



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



# Sadržaj $\beta$ -karotena i retinola u mlijeka krava Jersey pasmine

DIPLOMSKI RAD

Tomislav Rusan

Zagreb, rujan, 2019.



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

# **Sadržaj $\beta$ -karotena i retinola u mlijeka krava Jersey pasmine**

DIPLOMSKI RAD

Tomislav Rusan

Mentor:

Doc.dr.sc. Nikolina Kelava Ugarković

Zagreb, rujan, 2019.



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



## IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Tomislav Rusan**, JMBAG 0012253628, rođen 05.10.1994. u Bjelovaru, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

### **Sadržaj $\beta$ -karotena i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



## IZVJEŠĆE

### O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Tomislava Rusana**, JMBAG 0012253628, naslova

#### **Sadržaj $\beta$ -karotena i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |   |        |       |
|---|--------|-------|
| 1. doc.dr.sc. Nikolina Kelava Ugarković | mentor | _____ |
| 2. izv.prof.dr.sc. Miljenko Konjačić    | član   | _____ |
| 3. doc.dr.sc. Iva Dolenčić Špehar       | član   | _____ |

## Zahvala

Ovime zahvaljujem svojoj mentorici doc.dr.sc. Nikolini Kelavi Ugarković koja je prihvatila moj zahtjev za mentorstvo i upućivala me u temu i pisanje diplomskog rada. Također, zahvaljujem na pomoći i savjetima tijekom pisanja rada.

Veliko hvala na strpljenju i podršci mojim roditeljima Marijanu i Otiliji te braći Filipu i Marku kroz cijelo vrijeme mog studiranja.

Hvala profesorima na svim kritikama i pohvalama tijekom studiranja, znam da ću to pamtiti dugo vremena. I na kraju, ne manje važnima, želim zahvaliti svojim prijateljima i prijateljicama, koji su mi vrijeme provedeno na fakultetu uljepšali svojim prisustvom i pripomogli da studentske dane pamtim kao najljepše trenutke u svom dosadašnjem školovanju.

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled literature .....	2
2.1. Pojam i definicija mlijeka.....	2
2.2. Kemijski sastav mlijeka.....	3
2.2.1. Unutarnji čimbenici koji utječu na sastav i količinu mlijeka.....	3
2.2.2. Vanjski čimbenici koji utječu na sastav i količinu mlijeka .....	4
2.2.2.1. <i>Zoohigijenski uvjeti</i> .....	4
2.2.2.2. <i>Utjecaj selekcije na proizvodnju mlijeka</i> .....	4
2.2.2.3. <i>Hranidba</i> .....	5
2.3. Vitamini u mlijeku .....	5
2.3.1.1. <i>Vitamin A</i> .....	7
2.3.1.2. <i>Vitamin D</i> .....	8
2.3.1.3. <i>Vitamin E</i> .....	8
2.3.1.4. <i>Vitamin K</i> .....	9
2.3.2. Vitamini topivi u vodi (hidrosolubilni).....	9
2.3.2.1. <i>Vitamin B1</i> .....	9
2.3.2.2. <i>Vitamin B2</i> .....	10
2.3.2.3. <i>Vitamin B3</i> .....	10
2.3.2.4. <i>Vitamin B5</i> .....	11
2.3.2.5. <i>Vitamin B6</i> .....	11
2.3.2.6. <i>Vitamina B9</i> .....	12
2.3.2.7. <i>Vitamin B12</i> .....	12
2.3.2.8. <i>Vitamin C</i> .....	12
2.4. Čimbenici koji utječu na sadržaj vitamina u mlijeku.....	13
2.4.1. Utjecaj hranidbe na sadržaj vitamina u mlijeku .....	13
2.4.2. Utjecaj nehranidbenih čimbenika na sadržaj vitamina.....	14
2.5. Boja mlijeka .....	15
2.6. Jersey pasmina.....	15
2.5.1. Povijest pasmine Jersey .....	16
2.5.2. Izgled pasmine Jersey.....	16
3. Materijali i metode.....	18
3.1. Uzorkovanje mlijeka i analize mlijeka .....	19
3.2. Statistička obrada podataka .....	21
4. Rezultati i rasprava .....	22
5. Zaključak .....	27

6. Popis literature.....	28
Životopis .....	33

# Sažetak

Diplomskog rada studenta **Tomislava Rusana**, naslova

## **Sadržaj $\beta$ -karotena i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine**

Cilj diplomskog rada bio je utvrditi koncentraciju  $\beta$ -karotena i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine te moguće varijacije uvjetovane hranidbom i sezonom. Karotenoidi su osnovni prirodni pigment mlijeka među kojima je najzastupljeniji karoten osobito koristan u prevenciji krvožilnih bolesti i bolesti oka. Mlijeko krava Jersey pasmine poznato je po većem sadržaju mliječne masti u odnosu na mlijeko drugih pasmina. Istraživanje je provedeno na farmi Eko Vedrine d.o.o. na kojoj se uzgaja 100 krava Jersey pasmine. Uzorci su se prikupljali jednom mjesečno kroz 12 mjeseci iz laktofriza. Osim osnovnog kemijskog sastava, u mlijeku je određen sadržaj  $\beta$ -karotena i retinola (HPLC metoda) te parametri boje mlijeka. Istraživanjem je dokazano kako hranidba utječe na promjenu sastava  $\beta$ -karotena i retinola u mlijeku krava ovisno o izmjeni tri proizvodno hranidbene faze.

**Ključne riječi:** mlijeko,  $\beta$ -karoten, retinol, Jersey pasmina



## Summary

Of the master's thesis – student **Tomislav Rusan**, entitled

### **$\beta$ -Carotene and retinol content in milk of Jersey cows**

The aim of this master thesis was to determine the content of  $\beta$ -carotene and retinol in the milk of Jersey cows as well as possible variations caused by feeding and seasons. Carotenoids are the basic natural pigment of milk among which the most common is carotene, useful in the prevention of vascular and eye diseases. Jersey cow's milk is known for its higher milk fat content than milk of other dairy breeds. The study was conducted on the farm Eko Vedrine d.o.o. on which 100 Jersey cows are bred. Samples were collected once a month for 12 months from bulk milk. In addition to the basic chemical composition, the content of  $\beta$ -carotene and retinol (HPLC method) and milk color parameters were determined in the milk. Results shown that feeding influences the change in the composition of  $\beta$ -carotene and retinol in cow's milk depending on the change of the three production feeding stages.

**Keywords:** milk,  $\beta$ -caroten, retinol, Jersey cow

## 1. Uvod

Vitamini su skupina organskih spojeva koji su u vrlo malim količinama neophodni za normalno funkcioniranje ljudskog, a isto tako i životinjskog organizma. Prema njihovoj fiziološkoj funkciji i kemijskoj strukturi dijele se u dvije glavne skupine, vitamine topive u mastima i topive u vodi.

Vitamini topivi u mastima su vitamini A, D, E i K, a vitamini topivi u vodi su vitamini B kompleksa te vitamin C. Beta karoten i retinol su osnovni prirodni pigmenti prisutni u mnogim namirnicama pa tako i mlijeku. Karotenoidi su moćne fitotvari koje djeluju kao antioksidansi i imaju antikarcinogena svojstva. Beta karoten je izuzetno važan u prehrani ljudi jer prevenira pojavu krvožilnih bolesti te bolesti oka, a ima i esencijalnu važnost za normalan rast i razvoj te funkciju imunološkog sustava. Na životinjski organizam djeluju na isti način kao i na ljudski i njegov unos je isključivo preko hrane biljnog porijekla. Za krave to su prvenstveno tijekom proljetno-ljetnog perioda godine svježa zelena krma poput djetelinsko -travnih smjesa(DTS) i lucerne, a tijekom jeseni i zimskog perioda to su konzervirani oblici voluminozne krme kao što je sjenaža DTS-a i lucerne, te osušena voluminozna krma odnosno sijeno.

U ovom diplomskom radu pobliže ću se opisati upravo vitamin A te karotenoide i retinol, te njihove funkcije u ljudskom i životinjskom organizmu. Također, opisat će se čimbenici koji utječu na udio vitamina u namirnicama životinjskog porijekla, prvenstveno u mlijeku i mliječnim proizvodima. Prikazat će se sezonska variranja u udjelu  $\beta$ -karotena i retinola te na koji način i u kojoj mjeri godišnje doba, dob životinje, stadij laktacije i naravno hranidba utječe na udio tih prirodnih pigmenata u mlijeku. Poznato je da krave Jersey pasmine proizvode mlijeko s većim udjelom mliječne masti od simentalske pasmine i Holsteina. Istraživanje je provedeno na farmi Eko Vedrine d.o.o. na kojoj se uzgaja 147 grla goveda krave Jersey pasmine. Uzorci mlijeka skupljani su jednom mjesečno kroz 12 mjeseci. Osim analiza kemijskog sastav u mlijeku će se odrediti i sadržaj beta karotena i retinola te parametri boje mlijeka.

### 1.1. Cilj rada

Cilj ovog rada je utvrditi sezonska variranja u sadržaju  $\beta$ -karotena i retinola te povezanost sadržaja tih vitamina sa hranidbom i stadijem laktacije. Također, cilj je utvrditi koeficijente korelacije između sadržaja mliječne masti i beta karotena te retinola u mlijeku, kao i povezanost sadržaja beta karotena i retinola sa parametrima boje mlijeka.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Pojam i definicija mlijeka

Mlijeko je bijele boje, specifičnog okusa i mirisa, koju izlučuje mliječna žlijezda poslije partusa ženki sisavaca i koja služi za hranidbu podmlatka. Pod mlijekom se u užem smislu smatra nepromijenjeni sekret mliječne žlijezde, dobiven neprekidnom i potpunom mužnjom zdravih, normalno hranjenih i redovito muženih krava najmanje 15 dana prije i 8 dana poslije teljenja, kome nije ništa dodano niti oduzeto. Pojam kravlje mlijeko podrazumijeva se iz prethodne definicije, jer se proizvodi u najvećim količinama, ima najveći značaj za mljekarsku industriju te dominantnu ulogu u hranidbi ljudi (Tratnik, 1998).

Prema spomenutoj definiciji te Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN, 102/00) proizlazi da se samo kravlje mlijeko može stavljati u promet pod nazivom mlijeko, dok se za mlijeko drugih vrsta, koje se koristi u prehrani ljudi, mora naznačiti vrsta životinje od koje potječe (ovčje mlijeko, kozje mlijeko). Mlijeko se ne smije stavljati u promet ako je dobiveno u vremenu 15 dana prije i 8 dana poslije teljenja. Sekret koji mliječna žlijezda luči u tom periodu ne smatra se mlijekom u užem smislu riječi, jer je sekret znatno izmijenjenog sastava i tehnoloških osobina te može uzrokovati poteškoće tijekom obrade i prerade u mljekarskim pogonima. Definicijom se predviđa da se mlijeku ne smije ništa dodati niti oduzeti (Tratnik, 1998).

Svježe mlijeko od zdrave krave može imati nekoliko stotina do nekoliko tisuća mikroorganizama po mililitru. Postoje tri načina ulaska mikroorganizama u mliječnu žlijezdu i to:

1. Galaktogeno – ulaskom mikroorganizama kroz sisni kanal,
2. Limfogeno – preko ozlijeđene kože,
3. Hematogeno – putem krvi.

Ako želimo imati mlijeko zadovoljavajuće kakvoće u borbi protiv mikroorganizama moramo zadovoljiti nekoliko bitnih uvjeta (Tratnik i sur., 2012):

- Bespriječna higijena mužnje i daljnje rukovanje,
- Mlijeko treba što prije ohladiti na što nižu temperaturu,
- Osigurati zatvoren sustav rukovanja mlijekom,
- Što kraće hladno skladištenje,
- Što kraći prijevoz mlijeka uz obavezno hlađenje mlijeka
- Bezuvjetna čistoća opreme i aparature,
- Mlijeko što prije toplinski obraditi,
- Mlijeko što prije preraditi u proizvod.

Pravilnikom (NN, 102/00) se propisuju zahtjevi koje u pogledu kakvoće mora udovoljavati svježe sirovo mlijeko (u daljnjem tekstu: sirovo mlijeko) pri otkupu, način ispitivanja njegove kakvoće i uvjeti koje moraju ispunjavati ovlašteni i referentni laboratorij za

ispitivanje kakvoće sirovog mlijeka. Sirovo mlijeko mora imati svojstven izgled, boju, miris i okus. Sirovo mlijeko mora najkasnije dva sata nakon mužnje biti ohlađeno na temperaturu do najviše 6°C. Parametri koji se kontroliraju pri prijemu mlijeka su temperatura i kiselost mlijeka te prisustvo antibiotika (Tratnik, 1998).

