

# Utjecaj inhibitorске, mikrobiološke i analitike somatskih stanica na kvalitetu mlijeka u četiri najproizvodnije županije RH

---

Levak, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:023090>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**  
**PRERADA MLIJEKA**

Martina Levak

**UTJECAJ INHIBITORSKE, MIKROBIOLOŠKE I ANALITIKE**  
**SOMATSKIH STANICA NA KVALITETU MLIJEKA U**  
**ČETIRI NAJPROIZVODNIJE ŽUPANIJE RH**

Završni rad

**Karlovac, rujan 2016.**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**  
**PRERADA MLIJEKA**

Martina Levak

**UTJECAJ INHIBITORSKE, MIKROBIOLOŠKE I ANALITIKE**  
**SOMATSKIH STANICA NA KVALITETU MLIJEKA U**  
**ČETIRI NAJPROIZVODNIJE ŽUPANIJE RH**

Završni rad

**Mentor:** Vedran Slijepčević, dr. vet. med.

**JMBAG:** 0314613051

**Karlovac, rujan 2016.**

## SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je utvrditi kako se kretala kvaliteta mlijeka s obzirom na udio inhibitornih tvari, broj somatskih stanica i mikroorganizama u mlijeku, u razdoblju od 2005. do 2015. godine, u četiri županije koje su po količini proizvedenog mlijeka vodeće u Republici Hrvatskoj. Osim kvalitete mlijeka, navedeni parametri su pokazatelji higijenske ispravnosti mlijeka. U radu su na temelju analiza, provedenih u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka u Križevcima, a prema podacima iz baze podataka SLKM, prikazani rezultati i doneseni zaključci. Trenutna kvaliteta mlijeka u ove četiri županije na zadovoljavajućoj je razini, a prema posljednjim podacima Hrvatske poljoprivredne agencije iz 2015. godine, 95,9% ukupno analiziranog mlijeka u RH pripada I. razredu.

Analize su provođene na uzorcima mlijeka iz Osječko-baranjske, Bjelovarsko-bilogorske, Vukovarsko-srijemske i Koprivničko-križevačke županije.

**Ključne riječi:** inhibitorne tvari, mikroorganizmi, somatske stanice, Središnji laboratorij za kontrolu mlijeka, vodeće županije u proizvodnji mlijeka

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to explore how the quality of milk changed during the period since 2005. until 2015. considering the proportion of residues, somatic cell count and total number of microorganisms in milk. The same research included area of four counties which are, speaking in quantity, leading producers of milk in Croatia. Besides milk quality, listed parameters are indicators of hygienic safety of milk. Analysis were based on data guided by Central Laboratory for Milk Quality Control Križevci. The results of analysis are shown in this study. Currently, quality of milk in this four counties that were tested is at an acceptable level. Croatian Agricultural Agency gave the latest data in which is shown that the 95,9 percent of total milk in Croatia belongs to the „first class“.

Samples of milk for the analysis included milk from Osijek-Baranja, Bjelovar-Bilogora, Vukovar-Srijem and Koprivnica-Križevci county.

**Key words:** residues, microorganisms, somatic cells, Central Laboratory for Milk Quality Control, leading counties in milk production

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 1  |
| <b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....   | 3  |
| 2.1. Najčešće inhibitorne tvari u mlijeku .....                         | 3  |
| 2.1.1. Antibiotici .....  | 4  |
| 2.1.1.1. B-laktamski antibiotici .....                                  | 5  |
| 2.1.1.2. Aminoglikozidni antibiotici .....                              | 6  |
| 2.1.1.3. Makrolidni antibiotici .....                                   | 7  |
| 2.1.1.4. Peptidni antibiotici .....                                     | 8  |
| 2.1.1.5. Tetraciklinski antibiotici .....                               | 8  |
| 2.1.1.6. Kinoloni .....   | 9  |
| 2.1.2. Sulfonamidi .....  | 9  |
| 2.1.3. Pesticidi .....  | 10 |
| 2.1.4. Sredstva za čišćenje i dezinfekciju .....                        | 12 |
| 2.1.5. Metoda utvrđivanja prisustva inhibitornih tvari u mlijeku .....  | 14 |
| 2.2. Somatske stanice u mlijeku.....                                    | 15 |
| 2.2.1. Metoda određivanja broja somatskih stanica u mlijeku .....       | 17 |
| 2.3. Mikrobiološka ispravnost mlijeka .....                             | 18 |
| 2.3.1. Metoda određivanja ukupnog broja mikroorganizama u mlijeku ..... | 19 |
| 2.4. Vodeće županije RH po proizvodnji mlijeka.....                     | 20 |
| 2.4.1. Osječko-baranjska županija .....                                 | 23 |
| 2.4.2. Bjelovarsko-bilogorska županija.....                             | 24 |
| 2.4.3. Vukovarsko-srijemska županija .....                              | 25 |
| 2.4.4. Koprivničko-križevačka županija .....                            | 26 |
| <b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....                                      | 28 |
| 3.1. Metode rada .....  | 28 |
| <b>4. REZULTATI</b> .....   | 29 |
| 4.1. Tabela prikaz rezultata .....                                      | 29 |

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| 4.2. Grafički prikaz rezultata ..... | 31        |
| <b>5. RASPRAVA</b> .....             | <b>33</b> |
| <b>6. ZAKLJUČAK</b> .....            | <b>35</b> |
| <b>7. LITERATURA</b> .....           | <b>36</b> |
| <b>8. POPIS PRILOGA</b> .....        | <b>39</b> |



# 1. UVOD

Već su od davnih vremena ljudi prepoznali mlijeko kao jednu od osnovnih živežnih namirnica, a kao takva održala se do danas. Mlijeko ne samo da ima veliku energetska vrijednost, već i organizmu osigurava pojedine zaštitne tvari. Stoga je razumljivo i nužno da mlijeko mora udovoljavati određenim standardima kakvoće, a prije svega zdravstvene ispravnosti.

Kvalitetu mlijeka, osim fizikalno-kemijskih osobina i prisustva inhibitornih tvari, određuje i higijenska ispravnost. Osnovni kriteriji higijenske i zdravstvene ispravnosti mlijeka su ukupan broj mikroorganizama te broj somatskih stanica.

Mikrobiološka ispravnost mlijeka važan je pokazatelj njegove kakvoće, higijenske ispravnosti te pogodnosti za preradu. Do donošenja Pravilnika o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00) mikrobiološka ispravnost mlijeka u Republici Hrvatskoj nije bila normativno regulirana. Ovim Pravilnikom mlijeko je, prema ukupnom broju mikroorganizama, svrstano u četiri razreda kakvoće i to je jedan od kriterija prema kojem se formira osnovna cijena mlijeka.

Somatske stanice prirodni su sastojak mlijeka te osnovni i međunarodno priznati pokazatelj zdravlja vimen. Kako bi se poboljšala kvaliteta mlijeka i omogućila njegova prerada u kvalitetne proizvode, Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00) propisano je da sirovo mlijeko ne smije sadržavati više od 400 000 stanica/ml. Mlijeko zdravih krava sadrži manje od 200 000 stanica/ml, a ono bolesnih može sadržavati i nekoliko milijuna. Povećani broj somatskih stanica u mlijeku najčešće je posljedica upale mliječne žlijezde - mastitisa.

Pojavom antibiotika u liječenju bolesti krava, pretežno mastitisa, pojavili su se i brojni problemi. Opće je poznato da kod bilo kakvog liječenja mora proći određeno razdoblje – karenca, nakon kojeg proizvod postaje siguran za ljudsku konzumaciju. Međutim, zbog što veće želje proizvođača za zaradom i dobiti, postoji niz onih koji i za vrijeme liječenja životinja mlijeko isporučuju mljekarama. Takvi postupci ne samo da utječu na kvalitetu mlijeka kao osnovne i polazne sirovine, već i značajno ugrožavaju zdravlje ljudi. Osim antibiotika, od inhibitornih tvari u mlijeku se mogu pojaviti još i sulfonamidi, pesticidi te zaostaci sredstava za čišćenje ili dezinfekciju.

Cilj ovog rada je utvrditi kako se kretao broj mikroorganizama, somatskih stanica te udio utvrđenih rezidua u uzorcima mlijeka tijekom posljednjih 10 godina, otkako su se analize počele raditi, odnosno od početka rada Središnjeg laboratorija za kontrolu mlijeka u Križevcima u kojem su analize i rađene. Podaci su preuzeti iz godišnjih izvješća i baze podataka HPA, za četiri županije RH koje su po količini proizvedenog mlijeka, prema posljednjim podacima, vodeće u Hrvatskoj. Budući da čine 68,36% ukupno proizvedene količine mlijeka u Hrvatskoj, upravo je proizvodnja i kvaliteta mlijeka u te četiri županije predmet ovog rada.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. NAJČEŠĆE INHIBITORNE TVARI U MLIJEKU

Inhibitori (lat. *inhibere* = zadržati, priječiti) su u biokemijskom smislu tvari koje usporavaju enzimsku reakciju. Pod pojmom *inhibitorne tvari u mlijeku* smatraju se tvari bakteriostatskog ili baktericidnog djelovanja koje se mogu povremeno naći u mlijeku, a međusobno se razlikuju kako po svom sastavu, tako i po porijeklu. Te tvari mogu biti prirodno prisutni sastojci mlijeka koji potječu iz tijela muzne životinje, ali mogu dospjeti u mlijeko iz vanjske sredine u bilo kojem dijelu proizvodnog lanca. Prirodni su inhibitori tvari vlastitog organizma životinje kao i tvari koje pasivnim ili aktivnim putem dopiju u životinjski organizam. Inhibitori iz okoline su pak tvari koje se ili namjerno dodaju u mlijeko (poput konzervansa), ili zaostaju nakon pranja i dezinfekcije vimena krava.

Najznačajniji inhibitori koji se pojavljuju u mlijeku su:

1. Antibiotici
2. Sulfonamidi
3. Pesticidi
4. Sredstva za čišćenje i dezinfekciju

Od prirodno prisutnih inhibitora u mlijeku se mogu pojaviti mikotoksini koji potječu od plijesni, odnosno enterotoksini porijeklom od bakterija (najčešće *Staphylococcus aureus*). Mikotoksini su izrazito toksične tvari koje nastaju u hrani za životinje uslijed neadekvatnih uvjeta skladištenja. Konzumacijom takve hrane kod životinja se javljaju mikotoksikoze, odnosno oboljenja nastala djelovanjem mikotoksina. Njihovo štetno djelovanje na organizam sisavaca očituje se estrogenim učinkom, kancerogenošću, mutagenošću i teratogenošću (Anonymus, 2013.). Najpoznatija skupina mikotoksina u mlijeku su aflatoksini, no postoji još i niz drugih kao što su zeralenon, ergot, ohratoksin i drugi. Neki od njih su termolabilni pa se uništavaju djelovanjem topline, no neki poput aflatoksina preživljavaju toplinsku obradu i mogu se prenijeti i na mliječne proizvode. Neka ispitivanja pokazala su da se tek 1 – 2% unesenog aflatoksina B1 izluči mlijekom, no taj postotak može značajno varirati ovisno o zdravlju životinje, mliječnosti, hranidbi, metabolizmu.

### 2.1.1. Antibiotici

Najveći značaj među inhibitornim tvarima koje se pojavljuju u mlijeku imaju nesumnjivo lijekovi, i to prvenstveno antibiotici, jer se oni najčešće upotrebljavaju u liječenju i sprečavanju upala vimena (mastitis) (Bach, 1970.).

Antibiotici su specifični proizvodi mikrobnog metabolizma koji imaju visoku fiziološku aktivnost prema određenim grupama mikroorganizama (bakterije, plijesni, protozoe, virusi) ili zloćudnih tumora, sprječavajući im rast ili uništavajući ih (Makovec i sur., 2014.). Mogu biti prirodnog (dobiveni mikrobnom biosintezom) te sintetskog ili polusintetskog porijekla (nastali kemijskom modifikacijom).

