo v alkohol (etanol) in ogljikov dioksid (Yeast, 2016).



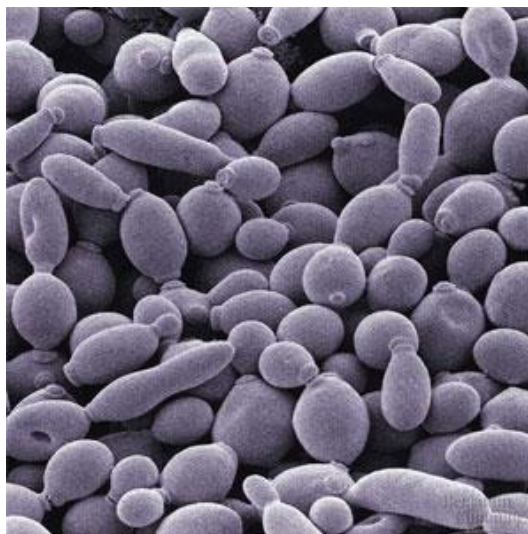
Slika 1: Celica kvasovke pod mikroskopom (Carr, 2016)

Razmnoževanje je lahko nespolno, to je z brstenjem in delitvijo (amitoza; slika 2), ali spolno z askosporami. Na blastospori, ki je kroglasta ali ovalna celica, se razvije en ali več brstov, ki se odcepijo, ko dosežejo velikost osnovne celce (Marčič Nachberger, 2009). Pri kvasovkah se v procesu spolnega razmnoževanja znotraj celice razvije štiri ali več negibljivih spor (Marčič Nachberger, 2009). V ugodnih življenjskih razmerah se namnožijo s cepitvijo celic.

---

<sup>1</sup> Kvasovke so enocelične glive. So heterogena, polifiletska skupina. Uvrščamo jih predvsem v debla *Ascomycota* in *Basidiomycota*, pojavljajo pa se tudi kot dimorfna oblika (rast v obliki celic kvasovk in hif) v deblu *Zygomycota* (Zalar in sod., 2012).

<sup>2</sup> Glive sestavljajo glive, plesni in kvasovke. Lahko so mnogocelični ali enocelični mikroorganizmi (Marčič Nahberger, 2008). Predstavljajo skupino evkariontskih heterotrofnih mikroorganizmov, ki pridobivajo energijo z oksidacijo organskih spojin (Zalar in sod., 2012).



Slika 2: Brstenje celic kvasovk (Carr, 2016)

Kvasovke lahko celo v neugodnih življenjskih razmerah, ko primanjkuje vode in hranljivih snovi, tvorijo spore in v takšnem stanju preživijo več let. V primerjavi z drugimi rastlinskimi organizmi imajo kvasovke, kljub težkim okoljskim pogojem, boljše možnosti za preživetje (Kvas, 2016).

Kvasovke so prehransko heterogene, ki lahko kot vir ogljika uporabljajo običajne sladkorje, organske kisline, etanol in druge alkohole. Dušik pridobivajo iz organskih (sečnina, aminokisline, dipeptidi, polipeptidi) in anorganskih virov (amoniak, nitrati, molekularni dušik) (Marčič Nachberger, 2009). V aerobnih pogojih kvasovke pretvorijo sladkorje (enačba 1) v ogljikov dioksid, vodo in celično biomaso (Organizem kot energijski ..., 2009)



## 2.2 VRSTE KVASOVK

Trenutno je poznanih 1500 različnih vrst kvasovk (Yeast, 2016) med katerimi so le redke vrste splošno razširjene. Uvrščajo se v deblo *Ascomycota*. Ker je bilo raziskanih malo naravnih habitatov, pričakujemo, da bodo v prihodnosti še odkrivali nove vrste (Beekhout

in Phaff, 2003). Kvasovke so uporabne tudi v proizvodnji biogoriv. Tudi pridobivanje biogoriva je, tako kot proizvodnja alkoholnih pijač, odvisna od sposobnosti kvasovk za fermentacijo škroba v etanol pod pogoji nizke vsebnosti kisika. *Saccharomyces cerevisiae* je široko uporabljena v raziskovanju biokemijskih procesov, v molekularni biokemiji, v celični biologiji in sistemski biologiji zaradi enostavnosti, s katero jo lahko gojimo (Yeast, 2016).

### 2.2.1 *Candida sp.*

Številne vrste kandide so endosimbioniti<sup>3</sup> z živalmi in ljudmi. Nekatere izmed njih lahko povzročajo bolezen imenovana kandidoza. Številne kandide so del običajne črevesne mikrobiote (*Candida albicans*), nekatere pa kot endosimbionti naseljujejo žuželke (Candida, 2013).

V zadnjem desetletju so postale okužbe s kandido klinično zanimive, predvsem zaradi porasta bolnikov z oslabljenim imunskim sistemom, ki so zelo dovzetni za okužbe. Določili so celoten genom več vrst kandid, kar omogoča nove pristope pri preučevanju in odkrivanju bolezni ter tudi pri razvoju novih protiglivičnih zdravil. Vrsta *Candida antarctica* predstavlja vir lipaze, ki se uporablja v industrijske namene (Candida, 2013).

*Candida utilis* je vrsta kvasovke, ki jo v živilski industriji pogosto uporabljamo kot aromo, v nekaterih primerih tudi kot povezovalac sestavin v hrani in v krmi za domače ter hišne živali. V farmacevtski industriji se uporablja kot rastni faktor v biokemijsko sestavljenih gojiščih. *Candida utilis* je poznana pod imenom *Torulopsis utilis*, ki ga je imela ta kvasovka pred preimenovanjem in je bila uspešno vključena v čiščenje odpadnih vod papirne industrije. Posušeni nefermentirani krmni kvas (imenovan tudi kvas Torula) pridobivajo z naseljevanjem kvasovk na podlago, kot je na primer lesna lužina (stranski proizvod papirne industrije) ali na različna gojišča.

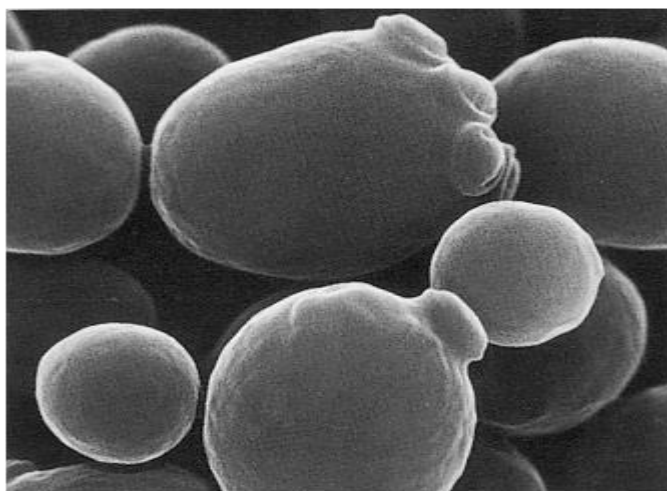
---

<sup>3</sup> Endosimbioza je tip sožitja, pri katerem določen organizem prebiva v telesu/telesni celici drugega organizma (Endosimbioza, 2016).

### 2.2.2 *Sacharomyces sp.*

Tipična vrsta *Sacharomyces cerevisiae* (slika 3) se uvršča v razred *Sacharomycetes*, red *Sacharomycetales* in družino *Sacharomycetaceae*. Poznana je kot pivska, pekovska in vinska kvasovka. Razmnožuje se spolno, in nespolno z brstenjem (slika 2). Pri spolnem razmnoževanju se askospore *S. cerevisiae* razvijajo v golih nezaščitenih askih (Zalar in sod., 2012).

Kvasovke tega rodu so sposobne asimilacije in fermentacije različnih vrst sladkorjev. Rastejo lahko v anaerobnih in aerobnih pogojih rasti. Optimalna rast *S. cerevisiae* je med 33 in 35 °C v mediju s 10 do 30 % glukoze. Minimalna temperatura, kjer raste *S. cerevisiae*, je 4 °C ob 10 % glukoze. Pri 50 % glukoze je minimalna temperatura rasti 13 °C (*S. cerevisiae*, 2013).



Slika 3: Kvasovka *Saccharomyces cerevisiae* pod mikroskopom (Carr, 2016)

## 2.3 PRIDOBIVANJE KVASA

Za pridobivanje kvasa gojimo kvasovke na različnih gojiščih (melasa, škrob, sulfidna lužina in sirotka) v velikih bioreaktorjih pri aerobnih pogojih. Proizvodnja kvasa je namenjena živilski industriji za proizvodnjo hrane in krme. V proizvodnji hrane aktivno biomaso

kvasovk (žive celice kvasovk) najpogosteje uporabljamo kot pekovski kvas in pivovarske, vinske ter žganjarske kvasovke. Neaktivno biomaso kvasovk pa uporabljamo kot dodatek hrani ali kot ojačevalec in tvorec arome, kot barvilo ali kot zgoščevalec. Kvas je predvsem vir encimov in vitaminov, ki jih dodajamo živilom (Batič in Raspor, 1996).

### **2.3.1 Naravni kvas**

Naravni kvas pridobivamo iz testa. Kos svežega testa, ki smo ga zgnetli iz moke in vode, pustimo fermentirati pri 20 do 25 °C deset dni. Nato mu dodamo še več moke in vode ter pridobimo kislo testo. Pridobljeno zmes imenujemo naravni kvas, ki ga uporabljamo za peko kruha. Ker kvasovke izločajo ogljikov dioksid, kruh vzhaja (Kvas, 2016).

### **2.3.2 Pivski kvas**

Pivski kvas je stranski proizvod pri varjenju piva. Pridobivamo ga iz usedlin pri fermentaciji ječmena med postopkom varjenja piva. Pri proizvodnji piva uporabljamo kvasovke *S. saharomyces* za fermentacijo sladkorjev v etanol in ogljikov dioksid. Čisti pivski kvas je bogat vir nekaterih vitaminov skupine B, in sicer B1, B2, B6 in niacina, ter rudnin: natrija, kalija, kalcija, fosforja, magnezija in železa, predvsem pa je dober vir kroma, selena in beljakovin (Pivski kvas ima ..., 2012).

Pivovarji uporabljajo več vrst pivovarskih kvasovk, ki jih ločimo glede na način fermentacije: kvasovke gornjega in spodnjega vrenja ter divje kvasovke (Marčič Nahberger, 2009).

### **2.3.3 Industrijski kvas**

Pridobivamo ga s procesom gojenja kvasovk *S. cerevisiae* na gojišču iz melase, ki je stranski produkt proizvodnje sladkorja iz sladkorne pese in sladkornega trsa in za kvasovke predstavlja vir saharoze, glukoze in fruktoze. Melaso pred fermentacijo razredčimo z vodo, zbistrimo in toplotno steriliziramo. Gojišču za gojenje kvasovk poleg melase dodamo dušik v obliki amonijaka ali različnih amonijevih soli, fosfate v obliki fosforne kisline, amonijevega ali di-amonijevega fosfata, žveplovo kislino in natrijev karbonat za

uravnavanje pH ter majhne količine mineralov (kalcij in magnezij) in elementov v sledovih. Po končani fermentaciji pri 25 °C zmes zalijejo, precedijo in jo nato posušijo ter embalirajo za prodajo. Vsebnost suhe snovi v tako pripravljenem kvasu se običajno giblje med 15 do 18 % (Yeast - A Treatise ..., 2001). To vrsto kvasa (t.i. pekovski kvas) uporabljamo v prehranski industriji in gospodinjstvu, medtem ko za prehrano živali proizvajajo krmni kvas (rast kvasovk *Candida utilis* na melasi ali sulfidni lužini). V novejšem času s pomočjo industrijskega kvasa pridobivamo tudi encime, hormone, rastne faktorje, barvila, vitamine in podobno.