## 2.2. Kemijski sastav mlijeka

Prosječan kemijski sastav kravljeg mlijeka prikazan je u tablici 2.2.1. Postoji niz čimbenika koji utječu na količinu proizvedenog mlijeka te na njegov kemijski sastav. Ti čimbenici podijeljeni su u dvije glavne skupine, a to su: unutarnji i vanjski čimbenici.

Tablica 2.2.1. Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka

<b>Prosječan kemijski sastav kravljeg mlijeka</b>	
Voda	87,4%
Suha tvar	12,6%
Laktoza	4,7%
Mliječna mast	3,9%
Bjelančevine	3,3%
Kazein	2,7%
Albumin	0,6%
Globulin	U tragovima
Mineralne soli	0,7%
UKUPNO	100%

Izvor: Havranek i Rupić, 2003

### 2.2.1. Unutarnji čimbenici koji utječu na sastav i količinu mlijeka

Unutarnji čimbenici koji utječu na količinu i kemijski sastav proizvedenog mlijeka podrazumijeva utjecaj same životinje i upravo iz tog razloga nisu podložni velikim i naglim promjenama. U unutarnje čimbenike ubrajamo vrstu životinje, pasminu, individualnost, stadij laktacije, dob i estrus. Krava će proizvesti veću količinu mlijeka od ovce, ali s manjim udjelom suhe tvari. Međutim, mlijeko ovaca će imati znato veći udio suhe tvari. Pasmine životinja selekcionirane na proizvodnju mlijeka će proizvesti više mlijeka od ne selekcioniranih pasmina, ali s manjim udjelom suhe tvari. Unutar iste vrste životinja i unutar iste pasmine, životinje se proizvodno mogu razlikovati jedna od druge što se označava kao individualnost te će jedna životinja na temelju iste hranidbe, uvjeta držanja proizvesti veću ili manju količinu mlijeka. Stadij laktacije je vrlo bitan jer mlijeko nema isti kemijski sastav od krava u početku laktacije, vrhu laktacije ili na kraju jer je odnos proizvedene količine mlijeka i udjela mliječne masti i proteina obrnuto proporcionalan. Dob životinje, također, utječe na sastav proizvedenog mlijeka. Naime, porastom broja laktacija raste udio mliječne masti, proteina, somatski stanica,

a smanjuje se udio laktoze. Estrus utječe na proizvedenu količinu mlijeka kao i na kemijski sastav i upravo zbog toga jedan je od pokazatelja utvrđivanja estrusa. Ujedno, smanjuje se količina mlijeka te se može povećati udio mliječne masti i suhe tvari (Čačić i sur., 2003).

### 2.2.2. Vanjski čimbenici koji utječu na sastav i količinu mlijeka

Vanjski čimbenici koji utječe na kemijski sastav mlijeka isključivo dolaze iz okoliša životinje te na pojedine vanjske čimbenike u velikoj mjeri utječe čovjek. U njih se ubrajaju zoohigijenski uvjeti, redoslijed teljenja, selekcija, klima, sezona, temperatura, svjetlo i hranidba.

#### 2.2.2.1. Zoohigijenski uvjeti

Loši zoohigijenski uvjeti poput hladnoće, propuha, vlage, loših podova, nečiste i neuredne stelje pogoduju većoj učestalosti pojave mastitisa. Goveda znatno bolje i lakše podnose zimske mjesece i niske temperature nego ljetne visoke temperature. Upravo zbog toga krave koje se tele u zimskim mjesecima imaju bolju proizvodnju mlijeka i više suhe tvari u usporedbi s kravama koje kreću u laktaciju u ljetnim mjesecima. Naravno, preniske temperature i mrazovi te previsoke ljetne temperature uzrokuju promjenu u kemijskom sastavu mlijeka kao i ukupnu količinu proizvedenog mlijeka. Mlijeko se ne smije izlagati utjecaju sunčeve svjetlosti jer onda dolazi do oštećenja vitamina i mliječne masti. Hranidba je najvažniji ne genetski čimbenik koji u glavnoj mjeri utječe na ukupnu količinu proizvedenog mlijeka kao i na njen sastav (Čačić i sur., 2003).

#### 2.2.2.2. Utjecaj selekcije na proizvodnju mlijeka

Od davnina čovjek pokušava „poboljšati“ određene uzgojne vrijednosti domaćih životinja, pa svjesno primjenjuje selekciju unutar pojedinih populacija, odlučujući koja će grla koristiti za rasplod i u kojem opsegu. Selekcija (lat. *selectio* = izbor, odabiranje) ili odabir predstavlja uzgojni postupak kojim uzgajatelj odabire roditeljske parove budućih generacija. Selekcija je u slobodnoj prirodi omogućila opstanak i usavršavanje pojedinih vrsta, dok je njena praktična primjena omogućila poboljšanje brojnih primitivnih pasmina stoke te stvaranje novih plemenitih pasmina i sojeva. Upravo na tim saznanjima čovjek je stvorio dva glavna proizvodna cilja u govedarskoj proizvodnji, odnosno mliječne i mesne pasmine goveda. Genomska uzgojna vrijednost se može izračunati za oba spola u ranoj fazi života, a time i genomska selekcija može povećati profitabilnost i ubrzati genetsku dobit u uzgoju mliječnih goveda smanjenjem generacijskog intervala i troškova uzgoja bikova. Iz toga proizlazi da danas možemo odabirati bikove prema njihovim proizvodnim svojstvima na način da popravljamo proizvodna svojstva ili zadržavamo postojeću proizvodnju u stadu i osiguravamo da ta svojstva prenosimo na potomstvo (Kegalj i sur., 2015).

Nakon početnih selekcijskih zahvata, čovjek je uvidio da selekcijom može ostvariti veliki napredak u povećanju proizvodnje mlijeka. Proizvodnja mlijeka se iz godine u godinu povećavala, ali u tom trenutku su na površinu isplivali nedostaci jednostrane selekcije. Budući da je sva pažnja bila usmjerena na povećanje proizvodnje, pojavio se niz manjkavosti i bolesti poput: reproduktivnih poremećaja, bolesti nogu i papaka (laminitis), upala mliječne žlijezde (mastitis), bolesti metaboličkog sustava. Da bi se to pormijenilo, selekciju se usmjerilo u drugom smjeru i cilj je bio prilikom sparivanja životinja popravljati i/ili unaprjeđivati proizvodna i funkcionalna svojstva istovremeno (Kegalj i sur., 2015).

### 2.2.2.3. Hranidba

Hranidba je najvažniji negenetski čimbenik koji u glavnoj mjeri utječe na ukupnu količinu proizvedenog mlijeka kao i na njegov sastav. U ljetnim mjesecima kada se obroci baziraju na svježoj zelenoj krmi, krave proizvode veće dnevne količine mlijeka, a smanjuje se sadržaj mliječne masti i proteina. Tijekom zimskih mjeseci kada se hranidba bazira na sijenu, sjenaži i koncentratnim krmivima, sadržaj mliječne masti i bjelančevina u mlijeku je veći. Na velikim farmama u pravilu ne dolazi do variranja udjela mliječne masti i bjelančevina zbog utjecaja promjene obroka jer se kroz cijelu godinu koriste ujednačeni obroci. Naravno, odstupanja su moguća, ali tada ih pripisujemo stadiju laktacije, dobi životinje, estrusu, vanjskoj temperaturi (Domaćinović i sur., 2008).

Prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (NN, 27/2017) mlijeko mora udovoljavati sljedećim zahtjevima kakvoće:

- da sadrži najmanje 3%, a najviše 5,5% mliječne masti,
- da sadrži najmanje 2,5%, a najviše 4% bjelančevina,
- da sadrži najmanje 8,5 % suhe tvari bez masti,
- da mu gustoća ne smije biti niža od 1,028 g/cm<sup>3</sup> na temperaturi od 20 °C,
- da mu je kiselinski stupanj od 6,0 do 6,8 °SH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,7,
- da mu točka ledišta nije viša od -0,517 °C,
- da mu je rezultat alkoholne probe sa 72 % etilnim alkoholom negativan.

Prosječan kemijski sastav kravljeg mlijeka prikazan je u tablici Kao što je poznato mlijeko je nezamjenjiva namirnica jer ima izuzetno veliku prehrambenu vrijednost koja se zasniva na njegovom kemijskom sastavu, odnosno bjelančevinama, mastima, laktozi, vitaminima i mineralima.

## 2.3. Vitamini u mlijeku

Mlijeko je od davnina jedna od osnovnih namirnica čovjekove prehrane te ima svoje posebno mjesto u povijesno-društvenim fazama ljudske civilizacije. Smatra se da su stari Egipćani bili najveći konzumenti mlijeka, dok Grčka legenda kaže da je mliječni put nastao od

kapljica mlijeka kojima je Hera dojila Herkulesa. Navodno je Kleopatra svoju ljepotu održavala kupajući se u mlijeku. Mlijeko i sir bili su udomaćeni i u antičkom Rimu. Primjerice, oko 300. godine prije nove ere car Dioklecijan donio je pravilnik koji je regulirao kvalitetu i cijenu sira. Sirom su se na svojim osvajačkim pohodima krijepli i rimski vojnici, koji su narode u mnogobrojnim rimskim provincijama upoznali s tehnologijom dobivanja sira (Salque i sur., 2013). U kasnijim razdobljima srednjeg vijeka, centri mljekarstva i proizvodnje sira postali su mnogobrojni samostani, koji su sirom opskrbljivali plemićke dvorove i gradove. Mlijeko i sir bili su i baza samostanske prehrane, pa je iz starih izvora vidljivo da je tjedno svaki redovnik imao pravo oko kilogram sira (Salque i sur., 2013).

Potrošnja mlijeka u nekim od europskih zemalja prikazana je u tablici 2.2.3. Vodeći konzumenti mlijeka su skandinavske zemlje odnosno Finska i Švedska, dok se na začelju tablice nalazi Srbija ([www.agroklub.com](http://www.agroklub.com)). Ujedno, skandinavske zemlje imaju vodeće prosjeke u proizvodnje mlijeka po kravi koja za primjerice Finsku iznosi 8889 kg/laktaciji (<https://ec.europa.eu>).

Tablica 2.3. Potrošnja mlijeka po stanovniku

<b>Potrošnja mlijeka po stanovniku/godišnje (2018)</b>	
Finska	361,19 kg
Švedska	355,86 kg
Nizozemska	320,15 kg
Švicarska	315,78 kg
Grčka	314,69 kg
Slovenija	246 kg
Hrvatska	217 kg
Bosna i Hercegovina	196 kg
Srbija	155 kg

Izvor: [www.agroklub.com](http://www.agroklub.com)

Opći trend u zapadnoeuropskim zemljama je smanjenje potrošnje mlijeka i mliječnih proizvoda kao posljedica negativnih učinaka zasićenih masnih kiselina na srčane bolesti i pretilost. Međutim, treba naglasiti da je kravlje mlijeko i bitan izvor nekih mikronutrijenata, posebno vitamina kao što su retinol (vitamin A), riboflavin (vitamin B2) i kobalamini (vitamin B12) (Smilowitz i sur., 2005).

Različite studije koje su se bavile istraživanjem koncentracije mikronutrijenata u sastojcima hrane i prehrambenim navikama stanovnika u Francuskoj, Nizozemskoj i SAD-u slažu se da su mlijeko i mliječni proizvodi dobri izvori i među prvima koji doprinose unosu vitamina A, D, B2, B5, B9 i B12 u ljudski organizam (Drewnowski, 2011).

Razlike u koncentracijama vitamina u mlijeku rezultat su kombinacije njihovog specifičnog podrijetla (sastav hrane, sinteza mikroba u gastrointestinalnom traktu, endogena

sinteza u životinjskom tkivu) koja uvjetuje njihovu dostupnost životinji i njihov prijenos odnosno ugradnju u mlijeko, te regulatorne čimbenike kao što su probavni procesi, fiziološki status ili zdravlje životinje (Shea i Booth, 2008).

Povijesno gledano, vitamini su otkriveni i proučavani kao čimbenici zbog čijeg nedostatka u prehrani nastaju određene bolesti: vitamin C i skorbut, vitamin B3 i pelagra, vitamin D i rahitis. Danas su identificirane i okarakterizirane glavne bolesti koje su posljedica kliničkih nedostataka vitamina, a za svaki je vitamin predložen referentni unos odnosno preporučene dnevne količine ili RDA (eng. Recommended Dietary Allowances) potreban da bi se izbjegli simptomi kliničkog nedostatka (Shea i Booth, 2008).