Antibiotici djeluju na mikroorganizme u mlijeku bilo sprečavanjem proizvodnje mliječne kiseline, bilo zaustavljanjem rasta mikroorganizama (Petričić, 1962.). S obzirom na mjesto djelovanja u stanici mikroorganizama, antibiotici se mogu podijeliti u slijedeće skupine:

- Antibiotici inhibitori stanične stijenke – uzrokuju lizu stanice na način da onemogućuju umrežavanje peptidoglikanskog sloja stanične stijenke. U ovu skupinu ubrajaju se penicilini, cefalosporini, cikloserin, bacitracin.
- Antibiotici inhibitori biosinteze proteina – sprječavaju očitavanje aminokiselina te sintezu peptida sa mRNA u ribosomima. Primjer su antibiotici širokog spektra djelovanja (streptomycin, kloramfenikol, tetraciklini).
- Antibiotici koji se vežu na citoplazminu membranu – onemogućuju barijernu funkciju citoplazmatske membrane čime uzrokuju nekontroliran prolaz otopljenih molekula u stanicu i iz stanice. Takav mehanizam posjeduju polipeptidni antibiotici poput bacitracina, polimiksina, nisina.
- Antibiotici inhibitori funkcije DNA – onemogućuju sintezu nukleozida, replikaciju DNA i transkripciju mRNA na DNA kalupu (Makovec i sur., 2014.). To su primjerice aktinomycin, bleomicin, daunomicin.

Antibiotici se u tijelo životinje mogu aplicirati lokalno (intramamarno), parenteralno ili oralno, a brojna istraživanja pokazala su da u mlijeko prelaze kod parenteralnog davanja većih doza. Antibiotici se najčešće izlučuju iz organizma mlijekom nakon intramamarne aplikacije lijeka kod liječenja upale mliječne žlijezde (Pintiće i sur., 2006.). Količina antibiotika koja se iz krvi životinje može izlučiti u mlijeko ovisi o nizu faktora; vrsti i količini primjenjenog

sredstva, mjestu i načinu primjene, stadiju laktacije, eventualnim promjenama žlijezdanog tkiva vimena muznih životinja. Neka istraživanja pokazala su također da se kod intramamarne primjene određena količina antibiotika izlučuje i iz neliječenih četvrti vimena. Doduše, te su količine znatno manje od onih iz liječenih četvrti, međutim također mogu imati utjecaja na zdravlje potrošača.

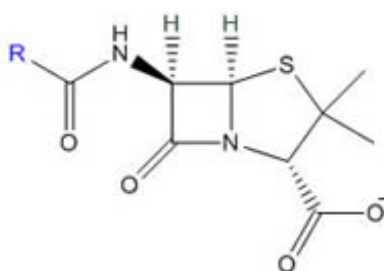
Zbog široke primjene antibiotika, velik je broj bakterija animalnog, ali i humanog porijekla, razvio rezistenciju i tako postao otporan na velik broj dosad korištenih antibiotika. Bakterije rezistentne na širok spektar antibiotika, klasificirane kao MDR (eng. „multidrugresistant“) bitno ograničavaju izbor načina liječenja pacijenata, a time i uspješnu terapiju (Makovec i sur., 2014.). Mehanizmi antibiotske rezistencije mogu biti različiti. Najrašireniji su mehanizmi direktna enzimska inaktivacija molekule antibiotika te modifikacija konkretnog mjesta djelovanja. Također, može doći do promjene propusnosti vanjske membrane ili promjene inhibiranog metaboličkog puta (eng. *by-passing*). Međutim, zbog velike bioraznolikosti bakterijskih vrsta, svaka pojedina vrsta može razviti svoj vlastiti mehanizam što opet ovisi o strukturi antibiotika, mjestu djelovanja te genetskim promjenama u bakterijskoj stanici.

Konstantno unošenje antibiotika u ljudski organizam mlijekom osobito je opasno zbog njihove direktne toksičnosti, odnosno kancerogenosti, mogućeg utjecaja na sastav crijevne mikroflore, mogućih alergijskih reakcija kod senzibiliziranih ljudi te pojave otpornosti pojedinih patogenih mikroorganizama.

#### **2.1.1.1. $\beta$ -laktamski antibiotici**

Beta-laktamski antibiotici dobili su naziv po tome što u svom sastavu sadrže jedinstveni četveročlani  $\beta$ -laktamski prsten koji je sastavni dio njihove strukture. Zbog svoje relativno niske toksičnosti i visoke djelotvornosti,  $\beta$ -laktamski antibiotici su najčešće upotrebljavani antibiotici u kliničkoj praksi (Andrašević i sur., 2009.). Koriste se najčešće u liječenju infekcija mokraćnog sustava (IMS) te infekcija probavnog sustava uzrokovanih enterobakterijama.

Ovoj skupini antibiotika pripadaju penicilini, cefalosporini, karabapenemi i monobaktamini. Njihov je osnovni mehanizam djelovanja inhibicija sinteze stanične stijenke bakterija. Točnije, ometaju razvoj stanične stijenke bakterija na način da inhibiraju aktivnost peptidoglikanskog enzima transpeptidaze koji omogućuje umrežavanje uzdužnih peptidoglikanskih niti. Time je, dakle, povezivanje niti spriječeno i stvaraju se osjetljiva mjesta u peptidoglikanskoj rešetci uslijed čega se bakterija nepravilno izduži i prsne.



**Slika 1.** Osnovna struktura penicilina

(Izvor: <http://pharmafactz.com/medicinal-chemistry-of-beta-lactam-antibiotics/>)

Slika 1 prikazuje osnovnu strukturu penicilina. Penicilini su jedni od najpoznatijih i najvažnijih antibiotika iz ove skupine. Po kemijskom su sastavu slabe organske kiseline, netopljive u vodi. Derivati su 6-aminopenicilanske kiseline koja sadrži dva prstena –  $\beta$ -laktamski i tiazolidinski prsten.  $\beta$ -laktamski prsten nosi sekundarnu amino skupinu, dok je tiazolidinski prsten nosioc karboksilne skupine.

### 2.1.1.2. Aminoglikozidni antibiotici

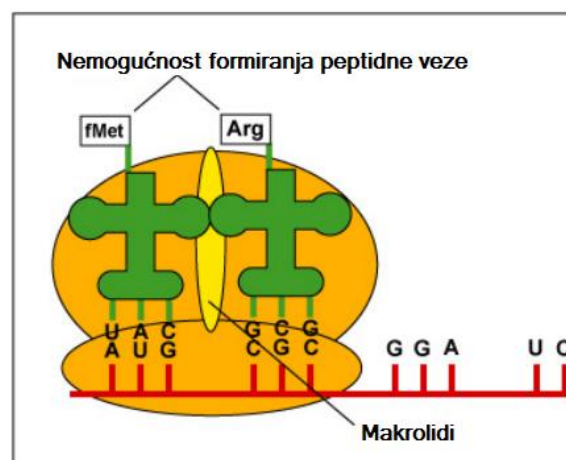
Aminoglikozidi su hidrofilni, polikationski ugljikohidrati koji sadrže amino skupinu. Većina aminoglikozida prirodni su produkti metabolizma aktinomiceta ili njihovi derivati (Anonymus, 2010.). Struktura aminoglikozida je tri- ili tetrasaharidna, a sastavljena je od streptamina ili nekog njegovog derivata na koji su vezana 3 ili 4 aminošećerna ostatka. Aminoglikozidi se međusobno razlikuju s obzirom na broj i vrstu aminošećera.

Najpoznatiji predstavnici aminoglikozidnih antibiotika su gentamicin, streptomycin, amikacin, tobramicin, netilmicin i neomicin. Svi su oni međusobno slični po načinu djelovanja, farmakokinetičkim svojstvima i toksičnosti. Ciljno mjesto djelovanja aminoglikozida je bakterijski ribosom, odnosno ribosomska podjedinica 30S. Prvi korak u tom mehanizmu je prodiranje aminoglikozida kroz staničnu stijenku. U stijenci se vežu za anionske komponente i prelaze u unutrašnjost stanice uz utrošak energije. Zatim se vežu na A-mjesto ribosoma i uzrokuju konformacijske promjene čime se povećava vjerojatnost ugradnje pogrešne aminokiseline što onda dovodi do sinteze pogrešnog proteina i smrti stanice. Ovi se procesi puno uspješnije odvijaju u aerobnim uvjetima.

Djelovanje aminoglikozida je baktericidno, no imaju i postantibiotički učinak jer se inhibicija rasta bakterija nastavlja i nakon uklanjanja antibiotika iz bakterijske mikrookoline. Najrašireniju primjenu imaju protiv gram-negativnih bakterija i sepse.

### 2.1.1.3. Makrolidni antibiotici

Ova je skupina antibiotika sastavljena od 11 – 19 ugljikovih atoma te laktorskog prstena na koji su vezani šećeri. Antibiotici su širokog spektra djelovanja vrlo sličnog djelovanju penicilina, a upotrebljavaju se za liječenje kroničnih upalnih bolesti.



**Slika 2.** Mehanizam djelovanja makrolidnih antibiotika

(Izvor: <http://www.jelena-suran.com/predavanja/Makrolidi.pdf>)

Slika 2 prikazuje mehanizam djelovanja makrolida. Djeluju na način da inhibiraju sintezu proteina na bakterijskoj 50S podjedinici ribosoma. Budući da sprječavaju aktivnost enzima peptidil-transferaze koji je odgovoran za povezivanje aminokiselina peptidnim vezama, dolazi do nemogućnosti sinteze bakterijskih proteina te do smrti bakterijske stanice.

Učinak makrolidnih antibiotika može biti bakteriostatski i baktericidni, ovisno o tome u kojoj su koncentraciji prisutni. Od predstavnika su najpoznatiji eritromicin, klaritomicin i azitromicin.

#### **2.1.1.4. Peptidni antibiotici**

Zbog sve veće otpornosti bakterija prema postojećim antibioticima, znanost pokušava pronaći nove, djelotvorne supstance sa novim načinom djelovanja. Peptidi su kemijski spojevi koji nastaju povezivanjem dviju ili više aminokiselina peptidnim vezama. Peptidni antibiotici su male bjelančevine koje, osim uništavanja bakterijskih stanica, imaju još i korisno svojstvo niske toksičnosti za ljudske stanice. Njihov mehanizam djelovanja još uvijek nije do kraja razjašnjen, međutim poznato je da uslijed interakcije peptida s lipidnom membranom dolazi do povećanja propusnosti membrane, a time i do uništenja bakterijske stanice.

Najpoznatiji je predstavnik ove skupine antibiotika bacitracin, ciklički peptidni antibiotik koji zaustavlja prolazak lipidnog nosača koji provodi vodotopljivu peptidoglikansku subjedinicu kroz staničnu membranu na njenu površinu. Subjedince stanične stijenke nagomilavaju se u citoplazmi i ne mogu se vezati za rastući peptidoglikanski lanac.

#### **2.1.1.5. Tetraciklinski antibiotici**

Tetraciklinski antibiotici su proizvodi sekundarnog metabolizma bakterija roda *Streptomyces* (Makovec i sur., 2014.). Po kemijskom su sastavu aromatski poliketidi, dobro topljivi u vodi, žute boje, kristalne strukture, izrazito širokog spektra djelovanja na mnoge gram-pozitivne i gram-negativne bakterije. Difuzijom i aktivnim transportom ulaze u bakterijsku stanicu i



djeluju na nju u fazi biosinteze proteina. Vežu se na 30S podjedinicu ribosoma i onemogućuju vezanje aminoacil-tRNA na akceptorsko mjesto, a time se onemogućuje produljenje peptidnog lanca.

Do danas je poznato preko 30 različitih tetracilinskih antibiotika. Najpoznatiji predstavnici su klortetraciklin, oksitetraciklin, tetraciklin i doksiciklin.