#### 2.4 KEMIJSKA SESTAVA KVASA

Kvas vsebuje velik delež dušikovitih spojin. Njihova količina se giblje v skladu s pogoji prehranjevanja kvasovk med rastjo. Več kot polovica suhe snovi kvasa je sestavljena iz beljakovin in drugih dušikovitih spojin. V preglednici 1 so prikazane vrednosti posameznih sestavin.

Preglednica 1: Sestava suhega kvasa v odstotkih (%) (Composition of Yeast, 2007)

Beljakovine, amidi	51,8 %
Ogljikovi hidrati	29,5 %
Maščobe	1 %
Mineralne snovi	11 %
Celuloza	6,7 %

Preglednica 2: Kemijska sestava suhega pivskega kvasa (*Saccharomyces cerevisiae*)

	Grbeša, 2004	DLG, 1997	Raw Material Compendium, 1992
Povprečna kemijska sestava	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)
SS	930	900	900 - 950
Pepel	70	81	66 - 74
SB	470	521	348 - 520
SM	32	16	18,9
SV	22	25	11,0 – 29,0
NDV	65	/	/
KDV	20	/	/
škrob	10	/	49 – 55.2
Sladkor	13	13	0 – 6,9

Preglednica 3: Vsebnost aminokislin v suhem pivskem kvasu

	Grbeša, 2004	Raw Material Compendium, 1992
Aminokisliline	(g/kg)	(g/kg)
Lizin	28,7	31 - 36
Metionin	7,1	6,7 – 7,9
Metionin + Cistin	9,9	11,7 – 12,7
Treonin	20,2	21,2 – 30,2
Triptofan	4,7	5,2 – 5,7
Arginin	20,7	20,9 – 22,9
Izolevcin	20	20 – 24,4
Valin	22	23,3 – 25,4



Preglednica 4: Vsebnost mineralov v suhem pivskem kvasu

	Grbeša, 2004	Raw Material Compendium, 1992
<b>MINERALI</b>	(g/kg)	(g/kg)
Kalcij	3	1,2 – 2,3
Fosfor	11,5	11,4 – 15,1
Natrij	1,6	0,7 – 2,5
Magnezij	2	1,7 – 2,5
Kalij	17,5	/
Žveplo	4,5	/
<b>MINERALI</b>	(mg/kg)	
Klor	3	/
Mangan	35	5 – 52,51
Cink	65	29 – 81,88
Baker	45	17 – 56,96
Železo	100	50 - 498
Selen	0,8	0,10 – 0,91
Kobalt	0,18	0,16 – 1,5
Molibden	1	1 – 1,1

Preglednica 5: Vsebnost vitaminov v suhem pivskem kvasu

	Grbeša, 2004	Raw Material Compendium, 1992
Vitamins	(mg/kg)	
Vitamin E	2	2 – 3,4
B1	87	85 – 110,7
B2	45	32 - 45
B6	35	30 - 47
B12	3	/
Niacin	450	450 - 500
Pantotenska kislina	110	110 - 114
Folna kislina	10	1,6 – 19,6
Biotin	1	1,01 – 1,1
Holin	3350	2600 – 4150

## 2.5 PREHRANSKI DODATKI, KI VSEBUJEJO KVASOVKE

Za izdelavo krmnih dodatkov pogosto uporabljamo številne seve naslednjih vrst kvasovk: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum* (Tripatni M. K., 2008), *Candida utilis*, *Kluyveromyces marximanus*, *Kluyveromyces lactis* in *Yarrowia lipolytica* (Denev in sod., 2007). Njihova izbira je odvisna od substrata na katerem jih gojijo.

**Žive kvasovke, aktivni suhi kvas, suhi inaktivni kvas, kvasni ekstrakt in celične stene kvasovk** so krmni dodatki, ki jih uporabljamo v prehrani živali. Izdelki iz kvasa lahko učinkovito izboljšajo delovanje črevesne mikrobiote, krepijo odpornost organizma in zagotavljajo veliko hranljivih snovi za živali, preprečujejo in zdravijo bolezni prebavil ter spodbujajo rast. Izdelke iz kvasa imenujemo tudi zeleni krmni dodatki, saj so brez škodljivih snovi, brez stranskih učinkov in ne onesnažujejo okolja. Njihova uporabnost na področju industrijske predelave krme je dobro raziskana (Xu, 2014).

### 2.5.1 Žive kvasovke

Kvasovke so naravno prisotne v vampu prežvekovalcev in živali, ki so krmljene z voluminozno in delno koncentrirano krmo. Mlečno kislino in glikozo lahko spremenijo v očetno in propionsko kislino (Denev in sod., 2007). So krmni dodatki z biološko aktivnostjo. Veliko pripomorejo k izboljšanju prireje živali (Xu, 2014), kot je na primer povečana konverzija krme za 10 % do 15 %, izboljšana kakovost mleka in mlečnost za 1 - 2 litra/kravo, izboljšajo plodnost, telesno kondicijo in splošno zdravje živali (Live yeast supplements ..., 2016).

#### 2.5.1.1 Dodatki živih čistih kultur kvasovk

**YeaSacc®1026** je pripravek s selekcionirano živo kulturo kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* in predstavlja pomembno sestavino v krmi za visoko produktivne krave molznice. Povečuje številčnost vampovih bakterij in njihovo prebavljivost, s čimer omogoča prežvekovalcem doseči njihov poln proizvodni potencial, predvsem z izboljšanjem izkoristljivosti krme. YeaSacc®1026 zmanjšuje pojavnost prebavnih motenj, povečuje zauživanje suhe snovi, povečuje izkoriščanje krme, povečuje prirejo mleka, izboljšuje sestavo mleka in povečuje prirast živali. Priporočeno doziranje živih kvasovk je  $1,0 \times 10^9$  cfu/g, kar je 10 do 20 g preparata/dan (Yea-Sacc, 2016).

**Devicell 400** je dodatek živih in aktivnih kvasovk, ki dokazano spodbuja rast vampovih in črevesnih bakterij. Pri kravah molznicah in govedu krepi rast vampove mikrobne biomase in spodbuja anaerobno fermentacijo, poveča število celulolitičnih in mlečno-kislinskih bakterij (Devenish Yeast, 2016)

**Rumen BOOSTER** daje močan in dolgotrajen učinek na vampovo mikrobioto. Vsebuje bikarbonat, apnenec iz morskih alg, žive kvasovke ter vrste vitaminov B skupine, vključno s holinom, ki vpliva na povečanje števila vampovih bakterij in izboljša funkcijo jeter. Izdelek je primeren za vse vrste in kategorije prežvekovalcev. Preprečuje klinično in sub-klinično acidozo, spodbuja vampove bakterije, s čimer se poveča prebavljivost vlaknine in s tem prireja ter vpliva na sintezo vitaminov B skupine. Rumen Booster vsebuje žive kvasovke, ki

odstranjujejo nezaželeni kisik v vampu in s tem izboljšuje okolje za delovanje anaerobnih bakterij. Spodbuja tudi rast bakterij, ki nevtralizirajo nastale kisline in s tem izboljša pogoje za delovanje bakterij, ki razgrajujejo vlaknino. Živali posledično proizvedejo več mleka z višjo vsebnostjo mlečnih maščob (Rumen-Booster ..., 2016).

Izdelek **Fubon Active Feed Dry Yeast (ruminant)** je proizveden iz selekcioniranih sevov *Saccharomyces cerevisiae*, ki so prilagojeni na okolje z nizkim pH. Izdelek izboljša fermentacijo v vampu, poveča prebavljivost krme, izboljša rast živali ter rejsko okolje saj pripomore k zmanjšanju emisij amonijaka in metana. Celice kvasovk odstranijo kisik iz prebavnega trakta živali in s tem ustvarijo anaerobno okolje, ki onemogoča razvoj škodljivih bakterij, kot so *E. coli* in *Salmonela*. Izdelek ugodno vpliva na rast vampovih bakterij, kot so bifidobakterije in mlečno kislinske bakterije. (Fubon Active Feed ..., 2011).

**ActiSaf SC47** je sestavljen iz živih kvasovk vrste *Saccharomices cerevisiae*.



Slika 4: Actisaff SC47 (Live Yeast Supplements ..., 2016)

Kvasovke v izdelku **ActiSaf SC47** so se izkazale za posebno učinkovite pri povečevanju zauživanja suhe snovi oz. izkoriščanju krme. Povečujejo tudi mlečnost in prispevajo k izboljšanemu zdravju črede (Live Yeast Supplements ..., 2016). Z dodajanjem ActiSaf SC47 pričnemo 3 tedne pred telitvijo in ga krmimo skozi celotno laktacijo (Live Yeast Supplements ..., 2016).

Čisto kulturo živih kvasovk v izdelku **Biocell** vključujemo v obrok za krave molznice, kadar le ta vsebuje velike količine škroba. Biocell zmanjšuje tveganje za pojav acidoze.

Sprememba funkcije vampa ob dodatku Biocella zmanjšuje stres, izboljšuje oskrbo živali z energijo in preprečuje pretirano hujšanje po telitvi (Yeast Solutions, 2016).

**S selenom (Se) obogaten kvas** je priznan vir ekoloških živil in igra ključno vlogo v živalskih in človeški prehrani. Dokazano je bilo, da ima dopolnjevanje obroka z organskim selenom v kombinaciji s kvasom pozitivne učinke na rast, imunski status in razmnoževanje mnogih živalskih vrst, s čimer se posledično izboljša tudi produktivnost in ekonomske koristi v živinoreji (Rajashree in Muthukumar, 2013).

**Yarrowia Equinox** je dopolnilo za visoko proizvodne živali, za izboljšanje plodnosti in za živali s poslabšanim imunskim odzivom. Yarrowia Equinox je na voljo samo kot dodatek za konje in vsebuje kvasovke vrste *Yarrowia lipolytica*. Podpira številne funkcije organizma, saj krepi odpornost, izboljšuje prebavo, poveča učinkovitost živali, učvrščuje kopita, obnavlja celice organizma in izboljšuje prebavljivost hranljivih snovi (Yarrowia Equinox, 2016).

**K-34 PLUS** je beljakovinska mešanica slovenskega proizvajalca Jata Emona d.d., sestavljena iz sedmih beljakovinskih komponent, treh visokoenergijskih komponent in metionina. Namenjen je za krmljene visokoproizvodnih krav molznic v času negativne energijske bilance. Proizvod vsebuje pivski in krmni kvas ter žive čiste kulture kvasovk. Uporaba tega dodatka poveča prirejo mleka, izboljša njegovo sestavo, poveča zaužitje krme in prispeva k vzdrževanju optimalne kondicije živali (K-34 PLUS – Dopolnilna ..., 2016).