### 2.3.1. Vitamini topivi u mastima (liposolubilni)

#### 2.3.1.1. Vitamin A

Vitamin A su u ranim 1900-tim otkrili McCollum i njegovi kolege na Sveučilištu Wisconsin, a samostalno Osborne i Mendel na Yaleu. Obje skupine proučavale su učinke dijeta iz pročišćenih proteinskih i ugljikohidratnih izvora, kao što su kazein i rižino brašno, na rast i preživljavanje mladih štakora. Primijetili su da je rast prestao i životinje su umrle osim ako je dijeta dopunjena maslacem, ribljim uljima ili količinom topljivom u eteru, ekstrahiranom iz tih tvari, iz mlijeka ili mesa. Nepoznata tvar je tada nazvana "topivim u mastima". Nedugo zatim, prepoznato je da žuti karoteni prisutni u biljnim ekstraktima imaju slična prehrambena svojstva, pa se pretpostavlja da ova karotenoidna frakcija može kroz metabolizam sintetizirati bioaktivni oblik topivog u masti A, koji se danas naziva vitamin A, u životinjskim tkivima (Wolf, 1996). Ulja od riblje jetre (pogotovo halibut, morski pas ili bakalar) su daleko najbogatiji izvori vitamina A, iako ne igraju veliku ulogu u ljudskoj prehrani. Proizvodi preživača su među glavnim izvorima retinola u ljudskoj prehrani, te se u goveđoj ili ovčjoj jetri nalazi 150 µg/g i 4-14 µg/g mliječne masti; žumanjak sadrži oko 4–9 µg/g. (FAO / WHO , 1988; Europska agencija za sigurnost hrane, 2008).

Zbog brojnih funkcija, vitamin A je opsežno proučavan i trenutno je vitamin za koji se najviše zna o staničnim i molekularnim putevima. Vitamin A se kombinira u različite oblike u mrežnici kako bi se omogućio vid u tami, procjenu svjetline i diferencijaciju plave, crvene i zelene boje. Regulira nekoliko stotina gena koji sudjeluju u diferencijaciji stanica, embriogenezi, imunološkoj funkciji, reprodukciji ili rastu, regulaciji živčanog sustava. Nedostatak karakterizira suhoća očnog epitela i degradacija tamnog vida. Također, simptomi produljenog nedostatka vitamina A su usporeni rast, anemija i smanjenje reproduktivne učinkovitosti koje utječe i na muškarce i na žene (Svjetska zdravstvena organizacija, 1995). Treba napomenuti da je vitamin A jedan od vitamina za koje višak može uzrokovati hipervitaminozu, što je rezultiralo time da je Znanstveni odbor za hranu odredio dopuštenu



gornju granicu unosa od 3000 µg ekvivalenta retinola kao prethodno proizvedenog vitamina A dnevno (Europska agencija za sigurnost hrane, 2008).

### *2.3.1.2. Vitamin D*

Pojam vitamin D obuhvaća približno 30 spojeva koji pripadaju obitelji kalciferola. Dva prekursorska oblika ovog vitamina su ergokalciferol (vitamin D<sub>2</sub>), sintetiziran u biljkama, i kolekalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) proizveden u koži životinja pod djelovanjem ultraljubičastog svjetla (Holick i Chen, 2008). Rahitis, uzrokovan nedostatkom vitamina D, smatra se da je postojala još u antičko doba. Postoje dokazi da se rahitis pojavio u neandertlskog čovjeka oko 50.000 godina prije Krista. Prvi znanstveni opisi rahitisa napisao je dr. Daniel Whistler 1645. godine i profesor Francis Glisson 1650. godine. Rahitis je postao zdravstveni problem u sjevernoj Europi, Engleskoj i Sjedinjenim Državama tijekom industrijske revolucije kada su mnogi ljudi živjeli u urbanim područjima sa onečišćenim zrakom i malo sunčeve svjetlosti (Norman, 1979). Smatra se da vitamin D ima hormonsku aktivnost, djelujući preko specifičnog nuklearnog receptora kako bi postigao svoje različite funkcije.

Glavna uloga vitamina D je regulacija dostupnost kalcija u cijelom tijelu. To se postiže na tri načina: (i) stimulacija apsorpcije kalcija u crijevu, (ii) mobilizacija osteoklastične aktivnosti u kostima, (iii) reapsorpcije kalcija u bubrezima. Općenito se smatra da se vitamin D slabo unosi hranom jer se obično ne nalazi u biljkama i prisutan je u ograničenim količinama u proizvodima životinjskog podrijetla (DeLuca, 2004).

Autori (Holick & Chen, 2008.) navode da morski organizmi (ribe i školjke) imaju prirodno najviši sadržaj vitamina D. Tako, primjerice divlji losos može sadržavati do 1000 IU/100 g, dok punomasno kravljje mlijeko (3,25% masti, s dodatkom vitamina D), sadržaj oko 500 IU/L vitamina D. U nekoliko studija je proučavana relativnoj aktivnosti vitamina D odnosno svakog spoja iz kalciferola. Koncentracije su varirale od 43–322 ng/L za vitamin D<sub>3</sub> do 145-685 ng/L za 1,25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>, 4,2–5,4 ng/L za 1,25-dihidroksi vitamina D<sub>3</sub> i 27–45 ng/L za 24, 25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> kada su krave primile između 4000 i 40 000 IU/dan vitamina D<sub>3</sub> u obroku (Hollis i sur., 1981; Reeve i sur., 1982.).

### *2.3.1.3. Vitamin E*

Vitamin E je jedinstven jer se smatra vitaminom bez specifične funkcije. Ostali vitamini su kofaktori, hormoni ili imaju specifičnu ulogu u metabolizmu. Simptomi nedostatka vitamina E su različiti jer je glavna funkcija vitamina E kao antioksidansa topljivog u lipidima. Dakle, simptomi nedostatka vitamina E ovise o sadržaju α-tokoferola, unosu i prometu, kao i osjetljivosti i stupnju oksidativnog stresa u danom tkivu (Buettner, 1993). Vitamin E je najvažniji liposolubilni antioksidans za ljudsko zdravlje. Štiti polinezasićene masne kiseline od oksidacije u staničnim membranama i lipoproteina u plazmi. To je osobito važno kod

novorođenčadi za pravilan razvoj i funkcioniranje neurona, ali također pomaže u sprečavanju razvoja psihičkih bolesti kod odraslih (Bramley i sur., 2000; Debier i sur., 2005).

Glavni izvori vitamina E u prehrani ljudi su biljna ulja (pšenične klice, sjemenke suncokreta, uljane repice, kikiriki, masline), žitarice (pšenica, ječam), orasi (bademi), zeleno povrće (špinat, kupus) i voće (kupine, rajčice), avokado, crni ribiz (Bramley i sur., 2000). Životinjski proizvodi sadrže relativno niske koncentracije vitamina E, a koncentracije prijavljene u kravljem mlijeku variraju između 0,2 i 1,0 mg/L (Baldi, 2005; Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država, 2012). Glavni oblik vitamina E u kravljem mlijeku je  $\alpha$ -tokoferol (84–92%), a slijede  $\gamma$ -tokoferol i  $\alpha$ -tokotrienol (Baldi, 2005). Eksperimentalni uvjetovan nedostatak vitamina E proveden na laboratorijskim životinjama pokazao je smanjenje reproduktivne učinkovitosti, mišićne distrofije, eksudativne dijateze, megaloblastoze, plućne degeneracije i nekroze jetre (Bjorneboe i sur., 1990; Bramley i sur., 2000).

#### 2.3.1.4. Vitamin K

Vitamin K je četvrta i manje poznata skupina vitamina topljivih u mastima. Vitamin K1, koji se naziva i filokinon, ima C20 lanac, dok je u skupini vitamina K2, menakinon (MK-n), bočni lanac sastavljen od varijabilnog broja ( $n = 4-13$ ). Vitamini K1 i K2 imaju različito biološko podrijetlo budući da je filokinon tj. K1 jedini oblik koji sintetiziraju biljke, a K2 proizvode bakterije u probavnom traktu ljudi i životinja (Van Winckel i sur., 2009). Vitamin K je prvi put otkriven tridesetih godina prošlog stoljeća i poznat je po svojim antihemoragičnim svojstvima. Dobro je poznato da vitamin K sudjeluje u hemostazi kroz faktore zgrušavanja, te kroz proteine koje proizvodi jetra. Ovaj je vitamin također uključen u homeostazu kalcija, inhibira apoptozu i regulira prijenos signala i razvoj rasta (Berkner, 2005; Van Winckel i sur., 2009).

Filokinon je glavni prehrambeni oblik vitamina K koji se uglavnom nalazi u zelenom lisnatom povrću (nekoliko stotina mikrograma na 100 g), ali i u ne lisnatom povrću i biljnim uljima. Kravlje mlijeko sadrži male količine filokinona (0,6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ), MK-4 i vrlo niske koncentracije drugih menakinona. U mliječnim proizvodima, kao što su sirevi, otkrivene su značajne koncentracije MK-8 i MK 9 (5-10  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  odnosno 10-20  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) koje su rezultat sinteze bakterija tijekom procesa fermentacije (Shearer i sur., 1996). Preporučene dnevne potrebe za vitaminom K iznose 1 $\mu\text{g}/1\text{kg}$  tjelesne mase (Van Winckel i sur., 2009).

### 2.3.2 Vitamini topivi u vodi (hidrosolubilni)

#### 2.3.2.1. Vitamin B1

Vitamin B1, koji se također naziva tiamin ili aneurin, sintetiziraju biljke, kvasci i bakterije (Roje, 2007). U goveda tiamin na dnevnoj bazi sintetizira buragova mikroflora, procjenjuje se da je to između 28 i 72 mg/dan (Breves i sur., 1981). Nakon apsorpcije, tiamin

se fosforilira enterocitima u svoj aktivni oblik, koenzim tiamin pirofosfat (ili tiamin difosfat). U gotovo svim stanicama, to je kofaktor enzima uključenih u nekoliko oksidativnih dekarboksilacija u staničnom energetskom metabolizmu u Krebsovom ciklusu (Depeint i sur., 2006a).

Neki od najboljih dijetetskih izvora tiamina su ekstrakt kvasca, iznutrice, svinjetina i pršut, pšenične klice i pšenične mekinje, većinu orašastih plodova i neke mahunarke (Food and Nutrition Board, 1998). Srednja koncentracija tiamina u neobranom kravljem mlijeku iznosi 0,46 mg/L. Za odrasle osobe RDA iznosi 1,2 mg/dan za muškarce i 1,1 mg/dan za žene (Ministarstvo poljoprivrede SAD-a, 2012). Stoga, mlijeko nije presudan izvor tiamina u ljudskoj prehrani. U odraslih, dugotrajni manjak tiamina uzrokuje prvo gubitak apetita sve dok ne dođe do kardiovaskularnih i neuroloških problema. U goveda se nedostatak vitamina tiamina u pravilu neće dogoditi jer ga sintetiziraju mikroorganizmi u buragu (Allen, 2003).

#### 2.3.2.2. Vitamin B2

Vitamin B2 je poznat kao riboflavin, ali se također naziva laktoflavin, vitamin G ili laktokrom. Kao i tiamin, riboflavin sintetiziraju biljke i mikroorganizmi. Sisavci ovise o unosu ovog vitamina hranom (Roje, 2007). U preživača on se skoro u potpunosti sintetizira u buragu (National Research Council, 2001). Simptomi nedostatka riboflavina su u pravilu uvijek povezani s deficitom drugih mikrohranjiva te nikada sam neće uzrokovati velike zdravstvene poremećaje. Primjer navedenog su golitis, dermatitis i stomatitis koji se povezuju s nedostatkom riboflavina. Najznačajniji prehrambeni izvori riboflavina danas su meso i mesni proizvodi, uključujući perad i ribu, te mlijeko i mliječni proizvodi, kao i jaja. U zemljama koje su u razvoju, unos riboflavina se odnosi na unos putem hrane biljnog podrijetla. Zeleno povrće, kao što su brokula, zeleno lisnato povrće i repa, jako su dobri izvori riboflavina (Rivilin, 1994). Koncentracija riboflavina u cjelovitom kravljem mlijeku iznosi 1,69 mg/L (Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država, 2012). Preporučena dnevna vrijednost za odrasle je 1,3 mg/dan za muškarce i 1,1 mg/dan za žene (Dietary references intakes, 1998).