#### **2.1.1.6. Kinoloni**

Kinoloni su grupa sintetskih antimikrobnih agenasa koji pripadaju nafthidrinskoj skupini. Prvi predstavnik kinolona je nalidiksična kiselina koja slabo prodire u tkivo i uzrokuje probavne smetnje, a korištena je za liječenje infekcija mokraćnog sustava. Kasnije su otkriveni novi, snažniji fluorirani kinoloni sa puno širim spektrom djelovanja.

S obzirom na antimikrobni učinak, kinoloni se mogu podijeliti u 4 skupine:

1. Kinoloni prve generacije (nalidiksična i pipemidinska kiselina te cinoksacin) koji se u današnje vrijeme rijetko koriste.
2. Kinoloni druge generacije (norfloksacin, ofloksacin i ciprofloksacin) proširenog djelovanja na gram-negativne bakterije.
3. Kinoloni treće generacije (levofloksacin, sparfloksacin, gatifloksacin).
4. Kinoloni četvrte generacije (trovafloksacin, moksifloksacin) koji djeluju na anaerobe.

Kinoni djeluju na način da inhibiraju bakterijske enzime topoizomeraze, točnije topoizomerazu II i IV. Stvarajući nepovratne veze između topoizomeraze II i DNA, dovode do prekida umnožavanja DNA.

#### **2.1.2. Sulfonamidi**

Sulfonamidi su derivati sulfanilne ili benzensulfonske kiseline. Struktura sulfonamida prilično je slična strukturi para-aminobenzojeve kiseline koja je sastavni dio folne kiseline, faktora rasta mikroorganizama (Anonymus, 2012.). Zbog izrazito velike sličnosti, sulfonamidi se

moгу ubaciti na enzimsko mjesto PABA-e i tako bakterijska stanica ostaje bez folne kiseline potrebne za rast te dolazi do njenog ugibanja.

Slično kao i antibiotici širokoga spektra, sulfonamidi djeluju na velik broj gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija (zaraza streptokokima, stafilokokima, pneumokokima, meningokokima, gonokokima i enterokokima,...). Prema farmakokinetičkim svojstvima razlikujemo: sulfonamide koji se slabo upijaju iz crijeva i primjenjuje se kod crijevnih zaraza, sulfonamide opće namjene, sulfonamide s produljenim djelovanjem, sulfonamide vrlo dugog djelovanja te sulfonamide za posebne namjene.

Sulfonamidi se koriste kao aditivi u krmivima, a značajnu ulogu imaju u tretiranju bakterijskih bolesti, ponajprije mastitisa, intestinalnih infekcija te upale pluća (Kaša, 2004.). Primjenom sulfonamida (lokalno, parenteralno i oralno) u liječenju mastitisa, moguć je njihov prelazak u mlijeko i kod većih koncentracija mogu inhibitorno djelovati na bakterije mliječne kiseline. Dok su čiste kulture bakterija mliječne kiseline relativno otporne prema djelovanju sulfonamida, mješovite kulture su osjetljive. Kod oralne i intravenozne primjene izlučivanje sulfonamida u mlijeko prestaje nakon 48 sati, a kod lokalne 24 sata nakon primjene lijeka.

Međutim, zbog izrazito toksičnog učinka, sulfonamide sve više zamjenjuju netoksični antibiotici.

### **2.1.3. Pesticidi**

Pesticidi su kemijska i mikrobiološka sredstva koja se upotrebljavaju za suzbijanje uzročnika biljnih bolesti, štetnih insekata, grinja, stonoga, puževa, nematoda i glodavaca, za suzbijanje korova ili za reguliranje rasta biljaka (Zdolec i sur., 2006).

S obzirom na njihovu namjenu, općenito se pesticidi mogu podijeliti u nekoliko osnovnih skupina:

- Insekticidi – suzbijanje insekata
- Herbicidi – suzbijanje korova i ostalih nepoželjnih biljnih vrsta
- Fungicidi – suzbijanje gljivica
- Akaricidi – suzbijanje grinja

- Rodenticidi – suzbijanje glodavaca
- Nematocidi – suzbijanje glista
- Limacidi – suzbijanje puževa

Skupina pesticida koja se najčešće pojavljuje u mlijeku i mliječnim proizvodima su insekticidi – sredstva za suzbijanje insekata. Poznato je da kod primjene u zaštiti biljaka izvjesna količina tih sredstava zaostaje na biljkama koje će se kasnije koristiti za hranidbu životinja. Tako se hranom insekticidi unose u životinjski organizam gdje pokazuju toksičan učinak koji se očituje putem kroničnih promjena. Takve promjene dovode do oslabljenja obrambene snage, a životinjska otpornost prema drugim bolestima postaje sve slabija.

Insekticidi se izlučuju mlijekom u kojem se vežu za mliječnu mast pa se tako mogu pronaći u mliječnim proizvodima sa većim udjelom masti kao što su maslac, sirevi i slično. Stoga je veoma bitno da se prilikom korištenja tih sredstava poštuju upute proizvođača o načinu primjene, doziranju te o vremenu koje mora proći od tretiranja biljaka do hranidbe životinja istima.

Također, pesticidi se razlikuju s obzirom na kemijski sastav i kao takve ih možemo podijeliti na neorganske tvari (potječu iz biljaka, bakterija i gljiva) te organske sintetske tvari (organoklorirani pesticidi, organofosforni pesticidi, triazini, derivati fenoksiugljične kiseline, piretroidi i dr.). Organoklorni pesticidi su zbog svog toksičnog, kancerogenog, mutagenog i teratogenog učinka zakonski zabranjeni. Najpoznatiji je predstavnik ove skupine DDT – dikloro-difenil-trikloretan koji je razvijen nakon Drugog svjetskog rata, a bio je vrlo učinkovito sredstvo za suzbijanje komaraca. Početkom 70.-ih godina njegova je upotreba zabranjena, no zbog njegove postojanosti i dugog vremena poluraspada, njegovi se metaboliti i danas mogu naći u masnoćama životinjskog porijekla (mlijeko, maslac, vrhnje, itd.).

Najviša dozvoljena količina (NDK) pesticida u mlijeku i mliječnim proizvodima, za ukupno 91 pesticid, propisana je u Pravilniku o količinama pesticida, toksina, mikotoksina, metala i histamina i sličnih tvari koje se mogu nalaziti u namirnicama, te o drugim uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti namirnica i predmeta opće uporabe (NN 60/92). NDK se izražava u mg/kg na ukupnu masu mlijeka. U Tablici 1 prikazane su NDK pojedinih pesticida u mlijeku i mliječnim proizvodima. Tako je primjerice najveća dozvoljena količina DDT-a i njegovih metabolita u mlijeku 0,04 mg/kg.

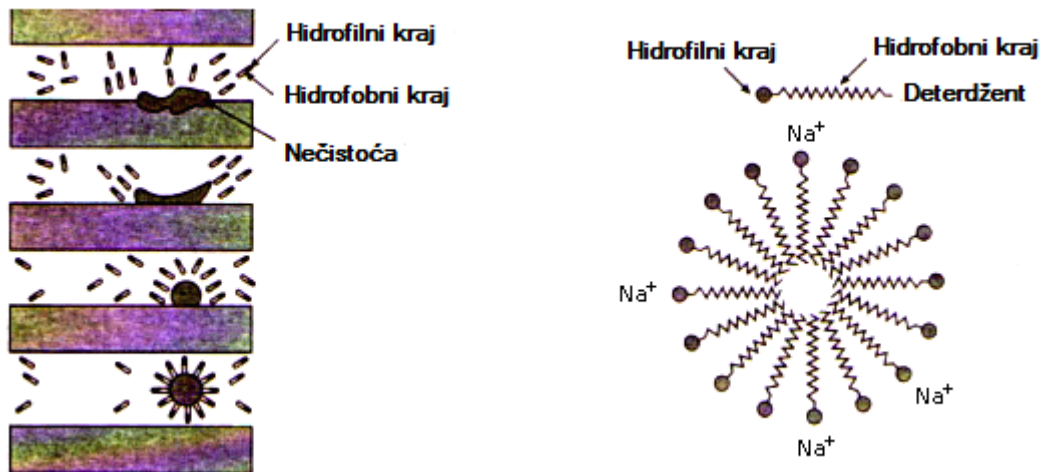
**Tablica 1.** Najviše dozvoljene količine nekih pesticida u mlijeku i mliječnim proizvodima (Pravilnik o količinama pesticida, toksina, mikotoksina, metala i histamina i sličnih tvari koje se mogu nalaziti u namirnicama, te o drugim uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti namirnica i predmeta opće uporabe, NN 60/92)

| Generički naziv pesticida | Najviša dozvoljena količina [mg/kg] |
|---------------------------|-------------------------------------|
| Acetoklor                 | 0,05                                |
| Aldrin                    | 0,006                               |
| DDT i metaboliti          | 0,04                                |
| Dimetipin                 | 0,02                                |
| Heksaklorbenzen           | 0,01                                |
| Heptaklor                 | 0,004                               |
| Lindan                    | 0,008                               |
| Triklorfon                | 0,05                                |

#### 2.1.4. Sredstva za čišćenje i dezinfekciju

Suvremena higijenska proizvodnja mlijeka zahtijeva stalno čišćenje, sanitizaciju i dezinfekciju pribora, uređaja i prostorija u pogonima za obradu i preradu mlijeka (Milohnoja, 1971.). Također, veoma je bitno prije same mužnje dobro očistiti i dezinficirati vime kako bi se spriječio prelazak nepoželjnih mikroorganizama sa površine vimena u mlijeko. Međutim, prije samog pranja, potrebno je prvih nekoliko mlazova mlijeka izmisti u zasebnu posudicu, budući da oni sadržavaju najveći broj bakterija i prilikom pranja mogli bi samo još dublje ući u sisu.

Dezinficijensi su kemijska sredstva koja se upotrebljavaju radi uništavanja ili redukcije broja prisutnih mikroorganizama. Njihov je mehanizam djelovanja sličan djelovanju antibiotika, a uzrokuju hidrolitičku razgradnju peptidoglikanske strukture stanične stijenke bakterija. Deterdženti su pak površinski aktivne tvari koje smanjuju površinsku napetost, a sastoje se od hidrofilnog i hidrofobnog dijela. Mehanizam djelovanja deterdženata prikazuje Slika 3. Hidrofilni je dio topljiv u vodi te se prilikom pranja okreće prema vodi, dok se hidrofobni dio okreće prema masnim mrljama uklanjajući ih pritom.



**Slika 3.** Mehanizam djelovanja deterdženata

(Izvor: <https://www.freeshiksha.com/questions/3914/explain-the-mechanism-of-the-cleaning-action-of-soaps>)

Sredstva koja se upotrebljavaju za čišćenje i dezinfekciju u mljekarstvu najčešće su na bazi slijedećih spojeva:

- Klor – u kombinaciji sa aktivnim klorom, sredstva koja sadržavaju hipoklorite i kloramine djeluju baktericidno te se u kontaktu sa mlijekom brzo otapaju. Pritom tvore ione koji su neaktivni pa zato ne djeluju štetno na zdravlje ljudi.
- Kvarternih amonijevih spojeva koji su veoma djelotvorna dezinfekcijska sredstva. To su površinski aktivni kationski spojevi koji su prilično stabilni u mlijeku, a kod njihove pravilne upotrebe ne postoji opasnost od trovanja ili nekog drugog štetnog učinka.
- Amfolitnih sapuna koji također imaju baktericidni učinak i veliku sposobnost stvaranja pjene.

Kod pravilne upotrebe deterdženata i dezinficijensa, njihovo se prisustvo u mlijeku može očekivati samo u tragovima. Izostanak kiseljenja mlijeka ili vrhnja zbog prevelikih zaostataka sredstava za čišćenje i dezinficijensa može se pripisati samo hotimičnom dodavanju ili gruboj nepažnji u primjeni tih sredstava (Bach, 1970.). Stoga je veoma bitno da se ta sredstva upotrebljavaju u propisanim i dozvoljenim količinama.

