Koncentracija uree u kozjem mlijeku kao pokazatelj njegove kvalitete i hranidbe koza

Bendelja Ljoljić, Darija

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:183375

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Darija Bendelja Ljoljić

KONCENTRACIJA UREE U KOZJEM MLIJEKU KAO POKAZATELJ NJEGOVE KVALITETE I HRANIDBE KOZA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2018.

University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Darija Bendelja Ljoljić

MILK UREA CONCENTRATION AS AN INDICATOR OF OPTIMAL NUTRITION AND QUALITY OF GOAT MILK

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2018.

Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Darija Bendelja Ljoljić

KONCENTRACIJA UREE U KOZJEM MLIJEKU KAO POKAZATELJ NJEGOVE KVALITETE I HRANIDBE KOZA

DOKTORSKI RAD

Mentori:
prof. dr. sc. Neven Antunac
izv. prof. dr. sc. Tomislav Mašek

Zagreb, 2018.

University of Zagreb

UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF AGRICULTURE

Darija Bendelja Ljoljić

MILK UREA CONCENTRATION AS AN INDICATOR OF OPTIMAL NUTRITION AND QUALITY OF GOAT MILK

DOCTORAL THESIS

Supervisors:
PhD. Neven Antunac, Full professor
PhD. Tomislav Mašek, Associate professor

Zagreb, 2018.

Bibliografski podaci:
- Znanstveno područje: biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: poljoprivreda
- Znanstvena grana: mljekarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo
- Voditelj doktorskog rada: prof. dr. sc. Neven Antunac; izv. prof. dr. sc. Tomislav Mašek
- Broj stranica: 158
- Broj slika: 34
- Broj tablica: 41
- Broj priloga: 5
- Broj literaturnih referenci: 257

Datum obrane doktorskog rada:

Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:

1. prof. dr. sc. Dubravka Samaržija

redovita profesorica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

2. prof. dr. sc. Zvonko Antunović

redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

3. prof. dr. sc. Boro Mioč

redoviti profesor Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4. p.p. 550, 10 000 Zagreb

Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 02.07.2013. te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 11.02.2014.

Ocjena doktorskog rada

Ovu disertaciju ocijenilo je povjerenstvo u sastavu:

1. prof. dr. sc. Dubravka Samaržija

redovita profesorica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

2. prof. dr. sc. Zvonko Antunović

redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

3. prof. dr. sc. Boro Mioč

.redoviti profesor Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Disertacija je obranjena na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, dana 18.07.2018. pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Dubravka Samaržija_____

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

2. prof. dr. sc. Zvonko Antunović _____

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Poljoprivredni fakultet u Osijeku

3. prof. dr. sc. Boro Mioč _____

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Informacije o mentorima

Neven Antunac rođen je u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu (gimnaziju) završio je u Pazinu. Fakultet poljoprivrednih znanosti u Zagrebu (danas Agronomski fakultet) upisao je 1977., a diplomirao 1982. g. Od 1983. zaposlen je u Zavodu za mljekarstvo, na Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Magistrirao je 1989., a doktorirao 1994. U znanstveno-nastavno zvanje docenta izabran je 1996. g., izvanrednog profesora 2002., redovitog profesora 2006., a u redovitog profesora u trajnom zvanju 2011. godine. Uključen je u izvođenje nastave na preddiplomskom (Bs) studiju Animalne znanosti, i to kao koordinator predmeta *Mlijeko i mliječni proizvodi,* te na diplomskom (Ms) studiju Proizvodnja i prerada mlijeka, i to na dvama predmetima - *Kemija i fizika mlijeka* te *Senzorno ocjenjivanje mlijeka i mliječnih proizvoda*. Suradnik je na preddiplomskom (Bs) studiju Animalne znanosti na predmetu *Laboratorijska tehnologija* te na poslijediplomskom doktorskom studiju Poljoprivredne znanosti, na predmetuu *Istraživanja u mljekarskoj znanosti*. Sudjelovao je kao voditelj ili član povjerenstva u obrani 27 završnih radova, 150 diplomskih, 5 magistarskih i 5 doktorskih radova. kao voditelj ili suradnik aktivno je sudjelovao na više znanstvenih projekata MZO RH. Od 2010. do 2013. bio je suradnik na međunarodnom FP7 projektu SEE-ERA.NET Plus Joint Call *Characterisation and tracking the origin of specific features of traditional cheeses in Western Balkans Region*. Bio je voditelj VIP projekta *Unaprjeđenje tehnologije proizvodnje kozjeg mlijeka utvrđivanjem fiziološke granice koncentracije uree* (2014.-2015.), bilateralnog projeka *Standardizacija tradicionalnih sireva Hrvatske i Crne Gore* (2013.-2014.). Objavio je 120 znanstvenih i 17 stručnih radova, sudjelovao u izradi 7 studija. Objavio je sveučilišni udžbenik u elektronskom izdanju *Mlijeko-kemija, fizika i mirobiologija* (2012.). Koautor je dvaju sveučilišnih udžbenika - *Sirarstvo* (2014.) i *Mlijeko kobila i magarica* (2015.). Autor je priručnika *Senzorna svojstva mlijeka i mliječnih proizvoda* (2018.). Član je povjerenstva za ocjenu senzorske kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda u RH (od 1998.-) i u Sloveniji (od 2003.). Bio je član Hrvatske mljekarske udruge od 1982. do 2017. Član Uredničkog odbora časopisa *Mljekarstvo* bio je od 2002. do 2017. Od 2002. do 2016. bio je predsjednik Upravnog odbora Hrvatske mljekarske udruge. Od 2014. član je Stručno-operativne radne skupine za provedbu nacionalnog postupka zaštite naziva oznaka izvornosti, oznaka zemljopisnog podrijetla i zajamčeno tradicionalnih specijaliteta poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda. Također, član je Udruge hrvatskih laboratorija (CROLAB) a od 2007. do 2012. bio je član Upravnog odbora CROLAB-a. Od 2002. do 2012. bio je rukovoditelj Referentnog laboratorija za mlijeko Zavoda za mljekarstvo. Od 2002. do 2005. bio je voditelj tima za uvođenje akreditacije u Referentni laboratorij prema normi HRN EN ISO/IEC 17025. Funkciju predstojnika Zavoda za mljekarstvo obnašao je u razdoblju od 2012. do 2015. Sudjelovao je na više domaćih i inozemnih znanstvenih skupova.