#### 2.3.2.3. Vitamin B3

Skupina vitamina B3, poznatiji kao niacin, sastoji se od piridin-karboksilnih kiselina i njihovih derivata (Roje, 2007). Zbog nedostatka vitamina B3 ili niacina u 18. stoljeću masovno je bila raširena paleagra, uzrokovane nedostatkom vitamina B3. Glavni simptom bolesti bio je proljev zatim psihičke poremetnje, dermatitis i vrlo često smrt pacijenata (Prousky, 2003). Niacin je u biljnim proizvodima uglavnom prisutan u obliku nikotinske kiseline, iako veći dio postoji u slabo vezanim oblicima (Mason, 1973). Niacin u nezrelom kukuruzu mnogo je biodostupniji (Carpenter, 1988), dok je u zreloom kukuruzu biodostupnost oko 35% (Carter, 1982).

Potrebe mliječnih krava za ovim vitaminom su podmirene jer ga sintetiziraju mikroorganizmi buraga. U ljudskoj prehrani, glavni izvori niacina su meso (prije svega jetra,

riba i perad), proizvodi na bazi žitarica, kruh, mlijeko i zeleno lisnato povrće (Allen, 2003). Referentna vrijednost za predformirani niacin u kravljem mlijeku je 0,89 mg/L (Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država, 2012). Vrijednost RDA bila je postavljena na 12-16 mg/dan za muškarce i 12-14 mg/dan za žene (Dietary references intakes, 1998).

#### *2.3.2.4. Vitamin B5*

Vitamin B5 je poznatiji kao pantotenska kiselina. Mogu ga sintetizirati biljke i mikroorganizmi, ali ne i životinje (Roje, 2007). Pantotenska kiselina (B5), srž je strukture koenzima A (CoA), esencijalnog kofaktora u procesima oksidativnog disanja, metabolizam lipida i sintezi mnogih sekundarnih metabolita kao što su steroidi, acetilirani spojevi (npr. acetilirane aminokiseline, ugljikohidrati), prostaglandini i spojevi slični prostaglandinu (Chantrenne, 1950; Lipman, 1950, 1953).

Piletina, govedina, krumpir, zobene žitarice, rajčice, jaja, brokula i cjelovite žitarice glavni su izvori pantotenske kiseline (Schroeder, 1971; Walsh, 1981) Smatra se da manjak pantotenske kiseline dovodi do stanja opće slabosti. Pantotenska kiselina je općenito sigurna, čak i pri ekstremno visokim dozama. Višak se uglavnom izlučuje urinom. Vrlo visoke oralne doze pantotenske kiseline mogu biti povezane s proljevom i gastrointestinalnim poremećajima (Bender, 1999; Tahiliani i Beinlich, 1991). Ne postoji dnevna preporučena količina vitamina B5, već samo predložena od 5 mg/dan za prosječnu odraslu osobu (Scientific Committee on Food, 2002).

#### *2.3.2.5. Vitamin B6*

Vitamin B6 je skupina od tri spoja koji se u strukturi razlikuju za jednu skupinu. Ova skupina može biti alkohol (piridoksin), aldehid (piridoksal) ili amin (piridoksamin). Sva tri su prekursori piridoksal-5' fosfata (P5P), kofaktora brojnih enzima uključenih u metabolizam aminokiselina. Kao i druge vitamine B skupine, vitamin B6 mogu sintetizirati biljke i mikroorganizmi, a njegova sinteza u buragu je ograničena (Depeint i sur., 2006b).

Srednje koncentracije vitamina B6 u mlijeku su prilično stabilne i iznose oko 0,36 mg/L (Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država, 2012). Klinički nedostaci vitamina B6 rijetko se javljaju zbog raširene pojave prisutnosti u hrani. Klinički simptomi povezani s nedostatkom vitamina B6 su epileptički napadaji, anemija, zatajenje bubrega i dermatitis. Preporučeni dnevni unos je od 1,3-1,7 mg/dan za odrasle muškarce i 1,2-1,5 mg/dan za žene. Akutna toksičnost vitamina je niska, ali dugotrajno izlaganje visokim dozama može dovesti do neuropatije (Depeint i sur., 2006b). Prerada hrane, uključujući toplinsku sterilizaciju, rezultira gubitkom aktivnosti vitamina (Coursin, 1954).

#### 2.3.2.6. Vitamina B9

Vitamin B9 poznat je i kao folna kiselina. Izolacija, identifikacija strukture i sinteza folne kiseline, koja se dogodila 1940-ih, dovela je do široke terapijske primjene ovog vitamina topivog u vodi za liječenje megaloblastične anemije (Bailey, 2007). U prirodi, folna kiselina je prisutna kao dihidrofolat ili tetrahidrofolat (THF), supstituirana je različitim skupinama s jednim ugljikom i posjeduje jedan do sedam glutamatnih ostataka u bočnom lancu (poliglutamatni oblik). Folnu kiselinu sintetiziraju biljke i mikroorganizmi (Roje, 2007). Istraživanjem je utvrđeno da su krave kojima se dodavala folna kiselina u obrok povećale proizvodnju mlijeka što se direktno povežalo sa mikroorganizmima u buragu odnosno da u nedovoljnoj mjeri sintetiziraju folnu kiselinu (Santschi i sur., 2005; Schwab i sur., 2006).

Glavni izvori folata u ljudskoj prehrani su zeleno povrće, žitarice, voće, jaja i jetra. Koncentracije u kravljem mlijeku su 50–90 µg/L (Forssén i sur., 2000; Podaci o sastavu hrane USDA, citirani od Haug i sur., 2007). Preporučeni dnevni unos folata je 400 µg/dan i za muškarce i za žene, ali se ta razina povećava na 500 µg/dan kod žena tijekom dojenja i 600 µg/dan tijekom trudnoće (Dijetetski referentni unosi, 1998).

#### 2.3.2.7. Vitamin B12

Vitamin B12 ili kobalamin se razlikuje od ostalih B vitamina po tome što ga ne mogu sintetizirati životinje niti biljke, već samo bakterije mogu proizvesti kobalamine. Korinoidi su cikličke molekule koje sadrže strukturnu jezgru, čiji središnji metalni dio čini kobalt, a ne željezo (Herbert, 1988). Upravo iz tog razloga potječe naziv kobalamin za ovaj vitamin.

Kod ljudi se kobalamini unosi isključivo prehranom, uglavnom iz sastojaka hrane životinjskog podrijetla, kao što su mlijeko i mliječni proizvodi, mesa, peradi, jaja i ribe. Kravlje mlijeko osigurava prosječno 4,5 µg/L vitamina B12 (Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država, 2012) i za to su zaslužni mikroorganizmi koji ga sintetiziraju. Procijenjeno je da bi mliječnim kravama bilo potrebno 0,34–0,68 µg kobalamina po kilogramu tjelesne mase i na taj način podmirilo ukupne proizvodne potrebe (National Research Council, 2001).

#### 2.3.2.8. Vitamin C

Askorbinska kiselina (vitamin C) igra ulogu redoks kofaktora i katalizatora u širokom rasponu biokemijskih procesa. Vitamin C je označen kao askorbinska kiselina zbog svoje sposobnosti liječenja i sprečavanja skorbuta. Skorbut je imao izravan utjecaj na ljudsku populaciju. Skorbut je bio problem u mnogim područjima tijekom 17. pa sve do 19. stoljeća (Bown, 2005). Ovaj se vitamin sintetizira u svim zelenim biljkama, u jetri nekih sisavaca (uključujući goveda), u bubregu ptica i gmazova, ali ne i u beskralješnjacima. Međutim, kod ljudi i primata ne može se proizvesti zbog nedostatka posljednjeg enzima u procesu sinteze (FAO / WHO, 2001).

Vitamin C se mora unositi putem hrane kako bi se izbjegli nedostaci i njihove posljedice, uključujući skorbut, koje karakteriziraju promjene gingive, bol u ekstremitetima, hemoragične događaje, ulceracije i smrt. Preporučena dnevna vrijednost je fiksna na 90 mg/dan za muškarce i 75 mg/dan za žene (Dijetetski referentni unosi, 2000). Potrebe se mogu lako pokriti konzumacijom voća (uglavnom citrusa i rajčica) i povrća (zelenih lisnatih). Kravlje mlijeko može biti komplementarni izvor s obzirom da sadrži između 17 i 23 mg/L vitamina C (Graham, 1973; Hidiroglou i sur., 1995; Weiss, 2001; Weiss i sur., 2004).

## **2.4. Čimbenici koji utječu na sadržaj vitamina u mlijeku**

Do sada su provedene brojne studije koje su proučavale kako dodavanje vitamina u obrok mliječnih krava utječe na proizvodnju, imunitet, reprodukciju i opće zdravstveno stanje organizma. Najviše je proučavan vitamin A, dok su drugi vitamini proučavani u manjoj mjeri. Koncentracija vitamina A i E, te  $\beta$ -karotena u mlijeku direktno se povezuje s koncentracijom tih istih vitamina u hrani. Upravo iz toga može se zaključiti da koncentracija tih vitamina nije ista tijekom godine, varijabilna je odnosno prati promjene zimsko-ljetnog perioda godine. Također, na velikim mliječnim farmama krava gdje se hranidba kroz cijelu godinu u pravilu ne mijenja i konstantna je te se bazira na kukuruznoj silaži, travnoj sjenaži i dopuna obroka koncentratima, navedena tvrdnja i promjene koncentracije vitamina A, E i  $\beta$ -karotena ne vrijede (Calderón i sur., 2007; Nozière i sur., 2006).

### **2.4.1. Utjecaj hranidbe na sadržaj vitamina u mlijeku**

Kao što je već spomenuto, hranidba uvelike utječe na koncentraciju vitamina u mlijeku. Posebice se to odnosi na vitamine topive u mastima, dok za vitamine topive u vodi odnosno vitamine B kompleksa u određenoj mjeri sintetiziraju mikroorganizmi buragove mikroflore.

Nozière i sur. (2006) navode da postoji veza između unosa  $\beta$ -karotena hranom i koncentraciji u mlijeku. Promjene u unosu karotenoida krmom uglavnom objašnjavaju razlike u koncentracijama u kravljem mlijeku koje su hranjene različitim vrstama krme i/ili različitim omjerima voluminoznog i koncentratnog dijela obroka. Svježja voluminozna krma je daleko najbogatiji izvor karotenoida (1200  $\mu\text{g/g ST}$ ) i vitamina E (250  $\mu\text{g/g ST}$ ) među krmivima koja se uobičajeno koristi u prehrani mliječnih krava. Međutim, sadržaj karotenoida varira ovisno o botaničkom sastavu pašnjaka. Pašnjaci bogati mahunarkama i proteinskom voluminoznom krmom sadrže manji udio karotenoida od pašnjaka sa uglavnom jednogodišnjim i višegodišnjim travama (600 naspram 1200  $\mu\text{g/g ST}$ ) (Nozière i sur., 2006; Graulet i sur., 2012). Mlijeko s najvećom koncentracijom  $\beta$ -karotena obično se proizvodi tijekom proljeća i ljeta u krava koje borave na paši, jedući svježju travu. Naime, u mlijeku krava Holstein i Montbeliarde pasmine koje su boravile na ispaši, utvrđene su koncentracije od 5–6  $\mu\text{g/g}$  masti za  $\beta$ -karoten i retinol (Nozière et al., 2006) i 0,63  $\mu\text{g/mL}$  za vitamin E (Martin i sur., 2004). Ove vrijednosti

su se smanjile (između 2,5 i 2,8  $\mu\text{g/g}$  masti za  $\beta$ -karoten i retinol i 0,48  $\mu\text{g/mL}$  za vitamin E) kada se hranidba temeljila na suhoj voluminoznoj krmi odnosno sijenu, ili kukuruznoj silaži koje sadrže manje koncentracije  $\beta$ -karotena i vitamina E. Isto, vrlo važno je spomenuti da se uvelike mijenja koncentracija  $\beta$ -karotena kada se hranidba krava bazira na koncentratima. Kada je udio koncentrata u prehrani veći, primjerice tijekom zime ili u intenzivnim sustavima, unos karotenoida je uglavnom niži, kao i koncentracija karotenoida u mlijeku u usporedbi s mlijekom iz razdoblja proljeća i ljeta ili ekstenzivne proizvodnje (Martin i sur., 2004; Hulshof i sur., 2006; Agabriel i sur., 2007).