### 2.1.5. Metoda utvrđivanja prisustva inhibitornih tvari u mlijeku

Standardni difuzijski test kojim se utvrđuje prisustvo antibakterijskih tvari u mlijeku jest Delvotest SP NT. Osnovni princip ove metode je taj da se uzorci mlijeka pipetiraju na pločicu sa hranjivom podlogom koja sadrži 96 jažica, inkubiraju se te se nakon toga, prema dobivenoj boji, utvrđuje sadrži li koji od uzoraka inhibitorne tvari. Agar testa sadrži mikroorganizme *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*, hranjiva potrebna za rast i pH osjetljivi bromocresol purple (Blažek, 2015.).

Sama analiza odvija se na uređaju, odnosno stanici za pipetiranje koja je u Laboratoriju označena oznakom BP1. To je uređaj koji dozira mlijeko na pločice sa hranjivom podlogom, a sastoji se od četiri pipete koje istovremeno pipetiraju četiri različita uzorka i doziraju ih na pločicu sa hranjivom podlogom. Volumen uzorka koji se pipetira iznosi 0,1 ml.

Prije početka analize, uzorci se čuvaju u hladnjači na +4°C. Tako ohlađeni uzorci kolicima se dopremaju do pipetne stanice. Svi se uzorci prije pipetiranja vizualno pregledavaju kako bi se utvrdilo da su ispravni. Neispravni su uzorci oni koji su primjerice kiseli, bez bar kod naljepnice, predatnice, sadrže konzervans i slično. Zatim se stavljaju u round magazin na pipetnoj stanici, a prije samog stavljanja, potrebno ih je nekoliko puta okrenuti kako bi se ručno promiješali.

Nakon što se uzorci napipetiraju na pločicu, vrši se ručno pipetiranje pozitiv i negativ kontrole. Pipetiranje započinje negativ kontrolom koja se stavlja u prva četiri otvora, dok se u slijedeća četiri dozira pozitiv kontrola. Svrha primjene pozitiv i negativ kontrole je da se, prema dobivenoj boji, utvrdi i kontrolira ispravnost same pločice.

Pločica se nakon pipetiranja prekriva ljepljivom folijom i kao takva stavlja u inkubator na temperaturu od  $+64 \pm 2^{\circ}\text{C}$  te se inkubira 2 sata i 45 minuta do maksimalno 3 sata.

Kad je inkubacija završena, očitavaju se rezultati. Očitavanje započinje očitavanjem uzoraka negativne kontrole, potom pozitivne kontrole te se vizualno provjerava je li došlo do promjene boje.



**Slika 4.** Inkubacijska pločica

(Izvor: autor rada)

Na Slici 4 prikazano je kako izgleda inkubacijska pločica nakon inkubacije. Na prva četiri mjesta nalazi se pozitiv, a na slijedeća četiri negativ kontrola. Ukoliko se boja ne promijeni i ostane ljubičasta, znači da je uzorak pozitivan na prisustvo inhibitora. U suprotnom, ako je boja prešla iz ljubičaste u žutu, uzorak ne sadrži inhibitorne tvari. Konkretno, iz ove inkubacijske pločice vidljivo je da niti jedan uzorak nije pozitivan na inhibitore.

## **2.2. SOMATSKE STANICE U MLIJEKU**

Somatske stanice (SS) u mlijeku su tjelesne stanice mliječne žlijezde (vimena), a kombinacija su leukocita (bijele krvne stanice) i epitelnih stanica (odumrle stanice mliječnih puteva). Leukociti čine 80% (makrofagi 30%, neutrofili 25% te limfociti 25%), dok na epitelne stanice vimena otpada 20%.

BSS (broj somatskih stanica) u mlijeku varira zbog utjecaja različitih genetskih i okolišnih čimbenika (Čačić i sur., 2003.). U mlijeku zdravih životinja njihov broj se kreće između 50

000 i 200 000 stanica/ml, a sve vrijednosti veće od navedenih upućuju na poremećaj u sekreciji mlijeka, odnosno na upalu vimena. Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00) propisana je gornja granica od 400 000 stanica/ml. Navedena vrijednost nije gornja fiziološka vrijednost somatskih stanica u mlijeku iz zdravog vimena, već ona proizlazi iz mljekarsko-tehničkih i ekonomsko-političkih razloga (Havranek, 2003.).

Postoji niz čimbenika koji utječu na broj somatskih stanica u mlijeku. Najveći utjecaj imaju zapravo okolišni čimbenici, a na mnoge od njih može utjecati i sam proizvođač. Od okolišnih čimbenika najznačajniji su:

- Status infekcije vimena
- Dob muzare
- Pasma
- Stadij laktacije
- Redoslijed laktacije
- Način držanja
- Geografsko područje i godišnje doba
- Veličina stada
- Stres
- Pretjerana fizička aktivnost
- Mužnja

Povećan BSS u mlijeku najčešće je povezan sa upalom vimena – mastitisom. Mastitis je izrazito složena, a ujedno i najskuplja bolest mliječnih krava. Dva su oblika mastitisa. Prvi je subklinički oblik koji je ujedno i puno opasniji budući da nema vidljivih simptoma. Drugi je oblik klinički mastitis koji se očituje jasno izraženim promjenama na vimenu kao i organoleptičkim promjenama mlijeka. Da je subklinički mastitis puno češći pokazuju i činjenice da od ukupnog broja upala on čini 90-95%, dok klinički čini svega 5-10%. Jedini vidljivi simptom subkliničkog mastitisa je povećani broj somatskih stanica u mlijeku, a ukoliko se pravovremeno ne liječi, najčešće dovodi do nastanka kliničkih upala. U skrivene – subkliničke upale vimena ubrajamo poremećaj sekrecije, latentne infekcije i kronične kataralne upale, a u klinički vidljive: akutne kataralne upale, akutne žljezdane (parenhimatozne) upale i gnojne upale (Havranek, 2003.). Najčešći uzročnici mastitisa su mikroorganizmi, prije svega bakterije (95%), koji u vime mogu ući preko sisnog kanala (najčešće), povreda na koži te krvlju.



Broj somatskih stanica u mlijeku prvenstveno je pokazatelj zdravstvene ispravnosti mlijeka, ali i opći indikator zdravstvenog stanja vimena. Osim toga, mjerilo je kvalitete mlijeka pa se tako u stočarski razvijenim zemljama, i u Hrvatskoj također, na osnovi broja somatskih stanica uz još tri parametra (količine mliječne masti, bjelančevina i bakterija) formira osnovna cijena mlijeka. Brojna istraživanja potvrđuju da se povećan broj somatskih stanica izravno odražava na kemijska, fizikalna, bakteriološka i tehnološka svojstva mlijeka (Samaržija, 1991.).

### **2.2.1. Metoda određivanja broja somatskih stanica u mlijeku**

Uređaji koji se koriste za određivanje BSS u mlijeku u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka jesu Fossomatic FC i Fossomatic 5000. To su elektronski brojači stanica kojima se u vrlo kratkom vremenu može analizirati velik broj uzoraka mlijeka, odnosno u njima odrediti točan broj somatskih stanica.

Uzorci kojima se određuje BSS konzervirani su azidiolom. Prije same analize, uzorci se moraju pripremiti tako da se osigura njihova homogenost i reprezentativnost, a to se postiže zagrijavanjem u vodenoj kupelji i miješanjem uzoraka. Uzorci se najprije poslože u rackove.



**Slika 5.** Rack

(Izvor: autor rada)

Na Slici 5 prikazano je kako izgleda rack. Rack je metalni nosač uzoraka sa 20 specifičnih utora u koje se stavljaju bočice sa uzorcima. Uzorci se zatim potope u vodenu kupelj (+41 do +43°C) u kojoj se zagriju do +40°C oko 10 minuta. Prije vađenja iz vodene kupelji, uzorci u

racku prekriju se drugim rackom tako da se bočice učvrste te se laganim okretanjem izmiješaju kako bi se homogenizirali. Uzorci se zatim stavljaju na traku za ispitivanje na analizatoru.

Spomenuti uređaji (Fossomatic FC i Fossomatic 5000) rade na principu fluoro-opto-elektronske metode. Ova metoda temelji se na prolasku uzorka mlijeka u vrlo tankoj niti ispred mjerne jedinice pri čemu je nit uzorka nošena pomoću kemikalije Sheat liquid. Ona stvara vrlo tanku, ali dobro definiranu nit uzorka, čija je širina rezultat promjera protočne ćelije i pritiska pomoću kojeg je uzorak ubačen u ćeliju. Promjer niti je tako mali da istovremeno omogućava prolaz samo jedne somatske stanice. Prije ulaska u protočnu ćeliju, mlijeko se miješa s fluorescentnom bojom koja boji DNA molekule somatskih stanica. Uslijed prolaska ispred mjerne jedinice uzorak se obasjava plavim svjetlom koje pobuđuje obojene stanice na način da one emitiraju crveno svjetlo. Crveni svjetlosni impulsi se povećavaju, broje pomoću fotomultiplayera i množe s radnim faktorom kako bi se dobio broj somatskih stanica u mililitru.

### **2.3. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST MLIJEKA**

Pored fizikalno-kemijskih svojstava i prisutnosti inhibitornih tvari, higijenska svojstva sirovog mlijeka temeljni su pokazatelj njegove kakvoće, prikladnosti za preradu i zdravstvene ispravnosti (Kirin, 2001.). Sirovo mlijeko je zbog svog sastava vrlo pogodan medij za razvoj mikroorganizama. Kao takvo svakodnevno je izloženo brojnim izvorima mikroorganizama (mikroflora aseptički dobivenog mlijeka iz vimena, voda, zrak, pribor za mužnju) od kojih su neki vrlo patogeni i štetni po zdravlje čovjeka. Neki od mogućih patogena su: mikrokoki (*Micrococcus*, *Staphylococcus*), fekalni enterokoki (*Enterococcus faecalis*), enterokoki mastitisa (*Enterococcus agalictiae*, *E. dysgalactiae*), asporogene i sporogene gram-pozitivne štapičaste bakterije (*Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Arthobacter*, *Kurthia*, *Bacillus*) i asporogene gram-negativne bakterije (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Alcaligenes*).

Iako veliki broj bakterija u mlijeku ne znači nužno da su one patogene, kao što ni mali broj bakterija ne znači da ne mogu djelovati štetno, općenito je prihvaćeno mišljenje da mlijeko s velikim brojem bakterija potječe iz oboljelog vimena ili da u tijeku mužnje i rukovanja nisu poštivana pravila higijene. Kao i u većini Europskih zemalja, i u Hrvatskoj je ukupan broj bakterija u 1 ml jedan od pokazatelja njegove kakvoće, važan prilikom formiranja cijene mlijeka. Tako se na osnovu broja mikroorganizama u 1 ml mlijeko svrstava u pojedine razrede, što je prikazano u Tablici 2.

**Tablica 2.** Razredi mikrobiološke kakvoće sirovog mlijeka (Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka, NN 102/00)

| Razred | Broj mikroorganizama/ml |
|--------|-------------------------|
| E      | 50 000                  |
| I      | 51 000 – 100 000        |
| II     | 101 000 – 400 000       |
| III    | >400 000                |

Četiri su razreda kakvoće mlijeka, a E razred označava mlijeko najveće mikrobiološke kakvoće. Prosječan broj mikroorganizama izračunava se iz pojedinačnih rezultata dobivenih ispitivanjem tijekom zadnja dva mjeseca, koristeći geometrijsku sredinu.

### 2.3.1. Metoda određivanja ukupnog broja mikroorganizama u mlijeku

Broj kolonija u mlijeku određuje se metodom epifluorescentne protočne citometrije na uređaju Bactoscan FC. Broj bakterija u mlijeku određuje se izazivanjem i emitiranjem svjetlosnih impulsa prilikom obasjavanja obojanih DNA i RNA bakterija zrakom lasera.