**Levucell® SC** je proizvod, v katerem so žive kvasovke (sev *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077), ki zaradi svoje sposobnosti preživetja pomagajo optimizirati splošne funkcije v vampu. *Sacharomyces cerevisiae* (sev CNCM I-1077) je bil izbran med več tisoč sevi, selekcioniranimi izključno za izboljšanje delovanja vampa. Vzdržuje ustrezen vampov pH, poveča prebavo vlaknine, pomaga k večji produktivnosti in učinkovitosti izkoriščanja krme, pospeši vzpostavitev optimalne mikrobne združbe ter vpliva na razvoj vampa pri mladih prežvekovalcih (The Effects of ..., 2008).

### 2.5.2 Aktivne suhe kvasovke

**MILKIVIT**, mineralne krmne mešanice Milkinal Extra, je bil razvit posebej za obrate, ki želijo povečati odpornost živali in dosegati visoke proizvodne rezultate. Recepture z naravnimi učinkovinami in dodatki za stimulacijo vampa skrbijo za optimalno oskrbo z učinkovinami in za najboljši izkoristek. Prilagojeni so specifičnim potrebam živali in so še posebej primerni za kakovostne krmne mešanice. Stimulirajo zauživanje krme, zmanjšujejo število somatskih celic v mleku, preprečujejo motnje v presnovi in plodnosti ter nudijo podporo v obdobju telitve. Mineralne krmne mešanice Milkivit izboljšujejo mlečnost, prirast in zdravje krav molznic, telic in telet (Milkivit, 2016).

**Krmna mešanica s kvasovkami Milkinal 12** vsebuje visok delež suhega pivskega kvasa (Milkivit, 2016).

#### **Pivski kvas**

Suh pivski kvas je posamično krmilo, namenjeno za prehrano živali (krav, bikov, konj, telet, merjascev, plemenskih svinj, pujskov, kožuharjev, rib, hišnih živali, perutnine ...). Je dietetična komponenta in dober vir naravnih vitaminov B skupine (B1, B2, B3 – niacin, B6) ter rudninskih snovi (natrija, kalija, kalcija, magnezija, železa, kroma in selena). Potrebno je razlikovati med krmnim in pivskim kvasom. Slednji je stranski produkt varjenja piva. Dodajamo ga kravam, bikom in konjem v količini 50 do 250 g/žival/dan, teletom v količini med 25 in 100 g/dan, merjascem in plemenskim svinjam v količini med 50 in 150 g/žival na dan (Pivski kvas, 2016).

### 2.5.3 Kvasni ekstrakt

Je topni del celic kvasovk in je skupno ime za različne oblike predelanih izdelkov iz kvasovk, ki jih pridobijo z ekstrakcijo vsebine celic (odstranjevanje celične stene). Za proizvodnjo se uporabljajo trije osnovni postopki: avtoliza, plazmoliza in hidroliza. Uporabljamo ga kot dodatek v živilski industriji, kot nosilec arome ali kot hranila za bakterijska gojišča. Pogosto ga uporabljamo za ustvarjanje slanih okusov, okusa po mesu, ki ga lahko najdemo v najrazličnejših živilih, vključno z zamrznjenimi jedmi, krekerji, hitro pripravljeno hrano in

omakami. Kvasni ekstrakt vsebuje veliko proste glutaminske kisline, ki daje živilom okus po mesu. Sol glutaminske kisline (mononatrijev glutamat -MSG) se pogosto uporablja kot prehranski dodatek, ki ojača okus hrane. (Gümüř in řehu, 2012).

#### **2.5.4 Celične stene kvasovk**

Izdelek **AGRIMOS**<sup>®</sup> sestavljajo celične stene kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*. AgriMos<sup>™</sup> dobimo z avtolizo kvasovk pri visoki temperaturi in pri kontroliranem pH. Ko je proces avtolize končan, celične stene in kvasni ekstrakt ločimo s centrifugiranjem. Celične stene posušimo z razprševanjem. Izdelek **AGRIMOS**<sup>®</sup> je dober vir mananooligosaharidov, ki sodelujejo pri vzdrževanju optimalnega ravnotežja koristne črevesne mikrobiote pri živalih in pomaga preprečevati naselitev patogenih bakterij v prebavilih. Vsebuje 24 % mananooligosaharidov in 25 % beta-glukanov (The Effects of ..., 2008).

### 3 DELOVANJE KVASOVK V PREBAVILIH PREŽVEKOVALCEV

Raziskave o vplivu kvasovk na delovanje v prebavilih so se pričele že v 80 letih 20. stoletja. Znanstveniki so začeli raziskovati ali kvasovke blagodejno vplivajo na vampovo mikrobioto visoko produktivnih krav molznic. Vplivi, ki so bili predmet raziskav, so izboljšana prireja mleka, uravnavanje pH vrednosti ter rast mikrobne populacije v vampu. Na rezultate raziskav močno vplivajo stadij laktacije, vrsta voluminozne krme, razmerje med voluminozno krmo in močnimi krmili ter sevi kvasovk in njihova koncentracija. Za življenje mikrobov v vampu je nujno anaerobno okolje. Ko kvasovke rastejo, porabljajo kisik in tako ustvarjajo okolje primerno za delovanje vampovih mikroorganizmov (Himba, 2016).

Poraba kisika, sinteza rastnih faktorjev in stabilizacija pH delujejo sinergistično na stimulacijo vampovih mikrobov. Chaucheyras in sod., 1995, cit. po Denev in sod., 2007, so ugotovili, da kulture kvasovk neposredno stimulirajo delovanje vampovih gliv, te pa izboljšajo prebavo vlaknine. Tam, kjer so dodali kvasovke, so v vampu opazili povečano število praživali in obseg prebave v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV), so ugotovili Plata in sod., 1994, cit. po Denev in sod., 2007. Dodajanje kulture kvasovk poveča število celulolitičnih in nekaterih drugih anaerobnih bakterij, ki ustvarjajo ugodno okolje za rast vampovih mikroorganizmov. Zanimanje za uporabo gliv v prehrani prežvekovalcev narašča. Prepoved antibiotikov v prehrani je povečalo zanimanje za uporabo kvasovk v prebavnem ekosistemu, njihovega vpliva na mikrobne populacije v vampu in njegovo funkcijo. Raziskave so pokazale, da lahko pripravki iz kvasovk spodbujajo rast specifičnih skupin t.i. koristnih bakterij v vampu. Učinki glede produktivnosti so odvisni od sevov kvasovk, saj vsi pripravki nimajo enake učinkovitosti (Chaucheyras in sod., 1995, cit. po Denev in sod., 2007).

Način delovanja kvasovk je osnovan tako, da zagotavlja vir topnih ogljikovih hidratov za mikrobno populacijo. Nekateri raziskovalci so celo mnenja, da kombinacija obeh tipov mikroorganizmov (kvasovk in anaerobnih vampovih mikroorganizmov) v prireji mleka daje še boljše rezultate. Študije so bile izvedene tudi na področju proučevanja izboljšanja prebavljivosti vlaknine v začetku laktacije. Nekateri raziskovalci dajejo velik pomen uporabi kvasovk na začetku laktacije, spet drugi priporočajo uporabo kvasovk v obdobju vročinskega



stresa. Znano je, da uporaba kvasovk, ne glede na vrsto, zagotovo poveča zauživanje suhe snovi, še posebej pri visoko produktivnih kravah, ki so krmljene z velikimi količinami močnih krmil (Himba, 2016).

Primeren izbor mikroorganizmov, ki se uporabljajo kot probiotiki, je zelo pomemben korak v procesu razvoja proizvoda. Celice kvasovk ne preživijo v vampu, v *in vitro* in *in vivo* poskusih pa so bile še vedno presnovno aktivne. Celice kvasovk lahko ostanejo v vampu aktivne do 6 ur. Dodatek kvasovk je učinkovit samo, dokler ima pogoje za rast. Za doseganje kakršnega koli pozitivnega učinka na produktivnost živali je pomembno konstantno krmljenje kvasovk prežvekovalcem. Ker se celice kvasovk ne morejo razvijati v vampovem okolju, jih je potrebno vnašati dnevno, v vampu pa lahko ostanejo žive le približno 30 ur. Edino žive kvasovke so tiste, ki lahko porabljajo sladkorje in kisik, kar jim omogoča daljše življenje v vampu. Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* lahko tvorijo nekatere presnovke, ki so koristni za vampove mikroorganizme (The benefits of ..., 2010).

### 3.1 VPLIV KVASOVK NA RAZGRADLJIVOST IN PREBAVLJIVOST HRANLJIVIH SNOVI (ORGANSKE SNOVI, SUROVIH BELJAKOVIN IN SUROVE VLAKNINE)

Pri prežvekovalcih je pri konzumaciji krme ali paše le ta po površini prevlečena s plastjo zračnih mehurčkov in kvasovke lahko odstranijo te mehurčke zraka s površine (Chaucheyras-Durand in sod., 2008). To ustvari boljše pogoje za rast točno določenih anaerobnih celulolitičnih bakterij in s tem stimulira njihovo vezavo na delce krme, s čimer se poveča začetna stopnja hidrolize celuloze (Roger in sod., 1990, cit. po Denev in sod., 2007). Prežvekovalci porabijo vsaj 12 ur na dan za zauživanje krme in prežvekovanje. S tem prihaja v vamp tudi veliko kisika, ki ga kvasovke porabijo za svojo presnovo, s čimer zmanjšujejo redoks potencial v vampu, ki je potreben za preživetje striktnih anaerobov: protozojev, gliv in bakterij (Roger in sod., 1990 cit. po Denev in sod., 2007).

Dodajanje kvasovk v obroke za prežvekovalce je pokazalo pozitivne učinke na prebavljivost različnih hranil. Yon in Stern (1996) sta ugotovila, da se je pri dodajanju 57 g kvasovk v

obrok, sestavljen iz 32,5 % koruzne silaže, 17,5 % sena lucerne, 35,3 % koruznega zrnja in 12,7 % sojinega drobljenca, povečala prebavljivost organske snovi (OS) za 10,1 do 12,1 % in surovih beljakovin (SB) za 79,5 % ob dodatku 20 g kvasovk in za 80,8 % ob dodatku 10 g kvasovk (Yon in Stern 1996, cit. po Patra, 2012).

Prebavljivost hranil se pri dodajanju kvasovk poveča zaradi stimulacije rasti mikrobnе populacije (Harrison in sod., 1988, cit. po Patra, 2012).