Dakle, udio  $\beta$ -karotena u hranidbi uvelike utječe na njegovu koncentraciju u mlijeku kao i koncentraciju retinola. Danas se ta saznanja koriste kako bi se utjecalo na koncentraciju ovih vitamina u mlijeku. Stoga se u obroke krava dodaju vitaminsko-mineralni dodaci kojima je cilj namiriti uzdržne i proizvodne potrebe krava. Za vitamine B kompleksa važno je istaknuti da nisu dovoljno istraženi i definitivno su vrijedni pažnje. Opće je poznato da je godišnja proizvodnja po kravi unazad 20-tak godina znatno povećana, upravo iz toga razloga postavlja se pitanje da li mikroorganizmi buragove mikroflore i dalje mogu pratiti proizvodne potrebe suvremenih mliječnih krava. Istraživanja koja su provedena bazirala su se na dodavanju vitamina u obrok mliječnih krava i promatralo se u kojoj količini su se ugradili u mlijeko. Količina vitamina koja se je ugradila u mlijeko je neznatna, a to se pripisuje buragu odnosno mikroorganizmima koji su "pojeli" te vitamine. Stoga, smatra se potrebnim provesti istraživanje s ciljem potpunog proučavanja buraga, mikroorganizama i vitamina B kompleksa te njihovu korelaciju sa sintezom mlijeka (Park i Haenlein, 2013).

#### 2.4.2. Utjecaj nehranidbenih čimbenika na sadržaj vitamina

Pasmina i genetika su dva najvažnija nehranidbena čimbenika koja utječu na sadržaj vitamina u mlijeku. Uz pasminu i genetiku u nehranidbene čimbenike ubrajamo i stadij laktacije, zdravstveno stanje vimena, ukupnu proizvodnju mlijeka i opće zdravstveno stanje organizma. Kao i kod čimbenika ishrane tako i u ovoj kategoriji najviše istraživani vitamin je upravo vitamin A.

Među mliječnim pasminama goveda zabilježene su velike razlike u koncentraciji  $\beta$ -karotena, posebno kada se hrani hranom bogatom karotenoidima. Mliječne krave Jersey i Guernsey pasmine proizvode mlijeko dvostruko do trostruko većih koncentracija karotena nego krave Holstein-Friesian, Brown Swiss, Ayrshire ili Shorthorn pasmine (Nozière i sur., 2006). Također, navodi se da su koncentracije karotenoida i retinola mnogo više u kolostrumu (tijekom prvih 3-4 dana laktacije) nego u mlijeku (Nozière i sur., 2006), dok je u mlijeku pantotenska kiselina u jako niskoj koncentraciji dan nakon teljenja, ali se brzo povećava do maksimalnih vrijednosti između 4. i 14. dana laktacije (Ragaller i sur., 2011).

Fiziološki izvori varijabilnosti između životinja iste pasmine mogu biti izravni odnosno putem genetski određenog prijenosa spojeva iz probavnog trakta u mlijeko (na razini

intestinalne apsorpcije, stanične konverzije karotena, apsorpcije plazme od mliječne žlijezde itd.) ili indirektno putem prinosa mlijeka i mliječne masti (učinkom koncentracije razrjeđenja). Utvrđeno je da je koncentracija  $\beta$ -karotena u mliječnoj masti niža je za mliječne krave koje su u drugoj laktaciji u usporedbi s kravama prvotelkama, ali se nakon toga povećava s brojem laktacije. U tom slučaju pokazalo se da je koncentracija  $\beta$ -karotena obrnuto proporcionalno s prinosom mlijeka i pozitivno povezano sa sadržajem mliječne masti (Nozière i sur., 2006).

## 2.5. Boja mlijeka

Boja mlijeka je pored izgleda, okusa, arome i teksture jedno od senzornih svojstava mlijeka na osnovu kojega kupci često donese odluku o kupnji mlijeka odnosno skloniji su kupiti mlijeko koje izgleda žuće ili manje žuto (Wadhvani i McMahon, 2012). Svjetloća mlijeka prikazuje se parametrom  $L^*$ , crveno-zeleni spektar boja obuhvaćen je parametrom  $a^*$ , dok žuto-plavi spektar boja je iskazan parametrom  $b^*$ . Na boju mlijeka utječu brojni čimbenici među koji su pasmina, stadij laktacije i redosljed laktacije, vrijeme mužnje, zdravstveno stanje vimena te hranidba odnosno dostupnost pašnjaka i sezonska variranja u sastavu obroka (Scarso i sur., 2017).

Pored razlika u sastavu mlijeka odnosno udjelu pojedinih komponenti suhe tvari u mlijeku krava različitih pasmina, postoje pasminske razlike i u boji mlijeka (Scarso i sur., 2017). Utvrđeno je sa mlijeko krava Jersey pasmine ima veću vrijednost parametra boje  $b^*$  (izraženiju žutu boju) u odnosu na mlijeko drugih pasmina (Holstein, Montbeliarde, Norwegian Red i njihove križance) (Scarso i sur., 2017). Također, utvrđeno je da udio karotenoida i vitamina E u mlijeku utječe na boju mlijeka (Calderon i sur., 2007).

## 2.6. Jersey pasmina

Mljekarska industrija zakoračila je u novo doba u kojemu više količina mlijeka nije od presudne važnosti. Naime, zahtjeva se besprijekorna kvaliteta mlijeka kao i njegovih prerađevina. Isto tako, sve više je potrošača koji traže kvalitetan i ukusan proizvod i upravo iz tog razloga tržište je preplavljeno različitim proizvođačima i dobavljačima mlijeka i mliječnih proizvoda (<http://www.usjersey.com>).

Tablica 2.5.1. Proizvodni pokazatelji različitih mliječnih pasmina

Pokazatelj	Jersey	Holstein	Brown swiss
Dob kod prvog teljenja (mjeseci)	25,8	26,8	28,1
Završene laktacije u dobi do 5 godina	2,3	2,1	2,0
Mjeseci u proizvodnji (5 godina)	24,4	22,7	21,5
Trajanje laktacije (dana; 5.laktacija)	633	592	554
Krave koje ostaju u proizvodnji duže od 5 godina	45%	38%	42%

Izvor: Garcia-Peniche i sur. (2006)



Kao što je vidljivo iz tablice 2.5.1., krave Jersey pasmine se u mnogo čemu razlikuju od drugih mliječnih pasmina krava. U ranijoj dobi ulaze u laktaciju i iz toga dolazi i podatak da imaju više laktacija u dobi od 5 godina. Podatak koliko krava je u dobi od 5 godina i dalje u proizvodnji je izuzetno važan i ukazuje na to da unatoč intenzivnim načinima držanja krave Jersey pasmine u prosjeku duže vremena se zadržavaju u proizvodnji (Garcia-Peniche i sur., 2006).

#### 2.5.1. Povijest pasmine Jersey

Jersey pasmina porijeklom je sa istoimenog otoka Jersey koji se nalazi u britanskom dijelu Engleskog kanala nedaleko od obale Francuske. Među najstarijima je mliječnim pasminama i kao čistokrvna pasmina se u Engleskoj vodi već skoro šest stoljeća. Pasmina je poznata u Engleskoj od 1771. godine i smatra se najisplativijom pasminom za proizvodnju mlijeka i maslaca. Prvotno ime ove pasmine krava bilo je Alderney, tek kasnije je dobila ime Jersey. Kako za ekstenzivan način, ova pasmina pogodna je i za intenzivnu proizvodnju. U usporedbi s drugim pasminama otpornija je na visoke temperature i upravo zbog tih karakteristika smatra se pogodnom u križanjima radi postizanja bolje otpornosti krava (Teodoro i Madalena, 2003).

Internetska stranica „Jersey cows“ navodi kako čistokrvna Jersey pasmina obitava u tom krajoliku već više od 200 godina. Vrlo važno za spomenuti je i to da se svaka krava u svijetu Jersey pasmine prema podacima pedigrea može povezati s prvim kravama te pasmine koje potječu otoka Jersey i to zahvaljujući izvornoj matičnoj knjizi osnovanoj 1863. godine od strane Royal Jersey Agricultural & Horticultural Society. Sada ima više od 30 stada Jersey krava diljem otoka, s procijenjenim brojem od oko 3000 krava (<https://www.jersey.com/jersey-cows>).

#### 2.5.2. Izgled pasmine Jersey

Krave Jersey pasmine tipično su svijetlo smeđe boje, iako boja može varirati od sive do tamno crne boje, koja je poznata kao Mulberry. Također, goveda Jersey pasmine mogu imati i bijele mrlje na većem dijelu tijela. Izvorni Jersey će, međutim, uvijek imati crni nos omeđen gotovo bijelom njuškom. Karakteristika pasmine su i duge žilave noge sa tvrdim crnim papcima koje krave zbog čega u krave ove pasmine mnogo manje sklone pojavi šepavosti. Tjelesna masa krava Jersey pasmine je oko 400 do 450 kg te imaju fini, ali snažan okvir (<http://www.thecattlesite.com>).

Jersey krave proizvodi više mlijeka po kilogramu tjelesne mase od bilo koje druge pasmine mliječnih krava. Većina Jersey krava proizvodi i do 13 puta veću količinu mlijeka od svoje tjelesne mase. Kao pasmina izuzetno je pogodna za ispašu, znatno tolerantnija na sušu i visoke temperature okoliša (<https://www.jersey.com/jersey-cows>).



Slika 2.5.2.1. Krava Jersey pasmine

Izvor: <https://domesticanimalbreeds.com/jersey-cattle-breed-everything-you-need-to-know/>

Američka organizacija uzgajivača Jersey goveda (American Jersey Cattle Association) navodi da sve što trebate i želite za uspješnu mliječnu proizvodnju možete pronaći u Jersey pasmini. Jersey krave se mogu adaptirati u različite uvijete držanja, kao i obitavati u malim ili većim brojem jedinki u stadu. Također, vrlo važno za spomenuti je prilagodljivost na različite uvjete i načine hranjenja, i naravno izuzetno važno prilagodljive na različite klimatske uvjete. Također, Jersey pasmina je ranozrelija od primjerice krava Holstein Friesian pasmine. Krave ove pasmine ranije ostaju gravidne, ali i s manjom tjelesnom masom ulaze u prvu laktaciju. Studije koje su provedene u Virginiji pokazuju da čistokrvne junice Jersey pasmine već u dobi sa 10 mjeseci starosti završavaju fazu puberteta što je kraće za 8 tjedana od junica Holsteina Friesian pasmine (<https://www.jersey.com/jersey-cows>).

Jersey pasmina goveda je kao stvorena za ove uvjete proizvodnje mlijeka kakvi se danas traže. Jersey proizvodi mlijeko koje je pogodnije za ljudsku konzumaciju. U usporedbi s drugim mlijekom u čaši mlijeka krava Jersey pasmine i 15 do 20% više proteina, 15 do 18% više kalcija, 10 do 12% više fosfora, te ne manje važno više esencijalnih vitamina, poput vitamina B12 (<http://www.usjersey.com>).

### 3. Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na farmi Eko Vedrine d.o.o., smještenoj u Ličko-senjskoj županiji na području grada Gospića, naselje Medak. Na farmi se uzgaja 147 grla goveda Jersey pasmine različitih kategorija: 77 krava, 36 junica, 23 ženska i 2 muška teleta te četiri bika. Proizvodnja mlijeka je osnovno i primarno proizvodno usmjerenje.

Krave su smještene u tzv. kompost staji, objektu u kojemu se koristi piljevina drveta za steljenje. Feces i urin pomiješani sa piljevinom fermentiraju te se nakon četiri mjeseca dobiveni kompost izvozi iz objekta i koristi kao organsko gnojivo na oraničnim površinama. Junice, junad i telad su smješteni u objektima s grupnim boksevima steljenim slamom.

Hranidba mliječnih krava u laktaciji na farmi organizirana je na način da se izmjenjuje tri vrste obroka tijekom godine. Stajski obrok primjenjuje se tijekom zimskih mjeseci (listopada, studenog, prosinac, siječanj, veljača i ožujka) i sastoji se od sljedećih krmiva:

Tablica 3.1. Stajski obrok za krave u laktaciji

Vrsta krmiva	Kg/kravi
Livadno sijeno	3,0
Sjenaža lucerne	17,0
Kukuruz	4,5
Zob	1,28
Stočno brašno	1,0
Pšenica	0,85
Sojina sačma	1,0
Sačma suncokreta	1,0
Premiks (minerali)	0,18
Stočna sol	0,07
Sladoliq	1,0

Prijelazni obrok se primjenjuje tijekom travnja, srpnja, kolovoza i rujna kada krave borave pola dana na pašnjaku, a pola dana u staji jer količina i kvaliteta biljnih zajednica pašnjaka ne može namiriti proizvodne potrebe krava u laktaciji. Prijelazni obrok sastoji se od sljedećih krmiva:

Tablica 3.2. Prijelazni obrok za krave u laktaciji

Vrsta krmiva	Kg/kravi
Livadno sijeno	3,0
Sjenaža lucerne	9,0
Kukuruz	3,0
Zob	1,35
Pšenica	0,85
Sojina sačma	0,60
Premiks (minerali)	0,15
Stočna sol	0,07
Sladoliq	0,60

Tijekom pašne sezone (svibanj, lipanj) kao nadohrana na pašnjaku se primjenjuje obrok sljedećeg sastava:

Tablica 3.3. Nadohrana na krave u laktaciji tijekom pašne sezone

Vrste krmiva	Kg/kravi
Kukuruz	6,0
Zob	1,5
Stočno brašno	2,0
Pšenica	1,5
Premiks	0,15
Stočna sol	0,07

Vrsta obroka (stajski, prijelazni, pašni) na predmetnoj godini varira od godine do godine i ovisi o vremenskim prilikama odnosno porastu trava na pašnjacima te količini oborina i sušnih dana. Pitka voda je svim grlima dostupna po volji, u objektima pomoću automatskih pojilica, kravama na paši preko valova.