Za samu analizu uzorci se pripremaju jednako kao i kod određivanja BSS, dakle zagrijavanjem u vodenoj kupelji. Nakon pripreme uzoraka, analizator pipetom uzima 0,5ml mlijeka iz bočice i odvodi kroz 100µm filter koji osigurava homogenost mlijeka. Posebnom tehnikom analizator dalje određenu količinu mlijeka dozira u utore na inkubacijskom vrtuljku

uz pomoć cilindra za uzorak. Određena količina inkubacijskog reagensa dozira se u utor inkubacijskog vrtuljka te se mješavina mlijeka i reagensa inkubira na 50°C/8 min kako bi se omogućila razgradnja somatskih stanica, stanica masti i proteina.

Kad inkubacijski period završi, uzorak se prenosi u protočni citometar. Tada se, korištenjem vrlo preciznog cilindra za mjerenje, dio uzorka injektira u protočni citometar i prenosi tekućim nosačem i konstantnom brzinom kroz protočni citometar.

Kad uzorak prođe mjernu točku u protočnom citometru, zraka lasera prolazi kroz obojenu bakteriju koja emitira svjetlosne impulse koji odgovaraju sastojcima DNA. Impulsi koji su premali da bi bili bakterije, diskriminiraju se i odbacuju. Između mjerenja svakog uzorka cijeli protočni citometar se čisti i prazni tekućinom za ispiranje kako bi se spriječila prenosivost na slijedeći uzorak i zadržavanje nakupina u sistemu.

Rezultat mjerenja izražava se i prikazuje na monitoru kao individualni broj bakterija u ml (IBC/mL) te se preko konverzijske formule preračunava u CFU/ml. IBC predstavlja ukupan broj živih i mrtvih mikroorganizama, dok je CFU broj poraslih kolonija mikroorganizama.

#### **2.4. VODEĆE ŽUPANIJE RH PO PROIZVODNJI MLIJEKA**

Potrošnju mlijeka možemo promatrati kao indikator kvalitete prehrane stanovništva, a proizvodnju kao indikator položaja stočarstva i agrarne politike u jednoj zemlji (Kovačić, 1995.). Republika Hrvatska ima dugu tradiciju proizvodnje mlijeka i to je jedan od strateški veoma važnih sektora u njenom gospodarstvu. Ona čini više od 8,96% ukupne poljoprivredne proizvodnje i zapravo predstavlja najznačajniji dio govedarske proizvodnje.

Iako su klimatski uvjeti u pojedinim regijama RH idealni za stočarsku proizvodnju, konkretnije uzgoj mliječnih krava, broj proizvođača i proizvedene količine mlijeka iz godine u godinu sve se više smanjuje. Ukupan broj krava u 2015. godini iznosio je 174 805 grla što predstavlja pad u odnosu na prethodnu godinu za 2,5%, a i godine prije. Tako je primjerice unazad 5 godina, 2010. godine bilo ukupno 209 336 krava. Razlog tome su sve veći proizvodni troškovi, a sve niža otkupna cijena mlijeka.

Što se tiče trenutne kvalitete mlijeka u RH, prema godišnjem izvješću HPA za 2015. godinu, 95,9% analiziranog mlijeka svrstano je u I. razred. To pokazuje blagi pad u odnosu na 2014. godinu kada je taj postotak iznosio 96,1%, međutim ogroman je pomak od prvih analiza 2003. godine gdje je svega 22,7% mlijeka bilo I. razreda.

Prema pasminskoj strukturi najveći broj krava pripada simentalskoj pasmini i to 110 002 krava (62,9%), zatim holstein 43 857 krava (25,1%), smeđoj 5 017 krava (2,9%), križancima 9 108 krava (5,2%), a ostale pasmine (mliječne, kombinirane mesne i izvorne) uključuju 6 821 krava (3,9%).

**Tablica 3.** Broj isporučitelja mlijeka i isporučene količine mlijeka u četiri najproduktivnije županije kroz posljednjih 10 godina

| <b>Županija</b>               | <b>Godina</b> | <b>Isporučena<br/>količina mlijeka<br/>[kg]</b> | <b>Broj<br/>isporučitelja<br/>mlijeka</b> |
|-------------------------------|---------------|---|---|
| <b>Osječko-baranjska</b>      | 2005.         | 78 509 443                                      | 2 612                                     |
|                               | 2006.         | 94 651 843                                      | 2 244                                     |
|                               | 2007.         | 105 655 476                                     | 1 933                                     |
|                               | 2008.         | 114 881 086                                     | 1 675                                     |
|                               | 2009.         | 140 779 630                                     | 1 511                                     |
|                               | 2010.         | 135 936 826                                     | 1 367                                     |
|                               | 2011.         | 148 570 280                                     | 1 214                                     |
|                               | 2012.         | 158 276 650                                     | 1 077                                     |
|                               | 2013.         | 124 108 922                                     | 917                                       |
|                               | 2014.         | 141 031 854                                     | 729                                       |
| 2015.                         | 148 930 366   | 643   |   |
| <b>Bjelovarsko-bilogorska</b> | 2005.         | 100 738 547                                     | 6 590                                     |
|                               | 2006.         | 105 212 302                                     | 5 902                                     |
|                               | 2007.         | 109 460 376                                     | 5 305                                     |
|                               | 2008.         | 106 120 227                                     | 4 706                                     |
|                               | 2009.         | 108 467 465                                     | 4 165                                     |

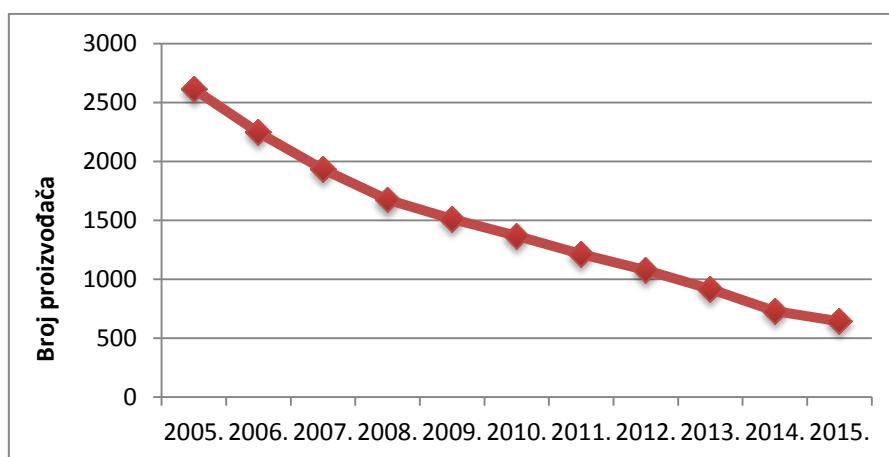
|                               |       |             |       |
|-------------------------------|-------|-------------|-------|
|                               | 2010. | 101 751 316 | 3 600 |
|                               | 2011. | 97 935 353  | 3 258 |
|                               | 2012. | 90 737 388  | 2 833 |
|                               | 2013. | 79 601 556  | 2 427 |
|                               | 2014. | 80 602 325  | 2 209 |
|                               | 2015. | 75 951 245  | 1 976 |
| <b>Vukovarsko-srijemska</b>   | 2005. | 44 580 937  | 2 008 |
|                               | 2006. | 47 528 049  | 1 786 |
|                               | 2007. | 55 583 960  | 1 587 |
|                               | 2008. | 57 105 126  | 1 442 |
|                               | 2009. | 59 839 328  | 1 332 |
|                               | 2010. | 54 634 327  | 1 322 |
|                               | 2011. | 62 922 614  | 1 166 |
|                               | 2012. | 63 193 013  | 1 011 |
|                               | 2013. | 59 749 228  | 881   |
|                               | 2014. | 63 290 552  | 692   |
|                               | 2015. | 63 454 813  | 577   |
| <b>Koprivničko-križevačka</b> | 2005. | 92 476 960  | 6 085 |
|                               | 2006. | 95 705 680  | 5 517 |
|                               | 2007. | 99 894 182  | 4 949 |
|                               | 2008. | 94 829 999  | 4 415 |
|                               | 2009. | 94 177 971  | 3 963 |
|                               | 2010. | 86 000 632  | 3 484 |
|                               | 2011. | 81 566 492  | 3 138 |
|                               | 2012. | 73 333 927  | 2 779 |
|                               | 2013. | 62 091 312  | 2 425 |
|                               | 2014. | 64 477 998  | 2 220 |
|                               | 2015. | 62 608 189  | 2 024 |

Prema ukupno isporučenoj količini mlijeka u 2015. godini, najveći udio zauzima uvjerljivo Osječko-baranjska županija sa 148 930 366 kg mlijeka, što je vidljivo iz Tablice 3. Slijede ju Bjelovarsko-bilogorska županija sa 75 951 245 kg mlijeka te Vukovarsko-srijemska županija sa 63 454 813 kg. Četvrta županija iz skupine najproduktivnijih je Koprivničko-križevačka u kojoj je 2015. godine proizvedeno ukupno 62 608 189 kg mlijeka.

#### 2.4.1. Osječko-baranjska županija

Osječko-baranjska županija je krajnji sjeveroistok ravničarskoga, žitorodnoga dijela RH, omeđena s dvije strane rijekama, Dravom i Dunavom (Domaćinović i sur., 2008.). Budući da zauzima čak 15,4% od ukupnih poljoprivrednih površina, jedna je od najvažnijih županija u poljoprivrednoj proizvodnji RH. Povoljni klimatski uvjeti i plodno tlo omogućuju proizvodnju dovoljne količine visokokvalitetne hrane za životinje.

Po ukupno proizvedenoj količini mlijeka ova je županija nesumnjivo predvodnica u proizvodnji mlijeka u Hrvatskoj. Tako je u 2015. godini proizvedeno ukupno 148 930 366 kg mlijeka što čini 29,01% ukupne proizvodnje. Maksimalnu proizvodnju Osječko-baranjska županija postigla je 2012. godine kada je proizvela rekordnih 158 276 650 kg mlijeka, a u posljednje dvije godine također bilježi rast.



**Slika 6.** Broj isporučitelja mlijeka Osječko-baranjske županije kroz posljednjih 10 godina

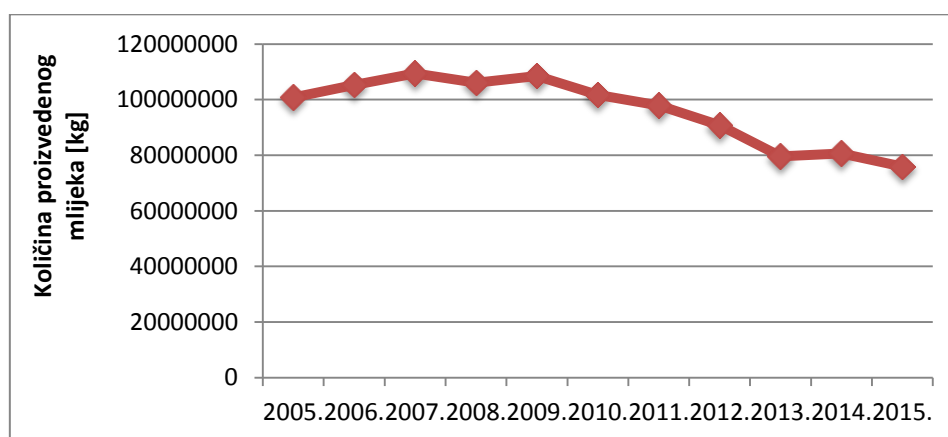
(Izvor: HPA, Godišnje izvješće za 2015. godinu)

Što se tiče broja proizvođača, odnosno isporučitelja mlijeka, taj se broj drastično smanjio u posljednjih 10 godina. Slika 6 prikazuje pad broja proizvođača. 2005. godine bilo je 2 612 isporučitelja, dok ih je 2015. godine zabilježeno svega 643. Taj negativan trend posljedica je trenutne situacije mljekarstva u Hrvatskoj koje je u vrlo lošem položaju i dovodi do gašenja malih poljoprivrednih gospodarstava i odustajanja malih proizvođača od proizvodnje.