Tomislav Mašek rođen je 7. prosinca 1975. u Karlovcu. Osnovnu školu i gimnaziju pohađao je u Karlovcu. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je 1994., diplomirao 2001. godine. Od 2001. do 2010. zaposlen ja kao znanstveni novak asistent, od 2010. kao docent, a od 2015. kao izvanredni profesor u Zavodu za prehranu i dijetetiku životinja. Godine 2001. upisao je poslijediplomski studij, smjer fiziologija domaćih životinja, koji završava 2008. izradom doktorata pod naslovom: Utjecaj žive kulture kvasca Saccharomyces cerevisiae1026 na proizvodnju i kakvoću mlijeka te neke biokemijske krvne pokazatelje mliječnih ovaca. Kao nastavnik izvodi predavanja, seminare, vježbe, kolokvije te ispite studentima iz obveznih predmeta: Primijenjena hranidba i Opća hranidba, te izbornih predmeta: Komparativna hranidba i metabolizam domaćih i divljih životinja, Dijetetika životinja i Dodaci hrani za životinje – modulatori zdravlja. Na poslijediplomskom studiju izvodi nastavu iz predmeta Optimalizacija obroka i krmnih smjesa. Na specijalističkim studijima predaje predmete Hranidba životinja u sudskom veterinarstvu i Hranidba i dobrobit životinja. Na doktorskom studiju medicine (TRIBE) u Splitu predaje predmete vezane uz hranidbu laboratorijskih životinja i pokusnih životinja koje nisu glodavci. U okviru CEEPUS stipendije boravio je kao gost predavač na veterinarskim fakultetima u Skopju i Budimpešti. Prilikom izmjena nastavnih planova na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu, Tomislav Mašek uveo je novi izborni predmet (Komparativna hranidba i metabolizam domaćih i divljih životinja) te sudjelovao u pisanjima programa i izmjenama svih predmeta Zavoda za prehranu i dijetetiku životinja. Predavač je na tečajevima trajne edukacije za doktore veterinarske medicine: Fiziologija probave, hranidba i metabolički poremećaji preživača i Prehrana i dijetetika laboratorijskih životinja. Također, predavač je i na edukaciji za veterinarske inspektore pri Upravi veterinarstva Ministarstva poljoprivrede iz područja analize hrane za životinje i sigurnosti hrane za životinja. Mentor je 9 obranjenih diplomskih radova. U znanstveno zvanje znanstvenog savjetnika izabran je 2012. godine. Mentor je dvaju obranjenih doktorskih radova (Diana Brozić i Katrin Gnjidić) i jednog u tijeku (Darija Bendelja Ljoljić). Trenutno je voditelj projekta Hrvatske zaklade za znanost (Nutritivna modulacija metabolizma dokozaheksaenske kiseline kod dijabetičke dislipidemije) te suradnik na još jednom projektu (Lipidi hrane, spol i dob u patogenezi metaboličkog sindroma). Uz HRZZ projekte sudjelovao je ili sudjeluje na dvama europskim projektima te na 4 VIP projekta i 3 potpore Sveučilišta u Zagrebu. Autor je 64 znanstvena rada (42 znanstvena rada indeksirana u SCI expanded i 33 u Current Contents Connect), 51 sažetka na skupovima, 12 cjelovitih radova u zbornicima skupova, 3 poglavlja u knjigama te 3 ostala rada. Trenutno je stalni ili povremeni recenzent u 19 međunarodnih časopisa. Član je uredničkih odbora 3 časopisa (Stočarstvo, Krmiva i Hrvatski veterinarski vjesnik) te znanstvenog odbora međunarodnog kongresa „Krmiva“. Trenutno je član Povjerenstva za projekte Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Član je stručnih društava: *International society for the study of fatty acids and lipids i European society for veterinary and comparative nutrition*.