### 3.1. Uzorkovanje mlijeka i analize mlijeka

Krave u laktaciji na farmi Eko Vedrine d.o.o su u sustavu kontrole mliječnosti te se uzorkovanje mlijeka za potrebe kontrole mliječnosti obavlja jednom mjesečno, uglavnom krajem mjeseca. Za potrebe određivanja koncentracije  $\beta$ -karotena i retinola provedeno je na dan kontrole mliječnosti uzimanje skupnih uzoraka mlijeka u periodu od svibnja 2018. godine do travnja 2019. godine.

U sterilne epruvete je uzeto 200 mL skupnog mlijeka iz laktofriza te pohranjeno na -20°C do analiza. Analiza uzoraka mlijeka provede su u laboratoriju Zavoda za hranidbu

Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Ekstrakcija karotenoida iz mlijeka provedena je prema metodi opisanoj u radu Hulshof i sur. (2006) i Noziere i sur. (2006).

Uzorci su odmrznuti nakon čega je 2 mL alikvota u duplikatu otpipetirano u staklene epruvete za centrifugiranje. U svaku epruvetu je otpipetirano 1 mL destilirane vode, 2 mL etanola i 2 mL heksana. Uzorci su vorteksirani te centrifugirani 10 minuta pri 4000 okretaja. Gornji dio organske faze prikupljen je kapaljkom i odvojen u plastičnu epruvetu od 50 mL, a postupak je ponovljen do obezbojenja. U organsku fazu otpipetirano je zatim 2 mL 15% otopine NaOH u etanolu te je smjesa ostavljena na saponifikaciji preko noći. Organska faza je potom isprana vodom, u svaku epruvetu dodano je 6 mL vode, smjesa je vorteksirana i centrifugirana 5 minuta pri 4000 rpm. Nakon centrifugiranja odvojen je vodeni dio faze te je postupak ponovljen tri puta kako bi se iz ekstrakta isprala lužina. Posljednjeg puta ispiranja vodom, heksanski sloj je odvojen u tikvice okruglog dna i uparen na rotacionom uparivaču (Laborata 400 efficient, Heidolph, Njemačka). Suhi ostatak otopljen u 300  $\mu$ L otopine acetonitril:metanol:metilen klorid (45:20:35, v/v/v).

Karotenoidni spojevi i retinol odvojeni su i kvantitativno određeni tekućom kromatografijom visoke djelotvornosti (eng. High Performance Liquid Chromatography, HPLC, slika 13) uz UV/Vis spektrofotometar. Sistem kolona bio je sastavljen od serijski spojenih Vydac 201TP54 (5  $\mu$ m; 4,6 x 150 mm; Grace Davison Discovery Sciences, SAD) i Zorbax RX-C18 (5  $\mu$ m; 4,6 x 150 mm; Agilent Technologies, SAD) C18 kolona obrnutih faza. Kolone su bile zaštićene Supelguard Discovery (5  $\mu$ m; 4 x 20 mm; Supelco, SAD) C18 zaštitnom kolonom.

HPLC sustav SpectraSystem (Thermo Separation Products, Inc., SAD) sastojao se od kvaterne gradijent pumpe (P4000), sustava za otplinjavanje (SCM 1000), automatskog sustava za injektiranje uzorka (AS3000), grijača kolone te UV/Vis (UV2000) i fluorescencijskog (FL3000) detektora (slika 11). Podaci su sakupljeni i obrađeni ChromQuest 5.0 softwareom (Thermo Fisher Scientific, SAD).

Pokretna faza sastojala se od smjese otapala acetonitril:metanol:metilen klorid (75:20:5, v/v/v) i sadržavala je 0,05% trietil-amina (TEA) i 0,1% BHT. Protok mobilne faze bio je namješten na 1,8 mL/min pri sobnoj temperaturi. Volumen injektiranja otopina uzoraka bio je 30  $\mu$ L. Karotenoidi su detektirani pri 450 nm, a retinol pri 325 nm. Alfa-tokoferol je detektiran na fluorescencijskom detektoru pri 290 nm kao valnom duljinom pobuđivanja i 330 nm kao valnom duljinom emisije.

Za identifikaciju i kvantitativno određivanje retinola i  $\beta$ -karotena pripremljene su ishodne otopine (Sigma Aldrich, Njemačka). Otopine standarda pripremljene su u apsolutnom etanolu, a stvarne koncentracije ishodnih otopina određene su spektrofotometrijski korištenjem spektralnih apsorpcijskih koeficijenata spojeva. Za identifikaciju ispitivanih spojeva pripremljene su radne otopine uzimanjem alikvota ishodne otopine, uparivanjem otapala te otapanjem ostatka u 1 mL otopine acetonitril:metanol:metilen klorid (45:20:35, v/v/v). Pojedinačni standardi propušteni su kroz HPLC te je zabilježeno retencijsko vrijeme na

temelju kojega je identificiran određeni spoj. Različitim alikvotima ishodnih otopina pripremljeno je pet otopina različitih koncentracija pojedinačnih standarda za pet točaka baždarnog pravca. Spojeni alikvoti retinola i  $\beta$ -karotena upareni su na rotacionom uparivaču i otopljeni u 1 mL otopine acetonitril:metanol:metilen klorid (45:20:35, v/v/v).

Parametri boje mlijeka ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) određeni su uređajem Minolta Chromametar 410R sa 50 milimetarskim područjem mjerena. Nakon odmrzavanja uzorci mlijeka sobne temperature su vorteksirani kako bi se mliječna mast što ravnomjernije rasporedila u uzorku te je od svakog uzorka uzeto je 50 mL mlijeka, stavljeno u plastičnu pliticu promjera 5 cm. Potom je kromametar uronjen u mlijeko i očitana je vrijednost dobivena kao rezultat apsorbirane svjetlosti u fotočelijama koja se reflektirala od površine mlijeka. Izvršeno je pet uzastopnih ponovljenih mjerenja te su rezultati prikazani kao prosjek pet ponovljenih mjerenja.



Slika 3.1.1.: Mjerenje parametar boje mlijeka  
Izvor: Osobna arhiva

### 3.2. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka napravljena je korištenjem statističkog paketa SAS V9.4. (Statistical Analysis System, 2012). Za obradu podatak korištena je GLM procedura i Beforni test, te Spearmanovi koeficijenti korelacije. Razina značajnosti je postavljena na  $p < 0,05$ .

#### 4. Rezultati i rasprava

Tablica 4.1. Rezultati kontrole mliječnosti na predmetnoj farmi u periodu od svibnja 2018. do travnja 2019. godine

Mjesec uzorkovanja	Broj krava u laktaciji	Mliječna mast (%)	Mliječne bjelančevine (%)	Laktoza (%)	Stbm (%)	BSS (000)	IMB	Urea (mg/mL)	Mlijeka na dan kontrole (kg)
05/2018	70	5,02	3,37	4,43	8,85	316	1,5	17	1198
06/2018	74	5,25	3,68	4,35	9,11	217	1,4	26	1124
07/2018	75	5,3	3,62	4,44	9,19	208	1,5	16	1342
08/2018	63	5,12	3,81	4,54	9,39	163	1,3	32	997
09/2018	69	5,68	4,07	4,3	9,51	243	1,4	15	1215
10/2018	64	6,04	4,06	4,17	9,48	532	1,5	22	959
11/2018	57	6,35	4,3	4,22	9,77	388	1,5	20	866
12/2018	49	5,76	4,2	4,3	9,61	281	1,4	40	731
01/2019*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/2019	64	5,88	4,15	4,35	9,62	313	1,4	40	1074
03/2019	64	6,47	4	4,37	9,47	319	1,6	21	1276
04/2019	45	6,28	3,85	4,27	9,29	317	1,6	34	749
prosjeak	63,1±9,53	5,74±0,49	3,92±0,28	4,34±0,11	9,39±0,26	299,7±100,2	1,46±0,10	25,73±9,32	1048,3±207,07

Stbm= bezmasna suha tvar; BSS = broj somatskih stanica u tisućama; IMB = indeks mast:bjelančevina; \* nisu dostupni podaci za siječanj 2019. godine jer nije provedena kontrola mliječnosti za taj mjesec

U tablici 4.1. prikazani su rezultati kontrole mliječnosti na predmetnoj farmi u periodu od svibnja 2018. do travnja 2019. godine. Na farmi su tijekom navedenog perioda u proizvodnji mlijeka sudjelovale prosječno 63 krave koje su mjesečno prosječno proizvele 1048 kg mlijeka na dan kontrole sa 5,74% mliječne masti, 3,92% bjelančevina, 4,34% laktoze, 9,39% bezmasne suhe tvari. Prosječan broj somatskih stanica tijekom analiziranog perioda iznosio je 300.000/mL mlijeka, indeks mast i bjelančevine imao je prosječnu vrijednost 1,46, dok je prosječna koncentracija uree iznosila 25,73 mg/mL. Krave Jersey pasmine na predmetnoj farmi proizvele su manje količine mlijeka, ali većeg sadržaja mliječne masti i bjelančevina u odnosu na krave simentalne (4,1% m.m., 3,4% m.b.), Holstein (4,0% m.m., 3,3% m.b.) i smeđe pasmine (4,1% m.m., 3,5% m.b.) (Godišnje izvješće Govodarstvo, 2018).

Uspoređujući proizvodnju krava Jersey pasmine na predmetnoj farmi i podacima objavljenim od strane irskog udruženja uzgajivača Jersey pasmine, može se primijetiti razlike i sličnosti u proizvodnim rezultatima. Tako, irsko udruženje uzgajivača Jersey pasmine navodi da krave Jersey pasmine imaju najbogatije mlijeko od svih mliječnih pasmina s prosječnim udjelom mliječne masti od 6% i udjelom bjelančevina 4% u laktaciji te laktacijskom proizvodnjom od 8.500 kg mlijeka (<http://www.irishjerseycattle>). Komponente suhe tvari u mlijeku proizvedenom na predmetnoj farmi gotovo su jednake onima objavljenim u Irskoj, dok laktacijska proizvodnja jako odstupala. Naime, na predmetnoj farmi prosječna laktacijska proizvodnja tijekom analiziranog razdoblja iznosila je oko 3.000 kg mlijeka.

U tablici 4.2. prikazana je koncentracija karotenoidnih spojeva,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine na predmetnoj farmi. Prosječna koncentracija luteina u promatranom periodu iznosila je 4,32  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ ,  $\beta$ -karotena 4,15  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ , dok je prosječna koncentracija zeaksantina iznosila 0,97  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ . Najveća koncentracija luteina utvrđena je u uzorcima mlijeka tijekom svibnja i lipnja, dok su najmanje koncentracije utvrđene u veljači i ožujku. Koncentracija  $\beta$ -karotena u periodu od svibnja 2018. do siječnja 2019. godine je bila vrlo slična, da bi zadnja četiri mjeseca uzorkovanja se smanjila gotovo za pola. Prosječna vrijednost  $\alpha$ -tokoferola iznosila je 45,83  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ , s time da u mlijeku uzorkovanom u rujnu, listopadu, te periodu od prosinca 2018. do travnja 2019. godine  $\alpha$ -tokoferol nije uopće utvrđen. Tijekom pašne sezone (svibanj-kolovoz) utvrđene su visoke koncentracije  $\alpha$ -tokoferola što je posljedica konzumacije svježeg krmiva. Prestankom pašne sezone i prelaskom na stajski obrok, koncentracija  $\alpha$ -tokoferola je pala na razinu koju nije bilo moguće detektirati. Iznimku čini mjesec studeni u kojemu je u odnosu na druge mjesece u nizu, utvrđena koncentracija  $\alpha$ -tokoferola od 86,30  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ . Promjena koncentracije  $\alpha$ -tokoferola za navedeni mjesec može se pripisati promjeni obroka u vidu korištenja zrna raži u pripremi koncentrata. Naime, utvrđeno je da zrno raži sadrži dva puta veću razinu  $\alpha$ -tokoferola u odnosu na zrno pšenice i čak tri puta veću količinu u odnosu na zrno ječma (Zielinski et al., 2001).