#### 2.4.2. Bjelovarsko-bilogorska županija

Sa kvalitetnim i prostranim zemljištima, razvijenom stočarskom proizvodnjom i površinom 2 652 km<sup>2</sup> ova se županija smjestila u istočnom dijelu središnje Hrvatske. Poljoprivreda je u ovom dijelu zemlje tradicionalno jedna od najvažnijih gospodarskih grana. Prema podacima iz 2011. godine, čak 21% stanovništva bavi se tom djelatnošću. Od stočarske proizvodnje najznačajnije je govedarstvo, odnosno uzgoj mliječnih krava. Najzastupljenija pasmina je simentalaska.

Bjelovarsko-bilogorska županija na drugom je mjestu po ukupno proizvedenoj količini mlijeka u RH. Kao i većina drugih županija, i ova bilježi smanjenje proizvodnje.



**Slika 7.** Količina proizvedenog mlijeka u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji od 2005. do 2015. godine

(Izvor: HPA, Godišnje izvješće za 2015. godinu)



Slika 7 prikazuje kako se kretala količina proizvedenog mlijeka od 2005. do 2015. godine. Tako je 2015. godine bilo proizvedeno 75 951 245 kg mlijeka što je zapravo najmanja brojka gledajući unazad 10 godina. Usporedimo li to sa 2007. godinom kada se proizvelo čak 109 460 376 kg mlijeka, vidjet ćemo da se ta količina smanjila za 30,6%.

Kao i prethodno spomenuta, i ova županija susreće se sa smanjenjem broja proizvođača. Tako je u 2015. godini bilo svega 1 976 isporučitelja mlijeka dok je 10 godina ranije ta brojka iznosila 6 590 isporučitelja. Najveći broj proizvođača mlijeko isporučuje Sireli.

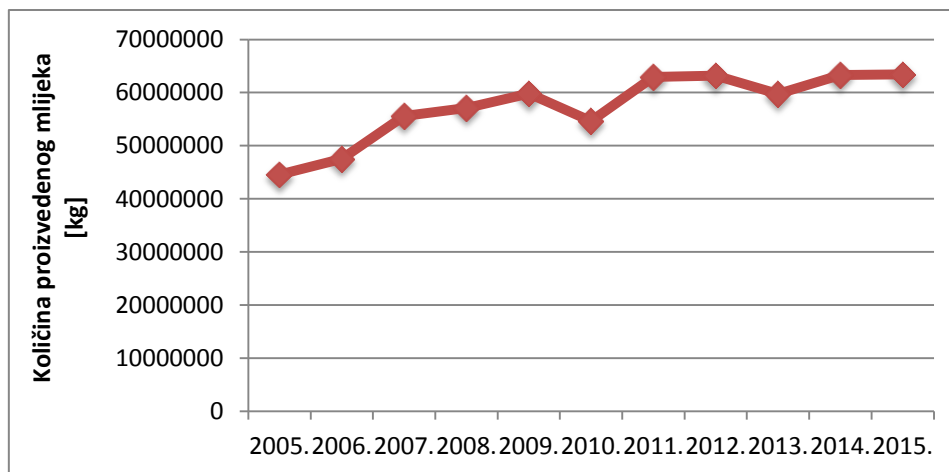
Što se tiče veličine stada, najviše je onih sa manje od 6 krava, njih čak 2 060. Tek su 3 stada iz skupine veličine 251 – 1000 grla.

### **2.4.3. Vukovarsko-srijemska županija**

Vukovarsko-srijemska županija smještena je na krajnjem sjeveroistoku Republike Hrvatske, a njezina površina iznosi 2 448 km<sup>2</sup>. Gospodarstvo Vukovarsko-srijemske županije najvećim se dijelom temelji na poljoprivrednoj proizvodnji. Uspješnost poljoprivredne proizvodnje znatno ovisi o klimatskim uvjetima koji su na području ove županije veoma povoljni. Poljoprivredne površine zauzimaju 150 856 ha ili 61,8% površine županije. Od toga se 93% odnosi na oranice i vrtove, dok su ostatak od 7% pašnjaci, livade, vinogradi i voćnjaci.

Proizvodnja mlijeka također je jedan od bitnih faktora poljoprivredne proizvodnje ove županije. Prema podacima iz 2015. godine ova županija broji svega 577 isporučitelja mlijeka što je zapravo najmanje u odnosu na ostale tri najveće županije. Ta je brojka isto tako najniža u posljednjih 10 godina, ali i općenito dosta manja u odnosu na ostale. Primjerice, 2005. godine Bjelovarsko-bilogorska županija imala je 6 590 isporučitelja, a Vukovarsko-srijemska čak 3 puta manje, svega 2 008. Situacija je jednaka i danas kada Vukovarsko-srijemska županija ima gotovo 3,5 puta manje proizvođača.

Što se tiče količine proizvedenog mlijeka na godišnjoj razini, ova županija bilježi rast.



**Slika 8.** Količina proizvedenog mlijeka Vukovarsko-srijemske županije od 2005. do 2015. godine

(Izvor: HPA, Godišnje izvješće za 2015. godinu)

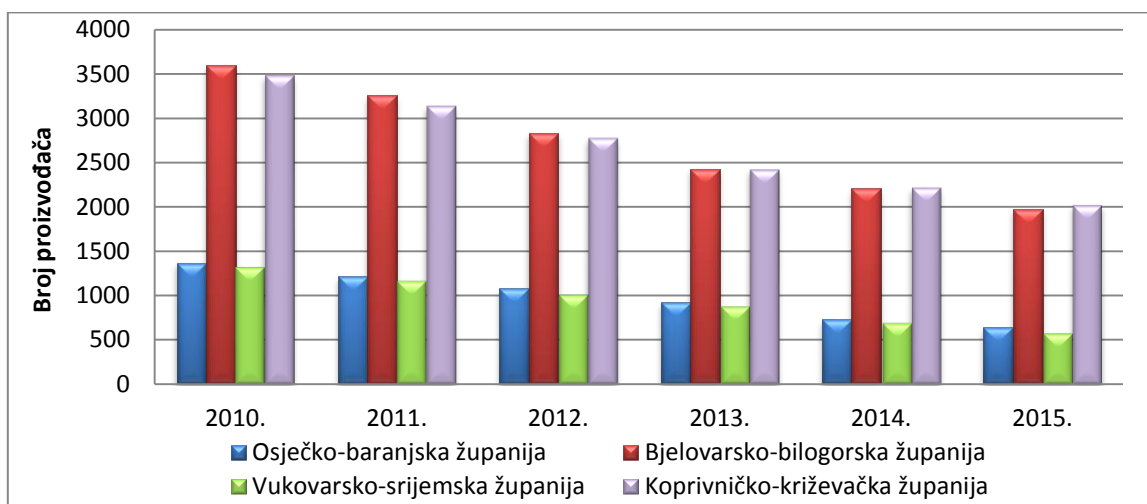
Na Slici 9 prikazano je kako se kretala količina proizvedenog mlijeka kroz posljednjih 10 godina u Vukovarsko-srijemskoj županiji. U prethodnoj 2015. godini ova je županija po ukupno proizvedenoj količini mlijeka preskočila Koprivničko-križevačku županiju i smjestila se na treće mjesto. Vidljivo je da ona pokazuje rast proizvodnje u odnosu na 2014. godinu od 0,26%. Tako je 2015. godine bilo proizvedeno 63 454 813 kg mlijeka, dok se godinu ranije proizvelo 63 290 552 kg mlijeka. Možemo zaključiti da Vukovarsko-srijemska županija zapravo bilježi konstantni rast proizvodnje u posljednjih 10-ak godina.

#### 2.4.4. Koprivničko-križevačka županija

Ova je mala županija, površine svega 1746 km<sup>2</sup>, smještena u sjeverozapadnom dijelu Republike Hrvatske. Kao i kod prethodne tri županije, i u ovoj je poljoprivreda jedna od najvažnijih djelatnosti. Tako je prema podacima Agencije za plaćanja u poljoprivredi krajem 2015. godine u Registru poljoprivrednih proizvođača bilo upisano 7 380 poljoprivrednih proizvođača.

Najzastupljenija grana je govedarstvo, odnosno proizvodnja mlijeka u kojoj je najzastupljenija pasmina simentalaska. U ukupno proizvedenoj količini mlijeka ova županija čini 12,2% što je trenutno svrstava na četvrto mjesto. Iako je niz godina zauzimala treće mjesto, već nekoliko godina za redom Koprivničko-križevačka županija bilježi pad proizvodnje. Tako je 2015. godine bilo proizvedeno ukupno 62 608 189 kg mlijeka, dok je primjerice godinu prije proizvela 64 477 998 kg mlijeka. Maksimum proizvodnje, gledajući unazad 10 godina, ova je županija postigla 2007. godine kada je proizvela gotovo 100 000 000 kg mlijeka, točnije 99 894 182 kg.

Ipak, u odnosu na ostale, ova je županija vodeća po broju isporučitelja mlijeka te ih je u 2015. godini bilo 2 024.



**Slika 9.** Broj proizvođača kroz posljednjih 5 godina u četiri najproizvodnije županije

(Izvor: HPA, Godišnje izvješće za 2015. godinu)

Na Slici 9 možemo vidjeti prvenstveno kako se broj proizvođača u sve četiri županije tokom posljednjih 5 godina smanjio. Bjelovarsko-bilogorska i Koprivničko-križevačka županija ostale su i dalje vodeće po broju isporučitelja. Za razliku od prethodnih godina, kada je je Bjelovarsko-bilogorska županija uvjerljivo bila prva, posljednje dvije godine vodeću je ulogu preuzela Koprivničko-križevačka županija.

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1. METODE RADA**

Kao materijali za izradu ovog rada korišteni su podaci iz baze podataka te godišnja izvješća Hrvatske poljoprivredne agencije u razdoblju od 2005. do 2015. godine. Ispitivanja su provedena u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka u Križevcima. Analize prisustva inhibitornih tvari u mlijeku provedene su na uzorcima nekonzerviranog kravljeg mlijeka, dok su se za određivanje broja somatskih stanica i mikroorganizama koristili uzorci konzervirani azidiolom. Uzorci su porijeklom iz 4 županije koje su po proizvodnji mlijeka vodeće u Hrvatskoj. Prije same analize, uzorci mlijeka su čuvani u hladnjači na +4°C