Zahvala

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Nevenu Antuncu na pruženom povjerenju, požrtvovnosti, uloženom trudu, brojnim stručnim savjetima, raspravama i pomoći koju mi je pružio tijekom izrade i pisanja doktorskog rada.

Mentoru izv. prof. dr. sc. Tomislavu Mašeku hvala na korisnim savjetima i potpori vezano za hranidbeni dio istraživanja.

Prof. dr. sc. Dubravki Samaržiji, prof. dr. sc. Bori Mioču i prof. dr. sc. Zvonku Antunoviću zahvaljujem na velikom broju korisnih savjeta i smjernica tijekom izrade doktorskog rada.

Kolegi izv. prof. dr. sc. Antunu Kosteliću hvala na odabiru gospodarstva za provedbu eksperimentalnog dijela istraživanja.

Hvala doc. dr. sc. Miroslavu Beniću na izvršenim mikrobiološkim analizama mlijeka u Hrvatskom veterinarskom institutu.

Moje zahvale također upućujem i dr. sc. Angiolelli Lombardi s Istituto per la Qualita e le Tecnologie Agroalimentari (Thiene, Italija) na izvršenim analizama koagulacijskih svojstava mlijeka.

Ovim putem želim zahvaliti i svim kolegama sa Zavoda za mljekarstvo na podršci od prvoga dana doktorskog studija.

Djelatnicama laboratorija Zavoda za hranidbu životinja veliko hvala na provedbi analiza krmnih smjesa.

Posebna zahvala na pomoći, savjetima i korisnim raspravama kolegama doc. dr. sc. Zvonimiru Prpiću, doc. dr. sc. Ivanu Vnučecu i izv. prof. dr. sc. Miljenku Konjačiću.

Zahvaljujem gospođi Jadranki Vrbnjak Ferenčak na lekturi doktorskog rada.

Veliko hvala mojim dragim roditeljima koji su i kad je bilo najteže vjerovali u mene… bez vas danas ne bih bila to što jesam.

Hvala mom suprugu Marinu na bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju i nesebičnoj podršci od prvoga dana… na svakoj obrisanoj suzi, svakom zagrljaju utjehe kada nije bilo lako…, bez tebe ne bih uspjela.