Različni dejavniki, kot so odmerek in sev kvasovk, sestava obroka, fiziološki stadij živali, vplivajo na odziv prežvekovalcev. Dopolnitev obrokov s *S. cerevisiae* v količini 2,5 in 5 g/dan poveča prebavljivost ogljikovih hidratov za 12,1 % in 10,5 % v primerjavi z obrokom brez dodatka kvasovk, so poročali Fadel-Sell in sod., 2004, cit. po Patra, 2012. Poročajo tudi, da je bila prebavljivost surovih beljakovin ob dodatku 0 g, 10 g ali 20 g kvasovk na dan 78,5 %, 80,8 % in 79,5 %, prebavljivost KDV pa 54,4 %, 60,2 % in 56,8 %. Prebavljivost surove vlaknine je bila podobna pri vseh opazovanih živalih (Patra, 2012).

Učinek *Saccharomyces cerevisiae* na prebavljivost hranil v laktaciji za krave molznice sta preučevala Doreau in Jouany (1999). Obrok, sestavljen iz 60 % koruzne silaže in 40 % močnih krmil, sta dopolnila z dnevnim odmerkom 50 g premiksa, ki je vseboval 0,5 g *S. cerevisiae* ( $6 \times 10^8$  cfu/g predmešanice). Skupna prebavljivost in razgradljivost organske snovi, prebavljivost nemikrobnega in mikrobnega dušika (N) v dvanajstniku, pH, vsebnost amonijakovega dušika in koncentracije hlapnih maščobnih kislin ter koncentracije nekaterih presnovkov v krvni plazmi se z dodatkom *S. cerevisiae* niso spremenili. Vsebnost suhe snovi v vampu se je povečala, razgradljivost SS in NDV iz koruze in N iz sojine moke pa se niso spremenili. Razgradljivost KDV iz koruzne silaže se je z dodatkom *S. cerevisiae* povečala iz 26,3 na 32,5 %. Avtorja Doreau in Jouany (1999) sta opazila tudi kratkoročno povečanje razgradnje N po 4 in 8 urah inkubacije. V poskusu avtorja nista dokazala učinka *S. cerevisiae* na prebavljivost in razgradljivost hranljivih snovi (Doreau in Jouany, 1999).

### 3.1.1 Vpliv kvasovk na prebavo vlaknine

Anaerobne glive naseljujejo v amp in aktivno razgrajujejo rastlinske celične stene. Vampove glive proizvajajo veliko celulaz in hemicelulaz in še posebej ksilanaz. Produkti delovanja teh encimov so predvsem topni sladkorji, ki so na voljo vampovim mikroorganizmom. Glive razgradijo neolesenele rastlinske stene v celoti. Anaerobne glive so edinstven red mikroorganizmov v vampu, ker s svojimi hifami lahko prodrejo skozi povrhnjico rastline in zmanjšajo njeno trdnost, zaradi česar živali takšna tkiva lažje prežvečijo (Live Yeast Supplements ..., 2016). V preglednici 6 so navedeni rezultati poskusa ob dodatku Sc47, Biocell fam mix (Live Yeast Supplements ..., 2016).

Preglednica 6: Prebava vlaknine ob dodatku Sc 47, Biocell fam mix (Live Yeast Supplements ..., 2016).

	Kontrolna skupina	Dodatek Sc47	razlika
pH	5,57	5,90	+ 0,33
Redoks potencial	-115	-149	+29,5 %
Prebavljivost SS	59,0	64	+8,5 %
prebavljivost NDV	29,6	41,6	+40,5 %
prebavljivost KDV	18,1	32,3	+8,5 %

Vampove glive imajo potencial za razgradnjo lignoceluloznih struktur rastlinskih celičnih sten iz voluminozne krme. Dokazani so bili učinki kvasovk na povečanje rasti celulolitičnih bakterij in njihovo povečano aktivnost pri razgradnji celuloze. Kaljivost zoospor gliv in razgradnja celuloze se je v prisotnosti seva *S. cerevisiae* povečala. Raziskava o učinkovitosti nekaterih sevov kvasovk za spodbujanje rasti, ki so jo izvedli veterinarji pri Velcourt Farms v Dorsetu leta 2004, je pokazala, da lahko kvasovke pospešijo hitrost, ne pa tudi obseg razgradnje celuloze. Dokazano je bilo, da dodatek živih kvasovk posredno spodbuja razgradnjo vlaknine in stabilizacijo v ampovega pH pri prežvekovalcih z acidozo. Zauživanje suhe snovi se je povečevalo skozi vseh 5 mesecev trajanja poskusa. Na začetku je zauživanje suhe snovi znašalo 26,1 kg, med poskusoma pa se je še povečalo za 1 do 2 kg na kravo (Akin in Borneman, 1990).

V naslednji raziskavi (Chaucheyras-Durand in sod., 1995) so preučevali učinke istega seva kvasovk na razgradnjo vlaknine različnih rastlin in sledili kolonizaciji bakterij in gliv prisotnih v vampu. Obrok za živali je bil sestavljen iz travne silaže in sena, zato živali niso bile izpostavljene nevarnosti, da bi zbolele za acidozo. Rezultati so pokazali, da je dodatek  $10^{10}$  cfu kvasovk na kravo na dan spodbudil kolonizacijo vlaknastih substratov s celulolitičnimi bakterijami *Fibrobacter succinogeneses*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens* in gliv. Ugotovili so, da so krmila z veliko vsebnostjo lignina in s težko prebavljivimi ogljikovimi hidrati boljše razgradljiva v prisotnosti kvasovk, ki so posebno izrazito vplivale na mikrobovo razgradnjo ligninopolisaharidov (Chaucheyras-Durand in sod., 1995).

V raziskavah, kjer so obroke dopolnili s kvasovkami so ugotovili povečano razgradljivost vlaknin in povečano količino zaužite suhe snovi. Na splošno se ob dodatku kvasovk izboljša prebavljivost vlaknin, ki je posledica večje aktivnosti mikrobiote. Raziskovalci Bitencourt in sod., 2008, cit. po Chaucheyras-Durand in sod., 2012, so ob krmljenju krav s koruzno silažo, sojino moko, celulozo iz citrusov in poparjenih koruznih otrobov ugotovili, da se je prebavljivost vlaknine ob dodatku  $10^{10}$  cfu živih kvasovk na dan povečala za 11,3 %. Prireja mleka se je povečala za 0,9 kg/dan. Krave niso imele nizkega pH v vampu in jih subakutna vampova acidoza ni ogrožala, saj se je pH gibal med 6,43 in 6,50. De Ondarzo in sod., 2010, cit. po Chaucheyras-Durand in sod., 2012 so opazili, da je bil učinek živih kvasovk še posebej izrazit pri nizko produktivnih kravah. Živali krmljene z obrokom, ki je vseboval 30 % NDV in kvasovke, so boljše izkoriščale krmo in so proizvedle 40 g mleka več /kg zaužite suhe snovi kot živali na enakem obroku, vendar brez kvasovk. Ugotovili so tudi, da so intervali med obroki krajši, pri tem pa dolžina zauživanja obroka in količina zaužite krme nista vplivali na zdravje živali. Zvišanje pH v vampu krav, ki so jim dodali žive kvasovke, je povečalo aktivnost celulolitičnih bakterij, zaradi česar se je povečala tudi frekvenca zauživanja obroka (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

Za optimizacijo prebavljivosti vlaknine moramo zmanjšati delež neprebavljene vlaknine, povečati njeno hitrost in v vampu vzdrževati okolje, ki vzpodbuja populacijo bakterij za prebavo le-teh (fibrolitične bakterije). Prebavljivost vlaknine voluminozne krme je povezana z vsebnostjo lignina. Na prebavljivost vlaknine posredno vplivajo nihanja pH, sprememba

mikrobne združbe ter spodbujanje prebavljivosti vlaknine. Neposredno pa na prebavljivost vlaknine vplivajo zauživanje peptidov, aminokislin, amoniaka, organskih kislin in razvejanih maščobnih kislin, ki so potrebne za rast gliv in bakterij (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

Večina raziskovalcev se strinja, da imajo kvasovke merljive učinke na fermentacijo v vampu in so koristne pri prebavi. Zauživanje suhe snovi je pogosto mišljeno kot začetek razgradnje vlaknine. Zgodnja stimulacija aktivnosti vampovih mikroorganizmov ima odločilen vpliv na zauživanje krme, kar posledično vpliva na izboljšanje prireje živali. Raziskovalca Dawson in Tricarico 2002, cit. po Denev, 2007 sta analizirala podatke, pridobljene iz 22 študij z 9000 kravami molznicami, v katerih so uporabili kvasovke YeaSacc<sup>®</sup>1026. Ugotovila sta, da se je mlečnost povečala za 7,3 % (v povprečju za 1,4 l/kravo) in da so bili učinki kvasovk večji v prvih 100 dneh laktacije. Ugotovila sta tudi, da je YeaSacc<sup>®</sup>1026 bolj učinkovit, kadar so živali krmiljene z uravnoteženimi obroki, kar je pomagalo pri stabilnosti mikrobne združbe v prebavilih (Denev, 2007).

### **3.1.2 Metanogeneza**

Metan nastaja v vampu kot stranski produkt fermentacije krme. Nastaja lahko tudi v drugih delih prebavnega trakta, tako pri prežvekovalcih kot neprežvekovalcih. Devetinosemdeset odstotkov metana, ki ga proizvedejo prežvekovalci v vampu, se izloči skozi pljuča. Zaradi tvorbe metana živali izgubijo okoli 2 % do 12 % energije zaužite s krmo.ocene izgub metana pri prežvekovalcih so odvisne tudi od geografske lege, kakovosti krme in zauživanja krme. Glavni metanogeni mikroorganizmi (metanogene arheje) v vampu prežvekovalcev uporabljajo vodik in ogljikov dioksid. Z odstranitvijo vodika iz vampa metanogeni mikroorganizmi dopuščajo nemoteno delovanje preostalih vampovih mikroorganizmov. Če vodik, ki nastaja ob fermentaciji ogljikovih hidratov, ni pravočasno odstranjen, lahko zavre delovanje ostalih vampovih mikroorganizmov. Sestava krmnega obroka (krme), predvsem sestava ogljikovih hidratov, vpliva na produkcijo metana in lahko vpliva tudi na pH v vampu. Prebavljivosti celuloze in hemiceluloze sta prav tako močno povezani s produkcijo metana (Hook in sod., 2010).

Emisije metana v kmetijstvu EU so bile leta 2000 ocenjene na 10,2 milijona ton na leto in predstavljajo največji vir metana. Od teh jih približno dve tretjini prihaja iz fermentacije hranljivih snovi v prebavilih, ena tretjina pa iz fermentacije hlevskega gnoja (Moss in sod, 2000). V Sloveniji ta podatek znaša 2168 kg CO<sub>2</sub> na kravo letno. Iz fermentacije hranilnih snovi v prebavilih 52,6 % in iz hlevskega gnoja 15,4 % (Izpusti toplogrednih plinov ..., 2015). Fermentacija krme v vampu je največji vir metana iz fermentacije v prebavilih. Ob povečanju nastajanja očetne in maslene kisline se količina metana povečuje, medtem ko se s povečanjem tvorbe propionske kisline tvorba metana zmanjšuje, saj je za tvorbo le te potreben tudi vodik. Za zmanjševanje tvorbe metana imamo mnogo možnosti, tako v smislu zmanjšanja tvorbe metana na žival kot zmanjšanja tvorbe metana na enoto proizvoda živali. Moss in sod., (2000) so zapisali, da je najbolj obetajoče področje za nadaljnje raziskave na področju zmanjšanja metanogeneze, razvoj novih proizvodov, ki zmanjšujejo metanogenezo ali pa so prejemniki elektronov v vampu. Navajajo tudi možnosti, ki temeljijo na zmanjševanju števila praživali v vampu (Moss in sod, 2000).