## 4. REZULTATI

### 4.1. Tabela prikaz rezultata

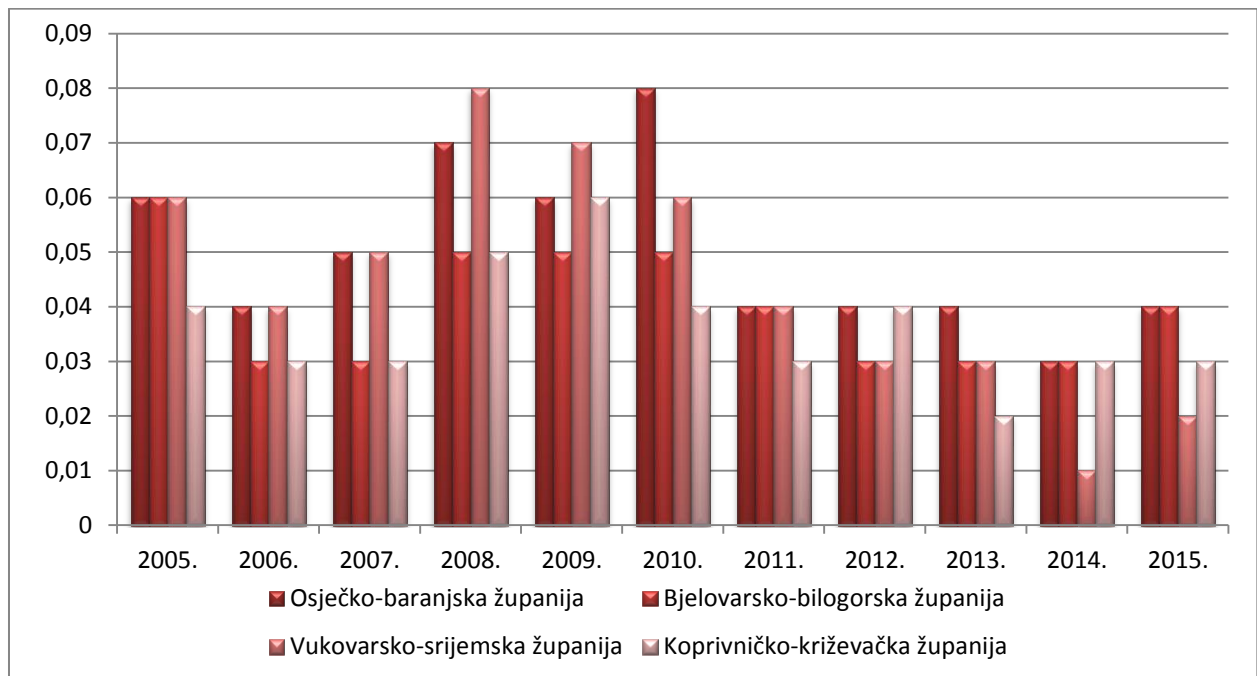
**Tablica 4.** Rezultati analize prisustva inhibitornih tvari, somatskih stanica i mikroorganizama u mlijeku

| <b>Županija</b>               | <b>Godina</b> | <b>Udio uzoraka pozitivnih na prisustvo inhibitora</b> | <b>Prosječan broj somatskih stanica</b> | <b>Prosječan broj mikroorganizama</b> |
|-------------------------------|---------------|--|---|---------------------------------------|
| <b>Osječko-baranjska</b>      | 2005.         | 0,06   | 189 898                                 | 56 018                                |
|                               | 2006.         | 0,04   | 186 870                                 | 37 674                                |
|                               | 2007.         | 0,05   | 189 356                                 | 30 354                                |
|                               | 2008.         | 0,07   | 190 400                                 | 25 476                                |
|                               | 2009.         | 0,06   | 190 347                                 | 18 899                                |
|                               | 2010.         | 0,08   | 213 488                                 | 19 074                                |
|                               | 2011.         | 0,04   | 209 963                                 | 16 769                                |
|                               | 2012.         | 0,04   | 227 854                                 | 17 107                                |
|                               | 2013.         | 0,04   | 233 108                                 | 17 715                                |
|                               | 2014.         | 0,03   | 235 300                                 | 19 303                                |
|                               | 2015.         | 0,04   | 246 572                                 | 20 463                                |
| <b>Bjelovarsko-bilogorska</b> | 2005.         | 0,06   | 180 153                                 | 116 657                               |
|                               | 2006.         | 0,03   | 185 445                                 | 96 249                                |
|                               | 2007.         | 0,03   | 188 072                                 | 73 538                                |
|                               | 2008.         | 0,05   | 171 622                                 | 47 948                                |
|                               | 2009.         | 0,05   | 164 158                                 | 31 735                                |
|                               | 2010.         | 0,05   | 165 418                                 | 31 053                                |
|                               | 2011.         | 0,04   | 153 772                                 | 19 508                                |
|                               | 2012.         | 0,03   | 160 167                                 | 21 718                                |
|                               | 2013.         | 0,03   | 157 026                                 | 19 696                                |

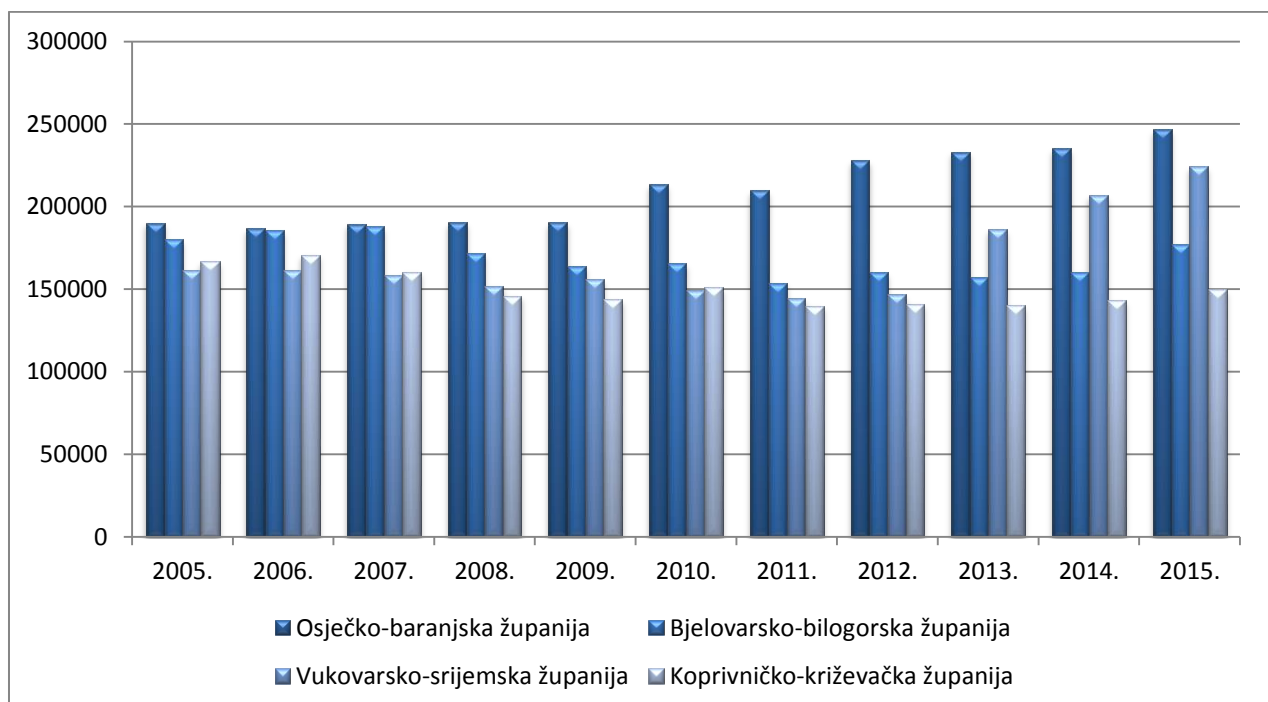
|                               |       |      |         |         |
|-------------------------------|-------|------|---------|---------|
|                               | 2014. | 0,03 | 160 258 | 20 033  |
|                               | 2015. | 0,04 | 176 976 | 21 053  |
| <b>Vukovarsko-srijemska</b>   | 2005. | 0,06 | 161 313 | 126 509 |
|                               | 2006. | 0,04 | 161 629 | 75 580  |
|                               | 2007. | 0,05 | 158 370 | 54 949  |
|                               | 2008. | 0,08 | 151 919 | 43 604  |
|                               | 2009. | 0,07 | 155 686 | 28 856  |
|                               | 2010. | 0,06 | 149 540 | 25 369  |
|                               | 2011. | 0,04 | 144 195 | 17 872  |
|                               | 2012. | 0,04 | 146 533 | 19 779  |
|                               | 2013. | 0,03 | 186 215 | 21 320  |
|                               | 2014. | 0,01 | 206 890 | 20 732  |
|                               | 2015. | 0,02 | 224 280 | 22 374  |
| <b>Koprivničko-križevačka</b> | 2005. | 0,04 | 166 522 | 93 036  |
|                               | 2006. | 0,03 | 170 719 | 82 105  |
|                               | 2007. | 0,03 | 160 344 | 60 917  |
|                               | 2008. | 0,05 | 145 786 | 43 960  |
|                               | 2009. | 0,06 | 143 792 | 30 541  |
|                               | 2010. | 0,04 | 151 228 | 31 617  |
|                               | 2011. | 0,03 | 139 901 | 20 648  |
|                               | 2012. | 0,04 | 141 039 | 22 062  |
|                               | 2013. | 0,02 | 140 139 | 20 656  |
|                               | 2014. | 0,03 | 143 218 | 22 888  |
|                               | 2015. | 0,03 | 149 804 | 22 548  |

## 4.2. Grafički prikaz rezultata

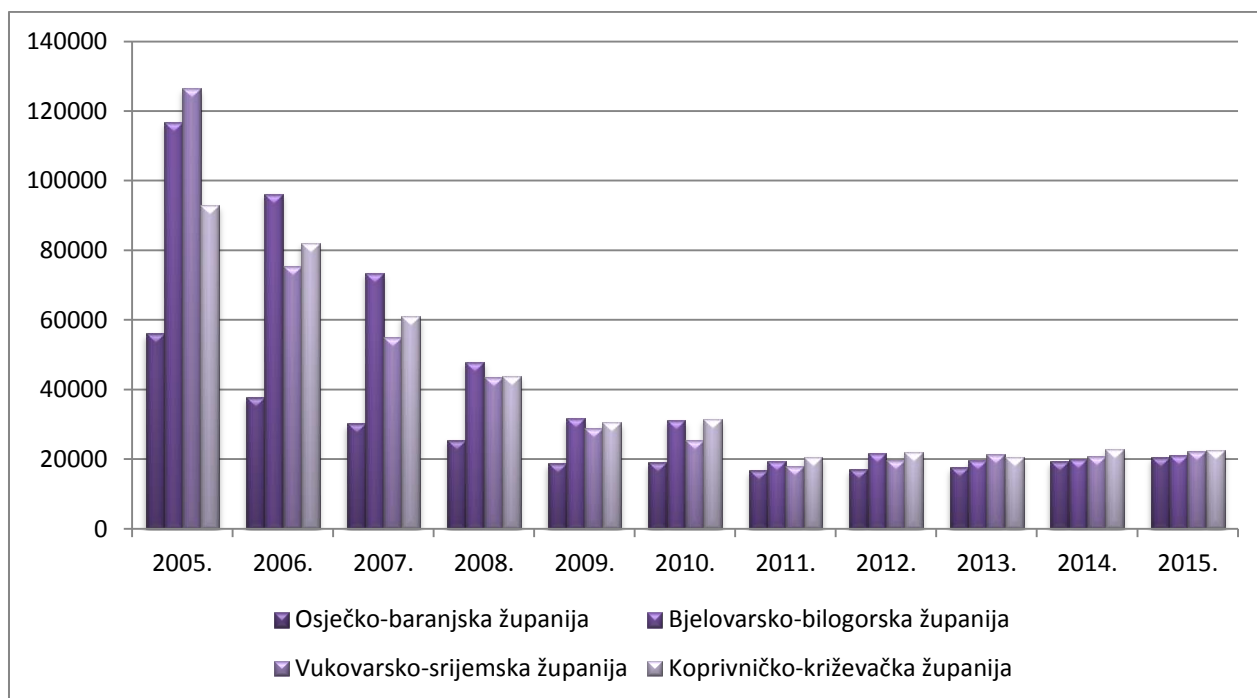
**Grafikon 1.** Udio uzoraka pozitivnih na prisustvo inhibitora



**Grafikon 2.** Prosječan broj somatskih stanica



**Grafikon 3.** Prosječan broj mikroorganizama





## 5. RASPRAVA

Godine 2005. započele su analize uzoraka na prisustvo inhibitornih tvari i te je godine udio istih u tri vodeće županije bio jednak, dok je Koprivničko-križevačka županija imala nešto niži udio.