Najveća hvala mojima anđelima Karli i Niki, ovo je za vas i zbog vas…

Sažetak

Koncentracija uree u kravljem mlijeku poznata je i često se koristi za procjenu izbalansiranosti obroka energijom i proteinima. Podataka o koncentraciji uree u kozjem mlijeku zbog njegove manje ekonomske važnosti, sezonske poliestričnosti i različitog načina uzgoja i držanja koza relativno je malo. Osnovna je pretpostavka ovoga doktorskog rada da će utvrđena koncentracija uree definirati optimalan udio sirovih proteina (SP) u krmnoj smjesi (KS) nužnih za najmanja odstupanja kvalitativnih i kvantitativnih svojstava mlijeka. Za utvrđivanje te povezanosti istraživanje je obuhvatilo 72 alpina koze, podijeljene u tri skupine sa 24 slučajno odabrana grla. Svaka je skupina obuhvatila koze od 1. do 4. laktacije koje su hranjenje krmnom smjesom sa 14%, 16% i 18% SP. Uzorci mlijeka uzimani su jedanput mjesečno AT metodom tijekom jedne laktacije. Pojedinačni uzorci mlijeka za svaku kozu koristiti su se za utvrđivanje fizikalnih svojstava (pH, °SH, točka ledišta), kemijskog sastava (osnovni, omjer mliječne masti i proteina, NPN i urea) i fiziološkog broja somatskih stanica. U skupnim uzorcima mlijeka od svake skupine koza određena su svojstva zgrušavanja (vrijeme zgrušavanja, brzina formiranja gruša i čvrstoća gruša). Statistička analiza podataka provedena je procedurom MIXED, modelom s ponovljenim mjerenjima korištenjem softverskog paketa SAS V8 (SAS STAT, 2015.). Alpina koze hranjene krmnom smjesom sa 16% SP prosječno su dnevno tijekom laktacije proizvele 3,33 kg mlijeka sa 3,16% mliječne masti, 2,85% proteina, a prosječna koncentracija uree u mlijeku bila je 41,24 mg/100 mL. Povećanje udjela SP sa 14% na 16% u krmnoj smjesi povećalo je dnevnu količinu mlijeka za 0,4 kg ($p<0,001$) i koncentraciju uree u mlijeku od 35,01 na 41,24 mg/100 mL ($p<0,001$). Na temelju izračunate točke infleksije dnevne količine mlijeka i udjela proteina u mlijeku koncentracija uree u mlijeku alpina koza bila je između 40,00 i 45,00 mg/100 mL i ne viša od 45,00 mg/100 mL. Koncentracija uree između 40 i 45 mg/100 mL može se smatrati optimalnom i dobar je pokazatelj izbalansiranog obroka za alpina koze, uravnoteženih metaboličkih mikrobnih procesa u buragu i najmanjeg odstupanja u dnevnoj količini, kemijskom sastavu i preradbenim svojstvima mlijeka. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi viši od 16% povećava koncentraciju uree u mlijeku na više od 45 mg/100 mL, a nema učinak na povećanje dnevne količine i kemijski sastav mlijeka.

Ključne riječi: kozje mlijeko, kemijski sastav, urea, hranidba, laktacija, svojstva zgrušavanja mlijeka

Milk urea concentration as an indicator of optimal nutrition and quality of goat milk

Milk urea concentration is a useful indicator of energy and protein balanced diet and it is used in systematic control of cow milk, while in sheep and goat milk it is not determined/controled. Main determinents of urea formation in milk are the amount of crude protein intake (CP) and the ratio of the protein and energy portion in diet. Goat diet with excessive amount of crude protein and energy unbalanced diet cause the excess of nitrogenous substances in rumen along with release of ammonia and rise in concentration of urea in blood and milk, which adversely affects the production, coagulation propreties, environmental pollution and reproductive capabilities of goats. However, besides diet, there are other factors that influence milk urea concentarion: breed, stage of lactation, parity, milking time, season, body mass, litter size, production and chemical composition of milk. Numerous studies conducted on cow milk included the influence of listed sources of variability, while there are only few studies available for goat milk. Starting form the fact that milk urea concentration mostly depend on crude protein (CP) intake in diet, assumption of the study was to determine optimum ratio of crude protein in feed mixture (KS) by determining the urea concetration in goat milk. Also, assumption of the study was, that the milk urea concentration will affect milk quality for further processing. Therefore the goals of the study were to determine: environmental factors of urea concentration variation, indicators of milk production and quality, coagulation propreties of milk depending on urea concentration and finally to suggest recommendable range of values for milk urea concentration in Alpina goats. The study included a total of 72 goats, divided into 3 groups with 24 randomly selected goats at age from 1 to 5 years without visible signs of mastitis and defined diet with different ratio of crude protein in feed mixture (14%, 16% and 18%). During the lactation, regular monthly controls of goat milk yield were conducted (AT method), individual milk samples for analysis of physico-chemical composition and hygiene quality of milk were collected, while for determination of coagulation properties of milk, group samples from each group were collected. The proportion of total solids, milk fat, protein, casein, lactose, total solids non fat, milk urea concentrations, pH value, titration acidity, freezing point, total number of microorganisms (UBB) and number of somatic cells (BSS) were determined in goat milk samples. Coagulation propreties were determined with formagraph. Statistical data processing was performed using the SAS V8 software package (SAS STAT, 2015). Based on the results of the descriptive statistical data, it was found that during lactation, the goat produced daily 3.41 kg of milk with 3.14% milk fat, 2.85% of protein, and the average urea concentration in milk was 41.43 mg/100 mL. The increase in the proportion of crude protein in feed mixture was accompanied by an increase in daily milk production, daily protein production and milk urea concentration, as well as a decrease in the proportion of total solids, milk fat, protein and casein ($p<0.05$, $p<0.01$; $p<0.001$). The highest pH value of milk (6.56) was found in goats fed with feed mixture that contained 16% of crude protein (CP). The lactation stage significantly influenced almost all milk production and quality indicators, with the exception of milk latent. Daily milk yield and milk urea concentration during lactation show a similar trend, and the ratio of milk fat and protein the opposite trend. The peek of lactation production goats reached on 120th day of lactation (4.27 kg), followed by a gradual drop in milk yield. Highest milk urea concetration (41.94–48.55 mg/100 mL) was established between 120th and 180th day of lactation. The highest pH value of milk (6.56) was established in the middle and the titration acidity (7.15°SH) at the end of lactation. The highest ($p<0.001$) geometric mean value of the number of somatic cells in milk (BSS) was established in the early stage of lactation (724x10^3/ mL), in April (794x10^3/ mL), while BSS in the rest of the lactation was similar. The results showed a significant difference in certain lactations in daily milk yield and most of the milk components, except ratio of protein, casein and non protein nytrogen (NPN).