Dodatek *S. cerevisiae* v *in vitro* raziskavah zniža proizvodnjo metana za 10 %. Raziskovalca Linch in Martin, 2002, cit. po Patra, 2012, sta poročala o celo 20 % znižanju koncentracije metana 48 ur po dodatku mešanih vampovih mikroorganizmov in živih kvasovk. V raziskavi (Martin in sod., 1998 in Martin in Nisbeth, 1990, cit. po Patra, 2012) je dodatek celo povečal produkcijo metana. Raziskovalci Mathieu in sod., 1996, cit. po Patra, 2012, pa so v svoji raziskavi, ki je potekala *in vivo* ugotovili, da kvasovke niso imele učinka na proizvodnjo metana. Za učinke na zmanjšano proizvodnjo metana pri prežvekovalcih bo potrebno opraviti še veliko raziskav, da bi dokazali uspešnost dodajanja kvasovk v krmo prežvekovalcev (Patra, 2012).

### 3.2 VPLIV KVASOVK NA RAST MIKROORGANIZMOV V VAMPU

Mikrobne kulture, ki se uporabljajo kot potencialni probiotiki, morajo biti sposobne preživeti v prebavilih, morajo biti odporne na nizek pH, visoko koncentracijo hlapnih maščobnih kislin in soli žolčnih kislin (Vasanthakumar, 2013).

Kvasovke vsebujejo vitamine B, aminokisliline in organske kisline, predvsem malat, ki spodbuja rast vampovih bakterij (Callaway in Martin 1991, cit. po Asraf in Haque, 2011). Raziskovalca Nisbet in Martin 1991, cit. po Asraf in Haque, 2011, sta ugotovila, da je malat močan promotor rasti mlečno kislinskih bakterij *in vitro*, *in vivo* pa ne povečuje števila vampovih bakterij. Dodajanje Yea-sacc<sup>®</sup> 1026 v vamp poveča število celulolitičnih bakterij. Poleg tega kvasovke zagotavljajo topne rastne snovi, ki spodbujajo rast vampovih bakterij, ki porabljajo laktat in razgrajujejo celulozo sta zapisala Williams in Lyons (1988, cit. po Asraf in Haque, 2011).

Pri proučevanju načina delovanja kvasovk so raziskovalci ugotovili, da kvasni ekstrakt, ki ne vsebuje živih kvasovk, ni deloval na vampove mikroorganizme. Vitamini, prisotni v suhi kulturi kvasovk niso bili porabljeni. Obstaja pa možnost, da žive celice kvasovk proizvajajo vitamine v samem vampu. Ker so kvasovke naravno prisotne v vampu v zelo majhnem številu, jih je potrebno dodajati vsakodnevno (10 do 60 g kulture kvasovk na 100 do 150 l prostornine vampa). Žive celice kvasovk v vampu ostanejo presnovno aktivne le določen čas, kar pa je dovolj, da vzpodbudijo mikrobnost v tem anaerobnem okolju. Ob dodajanju kvasovk je prišlo do izboljšanja razgradnje vlaknine in manjše proizvodnje mlečne kisline. Nižja koncentracija mlečne kisline pomeni višji pH, kar predstavlja stabilizacijo pH v korist gostiteljske živali. Kvasovke s svojim delovanjem porabljajo kisik, ki je prisoten v vampovi vsebini. Študije kažejo, da so kvasovke koristne za vzdrževanje optimalnega razmerja med mikroorganizmi v vampu, stabilizacijo vampoovega pH in spodbujanje rasti mikrobov za razgradnjo rastlinskih celičnih sten (Wallace, 2016).

### 3.3 VPLIV KVASOVK NA TVORBO HLAPNIH MAŠČOBNIH KISLIN V VAMPU

Kvasovke zmanjšujejo rast mlečnokislinskih bakterij in stabilizirajo kislost v vampu. Z uporabo amonijaka kvasovke prav tako izboljšajo proizvodnjo mikrobnih beljakovin in s tem povečajo število mikroorganizmov v vampu. Vrednotenje učinkovitosti kvasovk v vampu temelji na pretvorbi ogljikovih hidratov v HMK. V nekaterih primerih vampove bakterije proizvajajo več HMK, kar pomeni več energije za kravo, v nekaterih pa več

bakterij, kar pomeni več presnovljivih beljakovin, ki so na voljo za absorpcijo. Proizvajalci živih sevov kvasovk trdijo, da so lahko samo žive kvasovke presnovno aktivne. Proizvajalci suhih kvasovk pa navajajo, da živi sevi ne morejo preživeti v krutem kislem okolju. Po njihovem mnenju na delovanje vampa ugodno vpliva samo substrat celične strukture kvasovk in spremljajočih snovi (Himba, 2016).

### **3.3.1 Vpliv kvasovk na fermentacijo hranljivih snovi**

Kvasovke običajno krmimo kravam molznicam, da bi spremenili fermentacijo v vampu in s tem izboljšali prebavljivost hranil, izkoriščanje N, zmanjšali tveganje za vampovo acidozo in izboljšali prirejo živali. Uravnavanje pH v vampu je ključni dejavnik pri vzdrževanju optimalnega delovanja vampa. Pri kravah molznicah se tudi zmanjša koncentracija mlečne kisline v vampu. Nedavne študije, izvedene tako pri mlečnem kot pitovnem govedu, so pokazale znatne prednosti dopolnitve obroka z živimi kvasovkami (*Saccharomyces cerevisiae*, sev I-1077), predvsem njihovega vpliva na mlečnost in izkoriščanje krme (Aguilar, 2013).

Dodajanje kvasovk v prehrano krav molznic povzroči tudi nastajanje etanola v vampu (Fuller, 1989, cit. po Denev, 2007), ki zavira delovanje potencialno patogenih mikroorganizmov. Kvasovke pa s temi potencialno patogenimi mikroorganizmi tudi tekmujejo za hranljive snovi in preprečujejo njihovo delovanje. Kvasovke proizvajajo tudi protimikrobne snovi kot so kisline, ki omejujejo rast patogenov. Kvasovke spodbujajo delovanje koristnih bakterij v vampu. Prvotno je bilo dodajanje zaželenih mikroorganizmov (probiotikov) omejeno le na tiste živali, ki so pod stresom ali bolne. Visoko produktivne krave v zgodnji laktaciji so najboljši kandidati za uporabo takšnih produktov, ker so v negativni energijski bilanci in jim krmimo velike količine lahko razgradljivih ogljikovih hidratov, ki povzročajo acidozo predželodcev (Denev, 2007).



### 3.4 VPLIV KVASOVK NA pH V PREDŽELODCIH

Nizek pH negativno vpliva na rast in preživetje celulolitičnih mikroorganizmov. Hitro razgradljiv škrob, ki ga vsebujeta pšenica in ječmen močnejše vpliva na vampov pH kot počasi razgradljiv škrob sirka in koruze. Na pH v vampu vpliva tudi dolžina delcev voluminozne krme, saj se s krajšanjem delcev zmanjšuje trajanje prežvekovanja ter izločanje sline, katere bikarbonati delujejo v vampu kot puferske snovi (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

Hlapne maščobne kisline znižujejo pH v vampu. Nizek pH pa zavira delovanje vampovih mikroorganizmov, ki delujejo optimalno pri pH med 6,2 in 6,8. Če bi kvasovke lahko vzdrževale bolj stabilen pH, bi bila aktivnost vampovih mikroorganizmov nemotena, kar bi privedlo do bolj produktivnih živali (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

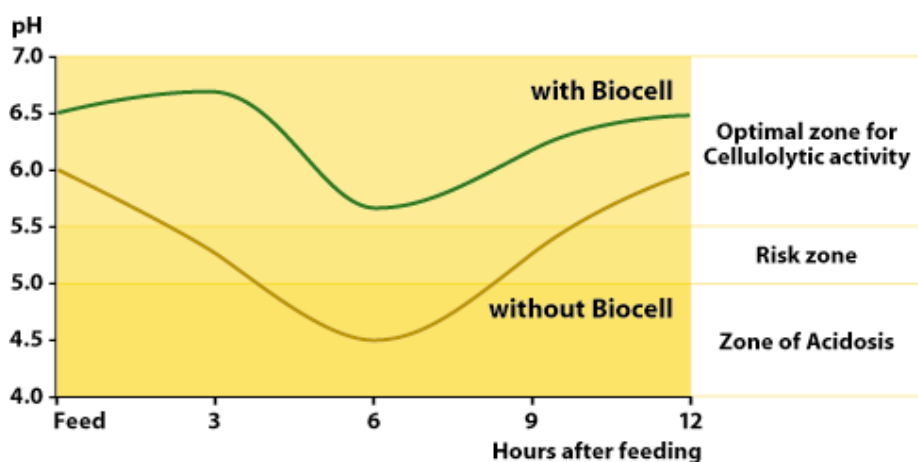
Učinki produkta fermentacije *S. cerevisiae* na mikrobnou fermentacijo v prebavnem traktu prežvekovalcev in odziv na vnetje so bili določeni pri osmih kravah pasme holštajn pod običajnimi in subakutnimi pogoji. Dobile so dodatek 14 g/d kvasa in osnovni obrok. Pri kravah, ki so kazale znake obolenja, se je pH vrednost znižala iz 11,1 na 5,6 (Li in sod., 2015).

#### 3.4.1 Vpliv znižanega vampovega pH na učinkovitost delovanja vampa in produktivnost živali

Posledice nizkega vampovega pH so acidoza in vnetje vampove stene. Povečana koncentracija laktata in zmanjšana koncentracija HMK po 8 do 24 urah je posledica majhne mikrobne aktivnosti ali hitre absorpcije HMK iz vampa v kri. Kopičenje D-laktata v krvnem obtoku sproži presnovno acidozo. Dodatek živih kvasovk poveča povprečno pH vrednost v vampu za 0,5 enote in povprečno najnižjo vrednost za 0,3 enote (Throne in sod., 2009).

Kot je razvidno iz slike 5, je pri uporabi dodatka Biocell prišlo do zvišanja vampovega pH. Raziskovalci so ugotovili tudi spremembe v zauživanju obrokov, saj se je interval med obroki skrajšal. Pri živalih, ki so jim dodajali kvasovke, je interval med obroki znašal 3,32

ure, medtem ko je bil interval pri živalih brez dodatka kvasovk 4,32 ure (Throne in sod., 2009).