Prosječna koncentracije retinola u mlijeku krava Jersey pasmine iznosila je 2,56  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ , s time da je najveća koncentracija utvrđena u mlijeka tijekom pašne sezone, a najmanja tijekom stajске sezone. Calderon i sur. (2007) su u mlijeku krava Montbeliarde



pasmine utvrdili tri puta manje koncentracije luteina i  $\beta$ -karotena u odnosu na ovdje prezentirane rezultate. Također, utvrđen je dva puta manji udio vitamina retinola i  $\alpha$ -tokoferola u odnosu na prosječne koncentracije utvrđene u mlijeku Jersey krava. Najveće utvrđene koncentracije karoteinoida, retinola i  $\alpha$ -tokoferola u mlijeku krava Jersey pasmine u odnosu na koncentracije koje navodi Calderno i sur. (2007) veće su četiri do pet puta. Gotovo duplo veće prosječne koncentracije  $\beta$ -karotena u mlijeku krava Jersey pasmine u odnosu na mlijeko krava Holstein i Brown Swiss pasmine navodi i Krukovsky i sur. (1950), dok isti autor navodi gotovo jednake koncentracije retinola i  $\alpha$ -tokoferola u mlijeku sve tri pasmine.

Tablica 4.2. Koncentracija karotenoidnih spojeva,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine

Mjesec uzorkovanja	Lutein	Zeaksantin	$\beta$ -karoten	$\alpha$ -tokoferol	Retinol
$\mu\text{g}/100 \text{ mL}$					
05/2018	6,41	1,18	3,90	117,92	5,21
06/2018	6,24	1,01	4,46	118,66	2,86
07/2018	5,16	0,76	5,32	113,30	2,67
08/2018	4,80	0,99	4,03	113,74	2,54
09/2018	3,35	0,79	5,40	0	2,25
10/2018	5,71	1,22	5,17	0	1,70
11/2018	4,44	0,89	4,22	86,30	3,39
12/2018	4,32	1,01	5,00	0	1,18
01/2019	3,07	1,07	2,84	0	2,64
02/2019	2,07	0,93	2,83	0	2,35
03/2019	2,87	0,95	3,28	0	2,05
04/2019	3,43	0,88	3,29	0	1,91
prosjeck	4,32 $\pm$ 1,39	0,97 $\pm$ 0,15	4,15 $\pm$ 0,95	45,83 $\pm$ 57,21	2,56 $\pm$ 1,01

Parametar L\* boje mlijeka imao je prosječnu vrijednost 94,83, vrijednost parametra boja a\* iznosila je -4,93, dok je prosječna vrijednost parametra boje b\* iznosila 17,94. Parametar boje b\* koji kvantificira izraženost žute boje imao je najveće vrijednosti tijekom pašne sezone, dok je najniža vrijednost parametra b\* utvrđena u siječnju odnosno stajskoj sezoni. McDermott i sur. (2016) navode da je prosječna vrijednosti parametara boje mlijeka L\* 81,57, parametra boje a\* -3,88 te parametra boje b\* 8,09. (L\*, a\*, b\*). U odnosu na prosječne vrijednosti parametra boje mlijeka (McDermott i sur., 2016) , mlijeko krava Jersey pasmine u predmetnom istraživanju imalo je dva puta veću prosječnu vrijednost parametra boje b\*. McDermott i sur. (2016) za mlijeko Jersey pasmine navode vrijednost 81,40 za parametar L\*, -4,25 za parametar a\* te 10,03 za parametar b\*. U predmetnom istraživanju su utvrđene gotovo jednake prosječne vrijednosti za parametra a\*, dok su prosječen vrijednosti parametra L\* i osobito parametra b\* veće od tih vrijednosti. Razlike u navedenim vrijednostima parametara boje mlijeka mogu se pripisati prvenstveno razlikama u hranidbi.

Tablica 4.3. Boja mlijeka krava Jersey pasmine

Mjesec uzorkovanja	L*	a*	b*
05/2018	94,33	-5,62	22,93
06/2018	92,38	-5,48	19,76
07/2018	94,31	-5,53	21,47
08/2018	93,63	-5,10	16,92
09/2018	93,00	-5,46	19,75
10/2018	94,73	-4,77	18,78
11/2018	92,62	-4,86	16,59
12/2018	93,71	-4,84	18,62
01/2019	95,17	-5,10	13,37
02/2019	102,56	-3,62	18,70
03/2019	92,89	-4,39	14,20
04/2019	98,66	-4,41	14,24
prosjek	94,83±2,95	-4,93±0,59	17,94±2,97

Sezona odnosno različita hranidba tijekom sezona imala je značajan ( $p < 0,05$ ) utjecaj na koncentraciju luteina,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine (tablica 4.4). Najveća ( $p < 0,05$ ) koncentracije luteina,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine utvrđena tijekom pašne sezone, dok je najniža ( $p < 0,05$ ) koncentracija utvrđena tijekom stajske sezone. Koncentracija zeaksantina i  $\beta$ -karotena nije se značajno razlikovala između sezona, ali su tijekom pašne sezone utvrđene najveće koncentracije ovih karotenoida. U odnosu na predmetno istraživanje, Hulshof i sur. (2006) su utvrdili veće koncentracije karotenoida i retinola u mlijeku tijekom jeseni. No, obzirom na različito baziram obrok u studiji i predmetnom istraživanju, ne može se pristupiti istovjetnom tumačenju rezultata.

Tablica 4.4. Utjecaj sezone na koncentraciju karotenoida,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine

Sezona	Lutein	Zeaksantin	$\beta$ -karoten	$\alpha$ -tokoferol	Retinol	<i>p</i>
pašna	6,33±0,79 <sup>a</sup>	1,10±0,09	4,51±0,70	118,29±32,57 <sup>a</sup>	4,04±0,58 <sup>a</sup>	ns
prijelazna	4,19±0,56 <sup>ab</sup>	0,86±0,06	4,18±0,50	56,76±23,03 <sup>ab</sup>	2,34±0,41 <sup>ab</sup>	ns
stajska	3,75±0,46 <sup>b</sup>	0,99±0,05	3,89±0,41	14,38±18,80 <sup>b</sup>	2,22±0,33 <sup>b</sup>	ns

<sup>a,b</sup> LSMEAN±SE vrijednosti označene različitim slovom unutar stupca značajno se razlikuju ( $p < 0,05$ ); ns= nema značajnosti

Za sezonu i promatrane parametre suhe tvari utvrđeni su koeficijenti korelacija sa koncentracijom karotenoida,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine (tablica 4.5). Značajna ( $p < 0,05$ ) negativna srednja visoka korelacija utvrđena je između sezone, mliječne masti, bjelančevina i luteina te između  $\alpha$ -tokoferola i bjelančevina. U odnosu na predmetno istraživanje, Krukovsky i sur. (1950) su utvrdili visoke pozitivne korelacije između koncentracije karotenoida te mliječne masti, dok kao i u predmetnom istraživanju nisu

utvrđene korelacije između udjela mliječne masti i koncentracije retinola i  $\alpha$ -tokoferola u mlijeku krava Jersey pasmine. Beliveu (2012) je utvrdila visoke pozitivne korelacije između udjela masti i koncentracije retinola i  $\alpha$ -tokoferolau mlijeku krava Jersey pasmine.

Tablica 4.5. Povezanost sezone i komponenti suhe tvari pasmine sa koncentracijom karotenoida,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeka krava Jersey

	Lutein	Zeaksantin	$\beta$ -karoten	$\alpha$ -tokoferol	Retinol
Sezona	-0,591*	0,06	-0,266	-0,528	-0,237
Mliječna mast	-0,587*	-0,200	-0,300	-0,687	-0,441
Bjelančevine	-0,610*	-0,169	0,018	-0,659*	-0,427
Laktoza	0,151	-0,064	-0,196	0,545	0,434

\*  $p < 0,05$

Za parametar boje mlijeka  $a^*$  utvrđena je srednje visoka negativna korelacija sa koncentracijom luteina,  $\alpha$ -tokoferola i retinola (tablica 4.6). Parametar boje  $b^*$  imao je srednje visoku pozitivnu korelaciju sa koncentracijom luteina,  $\beta$ -karotena i  $\alpha$ -tokoferola. Dakle, izraženija žuta boja mlijeka rezultat je veće koncentracije karotenoidi spojeva u mlijeku. Potrebno je provesti daljnja istraživanja na većem broju uzoraka kako bi se navedi rezultati potvrdili.

Tablica 4.6. Povezanost parametara boje mlijeka ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) sa sadržajem karotenoida,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u mlijeku krava Jersey pasmine

	Lutein	Zeaksantin	$\beta$ -karoten	$\alpha$ -tokoferol	Retinol
$L^*$	-0,266	0,186	-0,427	-0,452	-0,280
$a^*$	-0,676*	-0,028	-0,476	-0,726*	-0,669*
$b^*$	0,664**	0,014	0,566*	0,546*	0,343

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

## 5. Zaključak

Istraživanjem je utvrđeno da sezonska variranja u sastavu obroka utječu na promjenu kemijskog sastav mlijeka, koncentraciju beta karotena i retinola te na parametre boje mlijeka.

Tijekom pašne sezone zbog konzumacije zelene voluminozne krme mlijeko ima manji udio suhe tvari odnosno udio mliječne masti i proteina opada. Međutim, koncentracija karotenoida,  $\alpha$ -tokoferola i retinola upravo u tome razdoblju ima u najveću vrijednost.

U stajskoj sezoni udio mliječne masti u pojedinim mjesecima ima je vrijednosti veće od 6%, a udio bjelančevina bio je oko 4%. Tijekom zimskih mjeseci utvrđene su manje koncentracije  $\beta$ -karotena,  $\alpha$ -tokoferola i retinola u odnosu na pašni ili prijelazni period. Iz toga zaključujemo da hranidba odnosno sezonska variranja u obroku uvelike utječu na koncentraciju istraživanih parametara.

Istraživanjem je utvrđena je srednje visoka ( $p < 0,05$ ) negativna korelacija između koncentracije luteina te količine mliječne masti i bjelančevina. Srednje visoka negativna korelacija ( $p < 0,05$ ) utvrđena je između koncentracije  $\alpha$ -tokoferola i udjela bjelančevina. Navedeni rezultati u suprotnosti su od rezultat objavljenih u ranijim studijama, što se može prije svega pripisati razlikama u hranidbi.

Između koncentracije luteina,  $\beta$ -karotena i  $\alpha$ -tokoferola te parametra boje mlijeka  $b^*$  utvrđena je srednja visoka ( $p < 0,05$ ) korelacija, što je u skladu sa ranijim istraživanjima.

## 6. Popis literature

1. Agabriel C., Cornu A., Journal C., Sibra C., Grolier P., Martin B. (2007). Tanker milk variability according to farm feeding practices: vitamins A and E, carotenoids, colour and terpenoids. *Journal of Dairy Science* 90: 4884–4896.
2. Allen L.H. (2003). B vitamins: proposed fortification levels for complementary foods for young children. *Journal of Nutrition*. 133:3000S–3007S.
3. Baldi A. (2005). Vitamin E in dairy cows. *Livestock Production Science*. 98:117–122.
4. Beliveau A.R. (2012). Variations in carotenoids and retinol in milk and cheese from Jersey cows at an organic dairy compared to a conventional dairy over a pasture season. Master's Theses and Capstones. University of New Hampshire.
5. Bender D.A. (1999). Optimum nutrition: thiamin, biotin and pantothenate. *Proceedings of the Nutrition Society*. 58:427–433.
6. Berkner K.L. (2005). The vitamin K-dependent carboxylase. *Annual Review of Nutrition*. 25:127–149.
7. Bjorneboe A., Bjorneboe G.E., Drevon C.A. (1990). Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Journal of Nutrition*. 120:233–242.
8. Bown S.R. (2005). *Scurvy*. Thomas Dunne Books, St. Martin's Griffen, NY, pp. 1–254.
9. Bramley P.M., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F.J., Manios Y., Roxborough H.E., Schuch W., Sheehy P.J.A., Wagner K.-H. (2000). Review. Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80:913–938.
10. Buettner G.R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alphanatocopherol, and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 300(2):535-543.
11. Calderon F., Chauveau-Duriot B., martin B, Graulet B., Dorean M., Noziere P. (2007). Variations in carotenoids, vitamins A and E, and color in cow's plasma and milk during late pregnancy and the first three months of lactation. *Journal of Dairy Science*. 90:2335-2346.
12. Carpenter K.J., Schelstraete M., Vilicich V.C., Wall J.S. (1988). Immature corn as a source of niacin for rats. *Journal of Nutrition*. 118:165–169.
13. Carter E.G., Carpenter K.J. (1982). The available niacin values of foods for rats and their relation to analytical values, *Journal of Nutrition*. 112:2091–2103.
14. Chantrenne H., Lipmann F. (1950). Coenzyme A dependence and acetyl donor function of the pyruvate–formate exchange system. *Journal of Biological Chemistry*. 187:757–767.
15. Coursin D.B. (1954). Convulsive seizures in infants with pyridoxine-deficient diet. *Journal of the American Medical Association*. 154: 406–408, 1954.
16. Čačić Z., Kalit S., Antunac N., Čačić M. (2003). Somatske stanice i čimbenici koji utječu na njihov broj u mlijeku. *Mljekarstvo*. 53(1):23-36.