Udio inhibitornih tvari kroz posljednjih 10 godina prikazuje Grafikon 5 (str. 30). Promotrimo li krajnje lijevi stupac koji prikazuje udio inhibitornih tvari u Osječko-baranjskoj županiji, uočiti ćemo da je najveći udio imala 2010. godine kada je on dosegao 0,08%. Činjenica je da u razdoblju od 2006. do spomenute 2010. godine udio inhibitora u ovoj županiji rastao, međutim otada se bilježi pad što je zapravo pozitivno, iako je 2015. godine u odnosu na prethodnu udio porastao za 0,02%. Bjelovarsko-bilogorska županija najveći je udio inhibitornih tvari zabilježila početne 2005. godine kada je on iznosio 0,06%. U slijedeće dvije godine taj se udio prepolovio, dok se u razdoblju od 2008. do 2010. godine ponovo primjećuje porast. Što se tiče nekoliko proteklih godina, udio inhibitornih tvari bio je gotovo konstantan. Županija u kojoj se, od spomenutih, posljednjih pet godina bilježi najveće smanjenje udjela inhibitora je Vukovarsko-srijemska. U razdoblju od 2005. do 2008. godine udio se povećavao, no otada on konstantno pada te je u 2014. godini iznosio svega 0,01%. To je najmanji postotak inhibitornih tvari ove županije uopće, ali i ostalih triju velikih županija. Kao i kod ostalih, i kod ove županije je u prethodnoj godini udio bio nešto veći i iznosio 0,02%. Zadnja županija iz ove skupine, Koprivničko-križevačka, zapravo ima najnepravilnije kretanje udjela inhibitornih tvari. U početnih pet godina udio inhibitora je rastao, nakon toga možemo reći da se smanjivao, dok su posljednje dvije godine, 2014. i 2015., izjednačene po udjelima koji iznose 0,03%.

Zapravo su sve četiri županije u ovih 10 godina najveći udio inhibitornih tvari imale u razdoblju od 2008. do 2010. godine. Porast u 2015. godini kod većine navedenih županija možemo pripisati činjenici da se smanjio broj proizvođača, a time i uzoraka mlijeka koji su analizirani na prisustvo inhibitornih tvari, dok je broj onih koji su isporučivali mlijeko sa istima ostao približno jednak.

Prosječan broj somatskih stanica u desetogodišnjem razdoblju prikazan je u Grafikonu 6 (str. 30). Kod Osječko-baranjske županije može se primjetiti konstantan porast broja somatskih stanica u mlijeku, od početnih 189 898 pa do krajnje brojke od 246 572 stanica/ml. Ostale tri

županije bilježe lagani pad, iako je u protekloj 2015. godini broj somatskih stanica kod svih porastao u odnosu na 2014. godinu. Koprivničko-križevačka županija pokazuje najmanja odstupanja, odnosno broj somatskih stanica kreće se u rasponu od 139 901 pa do 170 719 stanica/ml. Bjelovarsko-bilogorska županija najveći je broj somatskih stanica imala u početnim godinama analiza, od 2005. do 2007. godine, zatim je u slijedećih nekoliko godina imala lagani pad. U posljednje tri godine brojka je ponovno narasla na 176 976 stanica/ml, čime se lagano približava početnim godinama. Najveći porast u razdoblju od 2013. do 2015. godine vidljiv je kod Vukovarsko-srijemske županije. U grafikonu je jasno vidljivo da se uz već spomenutu Osječko-baranjsku, jedino kod ove županije vrijednosti kreću iznad 200 000 stanica/ml.

Što se tiče mikrobiološke ispravnosti mlijeka u ove četiri županije, situacija je prilično jasna pogledamo li Grafikon 7 (str. 31). Kod svih županija vidljiv je ogroman pomak u odnosu na početne godine. Tako je, primjerice, 2005. godine prosječan broj mikroorganizama kod Vukovarsko-srijemske županije iznosio čak 126 509, čak dvostruko više nego kod Osječko-baranjske županije. Međutim, te su se brojke drastično smanjile. Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00), I. razredu pripada mlijeko sa manje od 100 000 mikroorganizama/ml. Iz grafikona je jasno vidljivo da je mlijeko iz sve četiri županije izvrsne mikrobiološke kakvoće i tek za malo prelazi vrijednost od 20 000.

## 6. ZAKLJUČAK

Prema prethodno navedenim tvrdnjama, možemo zaključiti da se kvaliteta mlijeka u Republici Hrvatskoj u posljednjih nekoliko godina značajno poboljšala. Prvenstveno, gledajući prosječan broj mikroorganizama, ali i somatskih stanica kao i udjela inhibitornih tvari. Spomenuti parametri izuzetno su važni pokazatelji kvalitete mlijeka, a u vrijeme kada je mljekarstvo u Hrvatskoj u poprilično lošem položaju i količine proizvedenog mlijeka se iz godine u godinu smanjuju, veoma je važno da je to mlijeko zadovoljavajuće kakvoće i prati standarde vodećih stočarskih zemalja.

Iako je prosječan broj somatskih stanica u posljednjih nekoliko godina u blagom porastu, on je još uvijek u granicama prihvatljivog. Prosječan broj mikroorganizama smanjio se čak nekoliko puta, što ukazuje ne samo na izvrsnu kakvoću mlijeka, već i na znatno poboljšane higijenske standarde. Udio inhibitornih tvari kod sve četiri županije poprilično smanjio u odnosu na početne godine provođenja analize. Na temelju toga vidljivo je da se svijest proizvođača o štetnosti inhibitornih tvari u mlijeku, ponajprije antibiotika, povećava. Međutim, navedeni postoci ukazuju također na to da još uvijek postoje oni koji zanemaruju zakon i zakonske propise. O problemu prisustva inhibitornih tvari u mlijeku do danas su napisani brojni znanstveni i stručni članci, no još uvijek ne postoji efikasan način da se u potpunosti zaustavi proizvođače da za vrijeme liječenja bolesnih životinja mlijeko ne isporučuju.

Činjenica je da bi kvaliteta proizvedene sirovine, ali i dobrobit onih koji će je dalje konzumirati, proizvođačima trebala biti na prvom mjestu. Samo kvalitetnom i ispravnom sirovinom moguće je zadobiti povjerenje potrošača kao i ostvariti željenu dobit. Budući da županije analizirane u ovom radu čine čak 2/3 proizvedene količine mlijeka u RH, iznimno je pozitivno saznanje da je njihovo mlijeko na vrlo visokom nivou kvalitete te da je, glede zdravstvene ispravnosti, ono sigurno za konzumaciju.

## 7. LITERATURA

Knjige i priručnici:

1. Blažek, A. (2015.): *Radna uputa za utvrđivanje prisustva inhibitornih tvari u mlijeku*, Hrvatska poljoprivredna agencija
2. Havranek, J., Rupić V. (2003.): *Mlijeko od farme do mljekare*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb
3. Domaćinović, M., Antunović, Z., Mijić, P., Šperanda, M., Kralik, D., Đidara, M., Zmaić, K., (2008.): *Proizvodnja mlijeka – sveučilišni priručnik*, Kromopak d.o.o., Osijek

Znanstveni časopisi:

1. Andrašević, S., Vranić-Ladavac, M., Tambić-Andrašević, A., (2009.): „Osjetljivost enterobakterija na antibiotike“, *Infektološki glasnik*, Vol. 29, No. 4, str 171 – 176
2. Bach, I., (1970.): „Pojavljivanje i otkrivanje inhibitornih tvari u mlijeku“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 20, No. 5, str 106 – 115
3. Kaša, D., (2004.): „Dokaz ostataka sulfonamida brzim laboratorijskim testom“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 54, No. 2, str 139 – 143
4. Kirin, S., (2001.): „Higijenska kakvoća sirovog mlijeka u svjetlu zakonskih propisa“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 51, No. 1, str 49 – 60
5. Makovec, S., Kos, B., Šušković, J., Bilandžić, N., (2014.): „Tetraciklinski antibiotici i određivanje njihovih rezidua u hrani“, *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, Vol. 9, No. 1-2, str 7 – 16
6. Milohnoja, M., (1971.): „Nepoželjni aditivi u mlijeku“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 21, No. 3, str 65 – 70
7. Petričić, A. (1962.): „Prisutnost antibiotika u mlijeku“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 12, No. 9 i 10, str 184 – 187

8. Pintić, N., Dakić, A., Poljak, F., Stručić, D., Tomše-Đuranec, V., Jelen, T., Pintić, V., (2006.): „Učestalost pojave antibiotika i drugih antibakterijskih tvari u mlijeku isporučenom za tržište“, *Stočarstvo: časopis za unaprjeđenje stočarstva*, Vol. 60, No. 2, str 83 – 95
9. Samaržija, D., Lukač, J., Antunac, N., (1991.): „Broj somatskih stanica i kvaliteta mlijeka“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 41, No. 8, str 221 – 224
10. Zdolec, N., Hadžiosmanović, M., Kozačinski, L., Cvrtila, Ž., Filipović, I.,(2006.): „Ostatci biološki štetnih tvari u mlijeku“, *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, Vol. 56, No. 2, str 191 – 202

#### Pravilnici:

1. *Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka*, Narodne novine, br. 102/00
2. *Pravilnik o količinama pesticida, toksina, mikotoksina, metala i histamina i sličnih tvari koje se mogu nalaziti u namirnicama, te o drugim uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti namirnica i predmeta opće uporabe*, Narodne novine, br. 60/92

#### Internet izvori:

1. Anonymus (2013.): *Aflatoksini u mlijeku* [online], 28. veljače, Dostupno na: <http://www.gospodarski.hr/Publication/2013/4/aflatoksini-u-mlijeku/7767#.V2FpPruLTIU> [15.06.2016.]
2. Anonymus (2010.): *Utjecaj mutacija metil transferaze NpmA na bakterijsku rezistenciju na antibiotike* [online], Dostupno na: [http://www.unizg.hr/rektorova/upload\\_2010/Ana%20Juri%C4%87%20i%20Eva%20Kukolj\\_%20Utjecaj%20mutacija%20metil-transferaze%20NpmA%20na%20bakterijsku%20rezistenciju%20na%20antibiotike.pdf](http://www.unizg.hr/rektorova/upload_2010/Ana%20Juri%C4%87%20i%20Eva%20Kukolj_%20Utjecaj%20mutacija%20metil-transferaze%20NpmA%20na%20bakterijsku%20rezistenciju%20na%20antibiotike.pdf) [17.06.2016.]
3. Anonymus (2012.): *Sulfonamidi i trimetoprim* [online], Dostupno na: <http://farmaceuti.com/tekstovi/farmakologija-2/sulfonamidi-i-trimetoprim/> [17.06.2016.]

Statistički podaci:

1. HPA, Godišnje izvješće za 2015. godinu
2. Baza podataka HPA

## 8. POPIS PRILOGA

### Popis slika

| Slika | Naslov slike  | Stranica |
|-------|---|----------|
| 1.    | Osnovna struktura penicilina  | 6        |
| 2.    | Mehanizam djelovanja makrolidnih antibiotika  | 7        |
| 3.    | Mehanizam djelovanja deterdženata   | 13       |
| 4.    | Inkubacijska pločica  | 15       |
| 5.    | Rack  | 17       |
| 6.    | Broj isporučitelja mlijeka Osječko-baranjske županije kroz posljednjih 10 godina          | 23       |
| 7.    | Količina proizvedenog mlijeka u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji od 2005. do 2015. godine | 24       |
| 8.    | Količina proizvedenog mlijeka Vukovarsko-srijemske županije od 2005. do 2015. godine      | 26       |
| 9.    | Broj proizvođača kroz posljednjih 5 godina u četiri najproizvodnije županije              | 27       |

### Popis tablica

| Tablica | Naslov tablice  | Stranica |
|---------|---|----------|
| 1.      | Najviše dozvoljene količine nekih pesticida u mlijeku i mliječnim proizvodima   | 12       |
| 2.      | Razredi mikrobiološke kakvoće sirovog mlijeka   | 19       |
| 3.      | Broj isporučitelja mlijeka i isporučene količine mlijeka u četiri najproizvodnije županije kroz posljednjih 10 godina | 21       |
| 4.      | Rezultati analize prisustva inhibitornih tvari, somatskih stanica i mikroorganizama u mlijeku                         | 28       |

### Popis grafikona

| Grafikon | Naslov grafikona                                | Stranica |
|----------|---|----------|
| 1.       | Udio uzoraka pozitivnih na prisustvo inhibitora | 31       |
| 2.       | Prosječan broj somatskih stanica                | 31       |
| 3.       | Prosječan broj mikroorganizama                  | 32       |