Slika 5: Vpliv dodatka Biocell na pH v vampu (Biocell, 2016)

V poskus, ki so ga opravili pri »Lallemand Animal Nutrition«, so vključili osem živali pasme holštajn v pozni laktaciji in jim v obrok dodali 0,5 g kulture *S. cerevisiae* (CNCM-1077 Levucell SC20®SC)/žival/dan. Osnovni obrok je bil sestavljen iz 60 % voluminozne krme in 40 % močnih krmil. Živali obeh skupin krav so krmili istočasno enkrat dnevno. pH v vampu so merili neprekinjeno, šest dni vsakih 22 minut, s pomočjo pH sonde, ki so jo vstavili v ventralno vampovo vrečo. Koncentracije HMK in amonijevega dušika v vampu so določali peti, šesti in dvanajsti dan poskusa. Zauživanje krme je bilo v celotnem poskusu enako pri obeh skupinah. Povprečni pH v vampu je bil večji v skupini, ki so ji v obrok dodali kvasovke ( $6,53 \pm 0,07$  v testu in  $6,32 \pm 0,07$  v kontrolni skupini). Najvišja in najnižja pH vrednost v vampu sta bili pri poskusni skupini višja in nižja kot pri kontrolni skupini (najvišji pH  $7,01 \pm 0,09$  v testu in  $6,80 \pm 0,09$  v kontrolni skupini in najnižji pH  $5,97 \pm 0,08$  v testu in  $5,69 \pm 0,09$  v kontrolni skupini). Vendar pa je bil pH nižji od pH 5,6 v skupini z dodanimi kvasovkami krajši čas kot v kontrolni skupini. Raziskovalci med obema skupinama niso opazili nobene razlike v koncentraciji amonijevega dušika v vampu (Throne in sod., 2009).

*S. ruminantium* tvori propionsko kislino iz laktata. *S. ruminantium* HD4 je pretvorila 3,8-krat več propionske kisline iz mlečne kisline v prisotnosti kvasa v krmi (Martin, 1998, cit. po Asraf, 2011). Dodatek 10 g kvasovk/dan je zvišal vsebnost metionina od 13,5 % do 14,5

% in lizina iz 4,5 % na 5,8 % vseh esencialnih aminokislin (Putnam in sod., 1997, cit. po Asraf, 2011).

### **3.4.2 Acidoza in alkalozna predželodcev**

Za subakutno vampovo acidozo (SARA) zbolijo od 10 % do 40 % krav molznic v čredi so zapisali Chaucheyras-Durand in sod., (2012). Acidoza vampa je prebavna motnja pri prežvekovalcih, pri katerih se vrednost pH vampa zniža pod 6,0, do 4,0 ali celo do 3,5. Spremlja jo prehodna neješčnost in zmerne do hude gastrointestinalne težave, ki vplivajo na splošno stanje živali. Največkrat nastane kot posledica krmljenja krmil bogatih z lahko prebavljivimi ogljikovimi hidrati. Klinična znamenja pri živalih so odvisna od stopnje in trajanja vampove acidoze. Ločimo klinično in subklinično obliko vampove acidoze. Subklinična oblika acidoze se kaže v zmanjšanem odstotku mlečne maščobe in zmanjšani mlečnosti, manjšem prirastu, manj vitalnih teletih, reprodukcijskih motnjah in v pogostejšem pojavljanju ketoz (Redek, 2015).

Prežvekovalci imajo prebavila prilagojena za prebavo krme z veliko vlaknine. Prebavni proces je bakterijska razgradnja (fermentacija) vlaknine v vampu. Vzpostavljanje ravnovesja mikroorganizmov v vampu omogoča prežvekovalcem, da se prilagodijo na različne vrste krme. Vampove bakterije pretvorijo vlaknino v HMK (ocetno, propionsko in masleno kislino) in mlečno kislino. Laktat in HMK se pasivno absorbirajo skozi vampovo steno in črevesni epitel. pH v zunajcelični tekočini je eden izmed najbolj intenzivno reguliranih procesov v organizmu. Acidoza je povezana s povečanjem koncentracije vodikovih ionov, medtem ko je alkalozna povezana z zmanjševanjem koncentracije vodikovih ionov (Dehkordi in sod., 2011).

### **3.4.3 Vročinski stres**

Molznice imajo toplotno cono ugodja med 13° C in 25° C in relativno zračno vlago pod 70 %. Nad temi pogoji krave doživijo vročinski stres, ki ga spremlja zmanjšano zauživanje suhe snovi, nižja proizvodnja mleka, zmanjšanje vsebnosti mlečne maščobe, poslabšana plodnost, slabše delovanje imunskega sistema, zmanjšana aktivnost in povečano tveganje za pojav

mastitisa. Ti dejavniki se lahko razlikujejo glede na okoljske pogoje, raven mlečnosti in količine porabljene krme, stadij laktacije, velikost in pasmo krave. Mehanizmi, s katerimi molznica odvaja telesno toploto in vzdržuje telesno temperaturo, so kondukcija, konvekcija, sevanje in izhlapevanje. Prvi trije so odvisni od razmeroma velike razlike v temperaturni razliki med telesom in okoljem, zadnja pa od relativne vlažnosti zraka. Ko je temperatura okolja blizu telesne temperature, še posebej v primeru velike relativne vlažnosti zraka, se pojavijo težave z ohlajanjem organizma. Najbolj neugodno je, če je temperatura okolja blizu telesne temperature, obenem pa je tudi velika vlažnost zraka (Zhu in sod., 2012).

Učinke dodatka živih kvasovk kravam molznicam na prirejo mleka v poletni sezoni, na učinkovitost izkoriščanja krme in na prebavljivost obroka so preučili Esposito in sod., (2014). Živalim so obrok dopolnili z 1 g kvasovk *S. cerevisiae*/4 kg suhe snovi obroka. Dnevno zauživanje suhe snovi v skupini z dodatkom kvasovk je bil za 2,5 % večji v primerjavi s kontrolno skupino (24,7 in 24,1 kg). Povprečna dnevna mlečnost skupine z dodatkom 37,8 kg je bila večja za 1,5 kg (4,1 %) v primerjavi s kontrolno skupino 36,3 kg. V odstotku mlečnih maščob in beljakovin ni bilo razlik, vendar je bil izkoristek maščob v skupini z dodatkom večji kot pri kontrolni skupini. Pridelek maščobe je bil za 2,0 kg (6,1 %) večji v skupini z dodatkom kvasovk 34,8 kg kot pri kontrolni skupini 32,8 kg. Učinkovitost uporabe suhe snovi za 4 % maščobe v mleku je bil za 3,7 % večji v skupini z dodatkom kvasovk v primerjavi s kontrolno skupino. Koncentracija amoniaka v vampu je bila v kontrolni skupini večja kot v skupini z dodatkom (151,9 v primerjavi z 126,1 mg/l). Vrednosti pH v vampu so bile večinoma višje pri kravah, ki so bile krmljene z dodatkom kvasa (6,67) kot pri kontrolni skupini (6,54). Dodatek kvasa kravam molznicam v poletni sezoni je izboljšal vampovo okolje tako, da se je povečalo zauživanje suhe snovi in posledično se je izboljšala produktivnost in učinkovitost živali. Reprodukcijska krava molznic je tudi v normalnih pogojih zaradi povečane prireje mleka povezane z zauživanjem, nizka. Neugodni učinki pomanjkanja hranljivih snovi na reprodukcijo so neposredno povezani s povečanjem telesne temperature in razvoj NEBAL (negativna energijska bilanca). NEBAL je ena izmed najpomembnejših ovir za trajnostno prirejo mleka v tropskih in subtropskih državah. Razvoj NEBAL in obstoj katabolnega profila (nizek krvni tlak, koncentracije hormona glukoze, inzulin, rastni faktorji inzulina) privede do tihih ali kratkih estrusov in

škoduje plodnosti. Vročina ima škodljive učinke na molžo in razmnoževanje, ki so glavni viri prihodkov pri reji krav (Esposito in sod., 2014).

## 4 VPLIV KVASOVK NA PRIREJO PREŽVEKOVALCEV

V vampu poteka intenzivna mikrobna aktivnost. Pri mikrobni fermentaciji krme nastajajo organske kisline, med katerimi se nekatere lahko kopičijo in tako znižujejo pH v ampove vsebine. Dlje časa trajajoč nizek pH v vampu ima lahko negativen vpliv na delovanje mikroorganizmov, na njihovo presnovo in razgradnjo hranil. Posledica nizkega pH v vampu so tudi vnetja, driske in zmanjšanje vsebnosti maščob v mleku. Probiotiki, pozitivno vplivajo na imunski sistem in zdravje živali. Nekateri sevi iz rodu *Saccharomyces* lahko zmanjšajo število patogenih mikroorganizmov ali zmanjšajo koncentracije toksinov, ki jih le-ti proizvajajo. Vplivajo tudi na uravnavanje pH (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

### 4.1 VPLIV KVASOVK NA MLEČNOST IN SESTAVO MLEKA

Probiotiki imajo potencial, da izboljšajo izkoristek hranil za prirejo mleka, ki posredno ali neposredno prispevajo k povečanju mlečnosti, vsebnosti maščob, beljakovin in laktoze (Williams in sod., 1991).

Raziskovalci so v svojih raziskavah preučevali učinke živih kvasovk na mlečnost. Ugotovili so, da kvasovke fermentirajo sladkorje in zmanjšujejo njihovo razpoložljivost za rast bakterij, s čimer omejijo količino proizvedene mlečne kisline. Nasprotno pa suhe kvasovke niso imele nobenega učinka na sintezo mlečne kisline. Dodatek živih kvasovk je imel pozitiven vpliv na število, pestrost in aktivnost v ampovih bakterij in je zagotovil ustrezno ravnovesje med topnim dušikom in ogljikovimi hidrati. Ob dodatku kvasovk se je mlečnost povečala za 1,2 g/kg telesne teže. Tudi v raziskavi veterinarjev na Velcourt Farms v Dorsetu leta 2004 se je mlečnost postopoma povečevala in je bila za več kot 2 litra večja pri molznicah, ki so jih krmili z kvasovkami YeaSacc<sup>®</sup>1026 (Live Yeast Supplements ..., 2016).

Mlečnost se je pri kravah v prvih 100 dnevih laktacije ob dodatku živih kvasovk povečala za 1,15 kg/dan. Povečal se je tudi izkoristek krme, dodatek kvasovk pa je nekoliko zmanjšal vsebnost beljakovin in maščob v mleku (Dann in sod., 2000). V naslednji raziskavi so merili učinke kvasovk *S. cerevisiae* na zauživanje suhe snovi pred in po porodu ter mlečnost pri kravah pasme Jersey. V obrok so dodali 60 g kvasovk (*S. cerevisiae*)/žival/dan in sicer od

21. dneva pred porodom do 140. dneva po porodu. Zauživanje suhe snovi je bilo pri obeh skupinah zadnjih 7 dni pred porodom večje v skupini, ki je dobila kvasovke (9,8 v primerjavi z 7,7 kg). Tudi v prvih 42. dneh laktacije je bilo zauživanje suhe snovi v skupini, ki dobila kvasovke večje (13,7 v primerjavi z 11,9 kg). Krave, ki so z obrokom dobile kvasovke, so hitreje povečale zauživanje suhe snovi kot tiste, ki kvasovk niso dobile, zato se je tudi njihova telesna masa počasneje zmanjševala. Krave, katerih obrok je bil dopolnjen s kvasovkami, so hitreje dosegle višek laktacije, kljub temu pa se skupna količina prirejenega mleka v prvih 140. dneh laktacije med skupinama ni razlikovala. Vsebnosti maščob, beljakovin, laktoze, suhe snovi in sečnine v mleku, kakor tudi število somatskih celic, so bili pri molznicah, ki niso prejemale dodatka kvasovk bistveno manjše (Dann in sod., 2000).