17. Debier C., Pottier J., Goffe C., Larondelle Y. (2005) Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrum and milk. *Livestock Production Science*. 98:135–147.
18. DeLuca H.F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *American Journal of Clinical Nutrition*. 80 (Suppl.):1689S–1696S.
19. Depeint F., Robert B.W., Shangari N., Mehta R., O'Brien, P.J. (2006a). Mitochondrial function and toxicity: role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. *Chemico-Biological Interactions*. 163:94–112.
20. Depeint F., Robert B.W., Shangari N., Mehta R., O'Brien, P.J. (2006b). Mitochondrial function and toxicity: role of B vitamins on the one-carbon transfer pathways. *Chemico-Biological Interactions*. 163:113–132.
21. Domaćinović M., Antunović Z., Mijić P., Šperanda M., Kralik D., Đidara M., Zmaić K. (2008). Proizvodnja mlijeka. *Sveučilišni priručnik, Sveučilište J. J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet Osijek*. 11-20.
22. Drewnowski A. (2011). The contribution of milk and dairy products to micronutrient density and affordability of the U.S. diet. *Journal of the American College of Nutrition*. 30:422S–428S.
23. Europska agencija za sigurnost hrane, 2008.
24. FAO/WHO (2001). Human vitamin and mineral requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand. FAO, Rome.
25. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, ed., *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin and Choline*, National Academy Press, Washington DC, 1998, 58–86.
26. Garcia-Peniche T.B., Cassell B.G., MiSztal I. (2006). Effects of Breed and Region on Longevity Traits Through Five Years of Age in Brown Swiss, Holstein, and Jersey Cows in the United States. *Journal of Dairy Science*. 89(9):3672-3680.
27. Godišnje izvješće (2018). *Govedarstvo*. Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb.
28. Graham D.M. (1973). Alteration of nutritive value resulting from processing and fortification of milk and dairy products. *Journal of Dairy Science*. 57:738–745.
29. Graulet B., Piquet M., Duriot B., Pradel P., Hulin S., Cornu A., Portelli J., Martin B., Farruggia A. (2012). Variations in the micronutrient content of grass in medium-altitude grassland and transfer to milk. *Fourrages*. 209:59–68.
30. Herbert V. (1988). Vitamin B12: plant sources, requirements, and assay. *American Journal of Clinical Nutrition*. 48:852–858.
31. Hidiroglou M., Ivan M., Batra T.R. (1995). Concentrations of vitamin C in plasma and milk of dairy cattle. *Annales de Zootechnie*. 44:339–402.
32. Holick M.F., Chen T.C. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *American Journal of Clinical Nutrition*. 87 (Suppl.):1080S–1086S.
33. Hollis B.W., Roos B.A., Draper H.H., Lambert, P.W. (1981). Vitamin D and its metabolites in human and bovine milk. *Journal of Nutrition*. 111:1240–1248.
34. <http://www.irishjerseycattle.com/advantages.php>, pristupljeno 22.9.2019.

35. <http://www.thecattlesite.com>, pristupljeno 21.7.2019.
36. [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Milk\\_and\\_milk\\_product\\_statistics#Milk\\_production](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Milk_and_milk_product_statistics#Milk_production), pristupljeno 18.9.2019.
37. <https://www.jersey.com/jersey-cows>, pristupljeno 21.7.2019.
38. <https://www.usjersey.com/>, pristupljeno 22.7.2019.
39. Hulshof P.J.M., van Roekel-Jansen T., van de Bovenkamp P., West C.E. (2006). Variation in retinol and carotenoids content of milk and milk products in The Netherlands. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19:67–75.
40. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline (1998). *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington (DC): National Academies Press (US). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK114310/>. doi: 10.17226/6015.
41. Krukovsky V.N., Whiting F., Loosli J.K. (1950). Tocopherol, Carotenoid and Vitamin A Content of the Milk Fat and the Resistance of Milk to the Development of Oxidized Flavors as Influenced by Breed and Season. *Journal of Dairy Science*. 33(11):791-796.
42. Lipmann F. (1953). On chemistry and function of coenzyme A. *Bacteriology Review*. 17:1-16.
43. Lipmann F., Jones M.E., Black S., Flynn R.M. (1953). The mechanism of the ATP-CoA acetate reaction. *Journal of Cellular Physiology*. 41(Suppl 1):109–112.
44. Lipmann F., Kaplan N.O., Novelli G.D., Tuttle L.C., Guirard B.M. (1950). Isolation of coenzyme A. *Journal of Biological Chemistry*. 186:235–243.
45. Lynn B. (2007). *Handbook of vitamins-fourth edition, Folic acid*. CRC Press Book. 386.
46. Martin B., Fedele V., Ferlay A., Grolier P., Rock E., Gruffat D., Chilliard Y. (2004). Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions* (eds A. Lüscher, B. Jeangros, W. Kessler, O. Huguenin, M. Lobsiger, N. Millar & D. Suter), *Grassland Science in Europe*, Vol. 9, pp. 876–886. VDF, Zürich.
47. Mason J.B., Gibson N., Kodicek E. (1973). The chemical nature of the bound nicotinic acid of wheat bran: studies of nicotinic acid-containing macromolecules, *British Journal of Nutrition*. 30:297–311.
48. McDermoot A., Visentin G., McParland S., Berry D.P., Fenelon M.A., Marchi M. De (2016). Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict the color of bovine milk and the relationship between milk color and traditional milk quality traits. *Journal of Dairy Science*. 99(5):3267-3273.
49. National Research Council (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th revised edition. National Academy Press, Washington, DC.
50. Norman A.W. (1979). *Vitamin D: The Calcium Homeostatic Steroid Hormone*, 1st Academic Press, NY, 1st Edition.

51. Nozière P., Graulet B., Lucas A., Martin B., Grolier P., Doreau M. (2006). Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science Technology*. 131:418–450.
52. Park Y.W., Haenlein G.F.W. (2013). *Milk and dairy products in human nutrition*. Wiley Blackwell.
53. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00).
54. Prousky J.E. (2003). Pellagra may be a rare secondary complication of anorexia nervosa: a systematic review of the literature, *Alternative Medicine Review*. 8:180–185.
55. Ragaller V., Lebzien P., Südekum K.-H., Lüther L., Flachowsky, G. (2011). Pantothenic acid in ruminant nutrition: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 95:6–16.
56. Reeve L.E., Jorgensen N.A., DeLuca H.F. (1982). Vitamin D compounds in cows milk. *Journal of Nutrition*. 112:667–672.
57. Rivlin R.S. (1994). Vitamin deficiency, in *Conns' Current Therapy*. Rakel, R.E., ed., W.B. Saunders, Philadelphia, p. 551.
58. Roje S. (2007). Vitamin B biosynthesis in plants. *Phytochemistry*. 68:1904–1921.
59. Salque M., Bogucki P.I., Pyzel J., Sobkowiak-Tabaka I., Grygiel R., Szmyt M., Evershed R.P. (2013). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*. 493.
60. Santschi D.E., Berthiaume R., Matte J.J., Mustafa A.F., Girard C.L. (2005). Fate of supplementary B-vitamins in the gastrointestinal tract of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 88:2043–2054.
61. SAS 2013. *SAS/STAT User's guide, Version 9.4*. North Carolina, USA: SAS Institute Inc.
62. Scarso S., McParland S., Visentin G., Berry D.P., McDermott, De Marchi M. (2007). Genetic and nongenetic factors associated with milk color in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 100:7345:7361.
63. Schroeder H.A. (1971). Losses of vitamins and trace minerals resulting from processing and preservation of foods. *American Journal of Clinical Nutrition*. 24:562–573.
64. Schwab E.C., Schwab C.G., Shaver R.D., Girard C.L., Putnam D.E., Whitehouse N.L. (2006). Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow, and apparent ruminal synthesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89:174–187.
65. Scientific Committee on Food European Commission (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of pantothenic acid. Report of the European Commission: Health and consumer protection directorate-general, Available at: [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html) .
66. Shea M.K., Booth, S.L. (2008). Update on the role of vitamin K in skeletal health. *Nutrition Reviews*. 66:549–557.



67. Shearer M.J., Bach A., Kohlmeier, M. (1996). Chemistry, nutritional sources, tissue distribution and metabolism of vitamin K with special reference to bone health. *Journal of Nutrition*. 126:1181S–1186S.
68. Shearer M.J., Bolton-Smith C. (2000). The UK food data-base for vitamin K and why we need it. *Food Chemistry*. 68:213–218.
69. Smilowitz J.T., Dillard C.J., German, J.B. (2005). Milk beyond essential nutrients: the metabolic food. *Australian Journal of Dairy Technology*. 60:77–83.
70. Svjetska zdravstvena organizacija, 1995.
71. Tahiliani A.G., Beinlich C.J. (1991). Pantothenic acid in health and disease. *Vitamins and Hormones*. 46:165–228.
72. Teodor R. L., Madalena F. E. (2003). Dairy production and reproduction by crosses of holstein , Jersey or Brown Swiss sires with holstein-friesians/Gir dams. *Tropical Animal Health and Production*. 35 (2):105-15.
73. Tratnik Lj. (1998). Mlijeko – Tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Zagreb.
74. United States Department of Agriculture (2012). National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Composition of Foods, Raw, Processed, Prepared. NDB No. 01077, Milk, whole, 3.25% milkfat, with added vitamin D. U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service, Beltsville, MD. Available at <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/list>
75. Van Winckel M., De Bruyne R., Van De Velde S., Van Biervliet S. (2009). Vitamin K, an uptade for the paediatrician. *European Journal of Pediatrics*. 168:127–134.
76. Wadhvani R., McMahon D.J. (2012). Color of low-fat cheese influences flavour perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science*. 99:8137-8145.
77. Walsh J.H., Wyse B.W., Hansen R.G. (1981). Pantothenic acid content of 75 processed and cooked foods. *Journal of American Dietary Association*. 78:140–144.
78. Walsh J.H., Wyse B.W., Hansen R.G. (1981). Pantothenic acid content of a nursing home diet. *Annals of Nutrient Metabolism*. 25:178–181.
79. Weiss W.P. (2001) Effect of dietary vitamin C on concentrations of ascorbic acid in plasma and milk. *Journal of Dairy Science*. 84:2303–2307.
80. Weiss W.P., Hogan J.S., Smith, K.L. (2004). Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*. *Journal of Dairy Science*. 87:32–37.
81. Wolf G. (1996). A history of vitamin A and retinoids. *FASEB Journal*. 10(9):1102-1107.
82. Zileinski H., Ciska E., Kozłowska H. (2001). The cereal grains: Focus on Vitamin E. *Czech Journal of Food Science*. 19(5):182-188.

## **Životopis**

Tomislav Rusan rođen je 05. listopada 1994. godine u Bjelovaru. Pohađao je Srednju gospodarsku školu u Križevcima, smjer Veterinarski tehničar u razdoblju od 2009. do 2013. godine. Upisao se na Visoko gospodarsko učilište u Križevcima 2013. godine na prediplomski stručni studij, te se opredijelio na smjer Zootehnika i završio u lipnju 2017. godine. Na Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, smjer Proizvodnja i prerada mlijeka upisao se u rujnu 2017. godine. Poznaje rad na računalu, engleski jezik A2 razinu, vozačka dozvola B kategorije.