Številne študije kažejo, da lahko ustrezen dodatek kvasovk v obroke izboljša mlečnost. Dodatek kvasovk lahko spodbuja prebavo, pri mladih živalih pa izboljša delovanje prebavnega trakta, saj naj bi kvasovke služile kot substrat za mikroorganizme v prebavnem traktu živali (Chaucheyras-Durand in sod., 2012).

Raval in sod., (2013) so opravili poskus na govedu pasme Kankrey. Proučevali so učinke probiotika, ki je vseboval tako *S. cerevisiae* kot *Lactobacillus sporogens* na izkoriščanje hranil in konverzijo krme krav v laktaciji. Štirinajst krav so razdelili v 2 skupini, kontrolno in testno. Slednji so obrok dopolnili s 15 g probiotika/žival/dan. Dopolnitev obroka s probiotikom je ugodno vplivala na laktacijo, saj se je povečal odstotek mlečne maščobe na 4 %. Dodatek probiotika je izboljšal zauživanje suhe snovi za 10,03 do 10,27 kg/dan in surovih beljakovin za 1012,03 do 1057,91 g/dan. Povečala se je tudi količina popite vode, izboljšala konverzija krme, vendar so bile razlike zanemarljivo majhne (Raval in sod., 2013).

Učinke produkta fermentacije *S. cerevisiae* na proizvodnjo mleka so preiskovali pri osmih kravah pasme holštajn pod običajnimi in subakutnimi pogoji. Živalim so v osnovni obrok dodali 14 g kvasa /dan. Pri kravah, ki so kazale znake obolenja, se je znižal odstotek mlečne maščobe iz 3,14 % na 2,82 % in zmanjšal obseg okuženosti. Na vsebnost beljakovin v mleku dodatek ni imel učinka (Li in sod., 2011).

Izdelki iz kvasa pozitivno vplivajo na krave molznice v vseh fazah proizvodnje. Pri hranjenju izdelka Rumenco, Diamond V XP (vsebuje žive kvasovke in metabolite, ki vplivajo na zdravje vampa. Vpliva tudi na povečanje prebavljivosti krme in izrabo hranil) je bil dokazan pozitiven vpliv na metabolizem in imunski sistem krave molznice v začetku laktacije. Raziskava (Zavorski in sod., 2014, cit. po Rumenco, 2016) je dokazala, da je dodatek zvišal proizvodnjo mleka za 4,6 kg/dan. Rezultati so prikazani v preglednici 7 (Rumenco, 2016).

Preglednica 7: Vpliv hranjenja dodatka Diamond V, XP, Rumenco, na mlečnost in sestavo mleka (Zavorski in sod., 2014, cit. po Rumenco, 2016)

Količina (kg/dan)	Skupina brez dodatka	Skupina z dodatkom (56 g / dan)	Razlika (kg / dan)
Mleko	36,1	40,7	4,6
Maščoba	1,62	1,73	0,11
Beljakovine	1,09	1,22	0,13
laktoza	1,69	1,91	0,22



## 5 SKLEPI

1. Dodajanje kvasovk v vampu prežvekovalcev poveča število celulolitičnih bakterij. Poleg tega kvasovke zagotavljajo topne rastne snovi, ki spodbujajo rast vampovih bakterij, ki porabljajo laktat in razgrajujejo celulozo. Z dodajanjem kvasovk se v vampu spremeni fermentacija in s tem tudi presnova hranil. Izboljša se prireja živali, poveča izkoristek N in zmanjša tveganje za vampovo acidozo.
2. Ustrezen dodatek kvasovk v krmo lajša psihološke in okoljske obremenitve živali. Izdelki iz kvasa pozitivno vplivajo na krave molznice v vseh fazah proizvodnje. Dodatek kvasovk lahko spodbuja prebavo, za mlade živali pa izboljša prebavne funkcije.
3. Dodajanje kvasa v prehrano prežvekovalcev je pokazalo pozitivne učinke na različno prebavljivost hranil. Raziskovalci so ugotovili povečano prebavljivost organske snovi (OS) do 12 % in surovih beljakovin (SB) do 80,8 %. Prebavljivost hranil se pri dodajanju kvasa poveča zaradi stimulacije rasti mikrobne populacije.
4. Probiotiki lahko koristijo kravam molznicam, saj posredno ali neposredno vplivajo na prirejo mleka od 1,2 do 4,6 l/dan in njegovo sestavo (mlečne maščobe za 0,11 kg/dan, beljakovin za 0,13 kg/dan in laktoze za 0,22 kg/dan).
5. Kvasovke vplivajo na nivo sinteze topnih maščobnih kislin in zvišanje stabilnosti vampovega okolja ter povečajo intenzivnost prebave. Kvasovke tudi direktno stimulirajo vampove glive, ki izboljšajo prebavljivost vlaknin. Za kvasovke je bilo dokazano, da lahko stimulirajo acetogene bakterije ob prisotnosti metanogenih arhej, kar se odraža v bolj učinkoviti fermentaciji v vampu.

## POVZETEK

Kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* so obetaven probiotik za izboljššan izkoristek hranil prežvekovalcev, kar poveča produktivnost živali. Kvasovke porabljajo kisik in njihova dihalna aktivnost zmanjšuje redoks potencial. Ker so glavni vampovi mikroorganizmi striktno anaerobni, odstranitev kisika izboljša anaerobiozo in zagotovi boljše pogoje za rast in aktivnost celulolitičnih bakterij kar izboljša fermentacijo v vampu. S pomočjo kisika kvasovke fermentirajo sladkorje in majhne oligosaharide in proizvajajo peptide ter aminokislino kot končne izdelke, ki jih porabljajo bakterije.

Kvasovke običajno hranimo kravam molznicam, da bi spremenili fermentacijo v vampu in s tem izboljšali prebavo hranil, izkoriščenost N, zmanjšali tveganje za vampovo acidozo in izboljšali mlečnost. Dopolnitev prehrane z uporabo živih kvasovk živalim, ki so imele zmanjšano proizvodnjo laktata, vpliva na bakterijsko raznolikost ter na ustrezno ravnovesje topnega dušika in ogljikovih hidratov. Žive kvasovke povečajo mikrobno aktivnost, kot tudi izrazito povečajo prebavljivost suhe snovi, v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV) in v kislem detergentu netopne vlaknine (KDV). Ob dodatku kvasovk se zniža tudi raven mlečne kisline v vampu. Povečanje presnove mlečne kisline lahko teoretično zviša vamppov pH in to je lahko razlog zakaj kvasovke zvišajo število vamppovih celulolitičnih bakterij in izboljšajo prebavo vlaknine. Dodane kvasovke zmanjšajo dnevno naraščanje pH vrednosti in izboljšujejo stabilnost vamppovega okolja tekom dneva. Uporaba kvasovk poveča tudi zauživanje suhe snovi, še posebej pri visoko proizvodnih kravah, ki so krmljene z veliko količino koncentrirane krme, kar poveča prirejo mleka. Kvasovke z zaviranjem kolonizacije koliformnih bakterij v črevesju ščitijo mlade živali pred prebavnimi motnjami (diareja) in s tem vplivajo tudi na zdravje živali.

## 6 VIRI

- Aguilar A. 2013. Yeast products in feed: what, why, where and when? Progressive Dairyman.  
<http://www.progressivedairy.com/topics/feed-nutrition/yeast-products-in-feed-what-why-where-and-when> ( 25. maj 2016)
- Akin, DE., Borneman WS. 1990. Role of rumen fungi in fiber degradation. Journal of Dairy Science, 73, 10: 3023-3032
- Asraf S. H., Haque N. 2011. Potentiality of yeast culture as a feed additive in dairy ration. Poulvet.com.  
[http://poulvet.com/dairy/articles/potentiality\\_of\\_yeastculture.php](http://poulvet.com/dairy/articles/potentiality_of_yeastculture.php) (25. jun. 2016)
- Batič M., Raspor P. 1994. Kvasna biomasa kot aditiv. V: 16. Bitenčevi živilski dnevi 94: Aditivi, Bled, 9. in 10. Junij 1994. Ljubljana, BF Oddelek za živilstvo: 23-33
- Biology of Yeast Cells – Simplified. 2001. The Artisan. 25. dec. 2001.  
[http://www.theartisan.net/biology\\_of\\_yeast\\_cells\\_simplified.htm](http://www.theartisan.net/biology_of_yeast_cells_simplified.htm) (16. apr. 2016)
- Boekhout T., Phaff H. J. 2003. Yeast biodiversity. V: Yeasts in food: beneficial and detrimental aspects. Boekhout T., Robert V. (ur.) Cambridge, Woodhead Publishing; BocaRaton, CRC Press: 1—38.  
<http://www.cplbookshop.com/contents/C1890.htm> (12. jun. 2016)
- Candida. 2013. Wikipedia (4. apr. 2013).  
<https://sl.wikipedia.org/wiki/Candida> (5. jun. 2016)
- Carr, K. E. Yeast - an example of a common one-celled eukaryote cell. 2016. Quatr.us.  
<http://quatr.us/biology/cells/yeast.htm> (27. maj 2016)
- Chaucheyras-Durand F., Fonty G., Bertin G., Gouet P. 1995. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. Current Microbiology, 31, 4: 201-205
- Chaucheyras-Durand F., Martin C., Chevaux, E., Forano, E. 2012. Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre

degradation, and microbiota according to the diet. Intech.  
<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/39623.pdf> (23.maj 2016)

Composition of Yeast. 2007. Chest of Books.  
<http://chestofbooks.com/food/beverages/Alcohol-Properties/Composition-Of-Yeast.html> (4. jul. 2016)

Dann H. M., Drackley J. K., McCoy G. C., Hutjens M. F., Garrett J. E. 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and production of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 1: 123–127

Dehkordi A. J. Mohammad Rahim Haji-Hajikolaei, Zahra Karimi-Dehkordi. 2011. ECG Changes in acute experimental ruminal lactic acidosis in sheep. *Veterinary research forum, Iran Journals*, 2, 3: 203–208.  
[http://vrf.iranjournals.ir/article\\_1543\\_20c7cf22d0c2a0ecc944099448b9d5b3.pdf](http://vrf.iranjournals.ir/article_1543_20c7cf22d0c2a0ecc944099448b9d5b3.pdf) ( 3. jun 2016)

Denev S. A., Peeva TZ, Radulova P., Stancheva N., Staykova G., Beev G, Todorova P., Tchobanova S. 2007. Yeast culture in ruminant nutrition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 357-374.  
<http://agrojournal.org/13/03-13-07.pdf> (10. apr. 2016)

Devenish Yeast. Devenish beyond Nutrition.  
<http://www.devenishnutrition.com/products-services/ruminant/c/specialist-products2/devenish-yeast> (22. maj 2016)

DLG – Futterwerttabellen. 1997. Frankfurt, DLG- Verlag, 158 str.

Doreau M., Jouany J.P. 1999. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 12: 3214-3221

Endosimbioza. Wikipedia (2016).  
<https://sl.wikipedia.org/wiki/Endosimbioza> (15. maj, 2016)

Esposito G., Irons, P. C., Webb E. C., Chapwanya A. 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 144, 3-4: 60-71

Fubon Active Feed Dry Yeast. 2011. Angel Yeast.  
<http://en.angelyeast.com/products/FeedAdditives/57536.html> (12. jun. 2016)

- Grbeša D. 2004. Metode procjene i tablice kemijskog sastava i hranjive vrijednosti krepkih krmiva. Zagreb, Hrvatsko agronomsko društvo: 293 str.
- Gümüş H., Şehu A. 2012. The usage of yeast and yeast production in ruminant. Science&Technologies: Animal studies&Veterinary medicine, II, 5: 5-8
- Himba J. 2016. Sorting through the research on yeast. Hoard's Dairyman.  
[http://www.hoards.com/E\\_nutrition](http://www.hoards.com/E_nutrition) (23. maj 2016)
- Hook, S. E., Wright, Andre-Denis G., McBride, Brian W. 2010. Methanogenus: Methane producers of the rumen mitigation strategies. Hindawi: 11 str.  
<http://www.hindawi.com/journals/archaea/2010/945785/> (12. jun. 2016)
- K-34 PLUS - Dopolnilna krmna mešanica za krave molznice. 2016. Agronatur.  
<http://www.agronatur.si/krmila/govedo/k-34-plus> (13. maj 2016)
- Kvas. Wikipedia (2016).  
<https://sl.wikipedia.org/wiki/Kvas> (25. maj 2016)
- Li S., Yoon I., Scott M., Khafipour E., Plaizier J.C. 2011. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product and subacute ruminal acidosis on production, inflammation, and fermentation in the rumen and hindgut of dairy cows. Animal Feed Science & Tehnology, 211: 50 – 60
- Live yeast supplements for cows. 2016. Richard Webster Nutrition Ltd.  
<http://www.rwn.org.uk/rwn-yeast-cow-supplement.htm> (18. maj 2016)
- Marčič Nahberger V. 2009. Živilska mikrobiologija in biotehnologija: 1. letnik. Del 1, Mikrobiologija: študijsko gradivo - živilska mikrobiologija. Maribor: Izobraževalni center Piramida, Višja strokovna šola.  
[http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/Datoteke/mikologija\\_skripta\\_biologi\\_1112.pdf](http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/Datoteke/mikologija_skripta_biologi_1112.pdf) (24. jul. 2016)
- Martin S.A. 1998. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids. Journal of Animal Science, 76: 3123–3132.  
<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/76/12/3123?search-result=1> (23. jun. 2016)
- Milkivit. 2016. Trouw nutrition Deutschland.  
<http://www.milkivit.de/milkivit/de/home.nsf/contentview/english> (26. mar 2016)
- Moss, A., Jouany, J. P., Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its

- contribution to global warming. *Hall archives-ouvertes*, 49: 230-253.  
<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00889894/document> (4. jul. 2016)
- Orešnik A., Lavrenčič A. 2013. Krave molznice, zdravstveno varstvo in reprodukcija. Ljubljana, Založba kmečki glas: 21 – 25 str.
- Organizem kot energijski sistem. 2009. *Dijaški net*. (3. avg. 2009).  
[http://www.dijaski.net/gradivo/bio\\_sno\\_celica\\_\\_presnova\\_01?r=1](http://www.dijaski.net/gradivo/bio_sno_celica__presnova_01?r=1) (27. maj 2016)
- Patra A. K. 2012. The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Academic Journals*, 7, 5: 366 – 375.  
<http://docsdrive.com/pdfs/academicjournals/ajava/2012/366-375.pdf> (5. maj 2016)
- Pivski kvas. 2016. Catania pro.  
<http://www.catania.si/trgovina/oznaka-izdelka/kvas/> (16. maj 2016)
- Pivski kvas ima dobre lastnosti za zdravje. 2012. *Bodi eko* (26. nov. 2012).  
<http://www.bodieko.si/dobre-lastnosti-pivskega-kvasa> (3. jul. 2016)
- Rajashree K., Muthukumar T. 2013. Selection of culture medium and conditions for the production of selenium enriched *Saccharomyces cerevisiae*. *African Journal of Biotechnology*, 12, 20: 2972-2977.  
<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/131297> (23. jun. 2016)
- Raval P. A., Devchand A. Sadrasaniya, Patel A. P., Joshi S., Chaudhary V. Patel S., Pandurang I., Rajgor B. B., Emmanuel N. 2013. Effect of probiotics supplementation on nutrient intake and feed conversion efficiency in lactating Kankrej cows. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 1, 1: 13-17.  
[http://rfppl.co.in/subscription/upload\\_pdf/Art.%203\\_978.pdf](http://rfppl.co.in/subscription/upload_pdf/Art.%203_978.pdf) (12. jun. 2016)
- Raw material Compendium.1992. A compilation of worldwide data sources, brewers yeast, 499 str.
- Redek, M. 2015. Zdravljenje acidoze vampa pri prežvekovalcih. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije. Kmetijsko gozdarski zavod Murska Sobota.  
[http://www.kgzs-ms.si/users\\_slike/metkab/ZED05/27Redek.pdf](http://www.kgzs-ms.si/users_slike/metkab/ZED05/27Redek.pdf) (18. jun. 2016)
- Rumen-Booster: Giving a production edge to high performing ruminants. 2016. *Britmilk*.  
<http://www.britmilk.co.uk/userfiles/files/Britmilk%20Rumen%20Booster%202014.pdf> (15. maj 2016)

Rumenco. 2016. Understanding feeding fermented versus live yeast.  
<http://www.rumenco.co.uk/story.html?news=87> (15. maj. 2016)

*Saccharomyces cerevisiae*. 2013. Wikipedia (28. mar. 2013).  
[https://sl.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces\\_cerevisiae](https://sl.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae) (7. jun. 2016)

The benefits of yeast in ruminant nutrition. 2010. All About Feed (8. dec. 2010).  
<http://www.allaboutfeed.net/Nutrition/Feed-Additives/2010/12/The-benefits-of-yeast-in-ruminant-nutrition-AAF005053W/> (25. maj 2016)

The effects of heat stress on metabolism and nutrition decisions. 2008. The Dairy Site (24. Nov . 2008).  
<http://www.thedairysite.com/articles/1575/the-effects-of-heat-stress-on-metabolism-and-nutrition-decisions/> (5. jun. 2016)

Throne M., Bach A., Ruiz–Moreno M., Stern M.D. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* in ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. *Livestock Science*, 124, 1-3: 261-265.  
[http://www.livestockscience.com/article/S1871-1413\(09\)00058-4/pdf](http://www.livestockscience.com/article/S1871-1413(09)00058-4/pdf) (25. maj 2016)

Torula. Wikipedia (2016).  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Torula> (29. jul. 2016)

Tripatni M. K., Karim S. A., Chaturvedi O. H., Verma D. L. 2008. Effect of different liquid cultures of live yeast strains on performance, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in lambs. 92, 6: 631 – 639.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0396.2007.00759.x/full> ( 14. sept. 2016)

Vasanthakumar P. 2013. Probiotics in nutrition and health of farm animals. Bonfring, 226-231 str.  
[http://www.conference.bonfring.org/papers/gandhigram\\_psf2013/plp01.pdf](http://www.conference.bonfring.org/papers/gandhigram_psf2013/plp01.pdf) (12.Jun. 2016)

Verbič J. 2015. Izpusti toplogrednih plinov v Slovenskem kmetijstvu. Prilaganje in blaženje učinkov podnebnih sprememb v kmetijskih ekosistemih v smeri izvajanja učinkovitih ukrepov. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije [kis.si/f/docs/Obvestila/3\\_Izpusti\\_toplogrednih\\_plinov\\_v\\_slovenskem\\_kmetijstvu.pdf](http://kis.si/f/docs/Obvestila/3_Izpusti_toplogrednih_plinov_v_slovenskem_kmetijstvu.pdf) (16. sept. 2016)

- Wallace J. 2016. The big quest: how does live yeast work in animal feed. All About Feed.  
<http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast-Special/The-big-quest-How-does-live-yeast-work-in-animal-feed/> (25. maj 2016)
- Williams P.E., Tait C.A., Innes G.M., Newbold C.J. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *Journal of Animal Science*, 69, 7: 3016-3026
- Xu, Liping. 2014. Yeast culture and Its application in feed. *Agricultural Science and Technology*, 15, 12: 2183-2186
- Yarrowia Equinox. 2016.  
<http://yarrowiaequinox.pl/en/art/315/o-nas.html> (24. jun. 2016)
- Yea-Sacc. 2016. Alltech.  
<http://www.alltech.com/animal-nutrition/beef-cattle/products> (23. Jun. 2016)
- Yeast. Wikipedia (2016).  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Yeast> (25. maj 2016)
- Yeast - A Treatise - Section I. 2001.  
[http://www.theartisan.net/The\\_Artisan\\_Yeast\\_Treatise\\_Section\\_One.htm](http://www.theartisan.net/The_Artisan_Yeast_Treatise_Section_One.htm) (25. Apr. 2016)
- Yeast Solutions. 2016. Richard Webster Nutrition Ltd.  
<http://www.rwn.org.uk/low-rumen-ph-acidosis-risk-grazing-grass-feeding-yeast.pdf>  
(12. maj 2016)
- Zalar P., Jančič S. Gunde- Cimerman N. 2012. Mikologija: Priročnik za vaje s teoretičnimi osnovami pri izbirnem predmetu za študente Biologije.  
[http://www.mizs.gov.si/fileadmin/mizs.gov.si/pageuploads/podrocje/vs/Gradiva\\_ESS/Implementum/IMPLETUM\\_378ZIVILSTVO\\_Zivilska\\_1\\_Nahberger.pdf](http://www.mizs.gov.si/fileadmin/mizs.gov.si/pageuploads/podrocje/vs/Gradiva_ESS/Implementum/IMPLETUM_378ZIVILSTVO_Zivilska_1_Nahberger.pdf)  
(24.7.2016)
- Zhu W., Zhang B. X., Yao K. Y., Yoon I., Chung Y. H., Wang J. K., Liu J. X. 2015. Effects of supplemental levels of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance in dairy cows under heat stress. *Asian – Australian Journal. of Animal Sciences (AJAS)*; 29, 6: 801-806.  
<http://www.ajas.info/journal/view.php?number=23360>



## **ZAHVALA**

Posebno zahvalo dajem mentorju dr. Andreju Lavrenčiču za strokovno pomoč, svoji družini za potrpežljivost med časom nastajanja diplomske naloge in mojim sodelavkam za vzpodbudo.

Zahvaljujem se tudi Ga. Knehtl Sabini za vso pomoč in vzpodbudo tekom študija.

Zahvala gre tudi Barbari V. in Janji K. za pomoč pri urejanju.