Thus, the highest daily milk production and milk urea concentration is found in 4th lactation. By contrast, the highest average levels of total solids and milk fat were found in milk of goats in 1st lactation. With the increase in the order of lactation, a gradual decrease in the milk fever point (-0.5368ºC in 1st lactation to -0.5578ºC in 4th lactation) was established. The best hygienic quality of milk was found in goats in the 2nd and 3rd lactation. In milk of three-breasted goat, a richer chemical composition was found as well as a significantly higher milk urea concentrations compared to single-breasted goat. Average rennet coagulation time (r) of goat milk was 7.97 min, curd-firming time (k_{20}) was 3.59 min, while the curd firmness (a_{30}) was 19.50 mm. The ratio of crude protein (CP) in feed mixture did not significantly affect the milk coagulation properties. Changes in the milk coagulation properties, depending on the stage of lactation, were determined only for the curd firmness. Positive coefficients of correlation were determined between the milk urea concentration and the: daily milk yield ($r=0.34$; $p<0.001$), daily produced protein ($r=0.30$, $p<0.001$), crude protein ratio in feed mixture ($r=0.50$; $p<0.001$) and milk titration acidity ($r=0.15$; $p<0.01$), while for all other indicators of milk production and quality, negative correlation coefficients were determined. The daily milk yield as well as most chemical composition parameters, changed significantly depending on the milk urea concentration. At urea concentrations of 40.01-45.00 mg/100 mL there was a significant increase in daily milk yield and protein yield, while protein and milk fat content decreased significantly in comparison with the previous classes. Since no statistically significant increase in daily milk yield and protein yield was observed at urea concentration >45 mg/100 mL, as well as a significant decrease in milk fat and protein content compared to the previous urea class (40-45 mg/100 mL), from point of production efficiency it can be concluded that the optimal concentration of urea in Alpine goat milk is about 40 mg/100 ml. Goats with milk urea concentrations higher than 40.00 mg/100 mL were fed in the same proportion (19.92% versus 24.9%) of feed mixture with 16% CP and 18% CP, hence, it can be concluded that more crude protein in feed mixture will not result in higher production and better milk quality, and may have a negative effect on the fertility of goats and the environment as well as on the viability of production.

Keywords: goat milk, chemical composition, urea, feeding, lactation, nonnutritional factors, coagulation properties of milk

Sadržaj

1. UVOD 1
   1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja 4
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 5
   2.1. Broj koza u Republici Hrvatskoj 6
   2.2. Francuska alpska koza (alpina) 8
   2.3. Kozje mlijeko 9
      2.3.1. Proizvodnja 9
      2.3.2. Kemijski sastav 11
      2.3.3. Fizikalna svojstva 20
      2.3.4. Higijenska kvaliteta 22
      2.3.5. Svojstva zgrušavanja mlijeka 24
   2.4. Urea u mlijeku 28
      2.4.1. Razgradnja proteina hrane 28
      2.4.2. Sinteza uree 29
      2.4.3. Važnost određivanja uree u mlijeku 32
      2.4.4. Određivanje uree u mlijeku i krvi 34
      2.4.5. Pojedinačni i skupni uzorci mlijeka 35
      2.4.6. Vrijednosti koncentracije uree u mlijeku 35
      2.4.7. Čimbenici varijabilnosti 38
3. MATERIJALI I METODE 46
   3.1. Odabir koza i tehnologija uzgoja 47
      3.1.1. Sustav kozarenja 48
      3.1.2. Higijenski uvjeti u staji 48
      3.1.3. Hranidba koza 48
   3.2. Kontrola mliječnosti 50
   3.3. Analize stočne hrane 52
   3.4. Analize mlijeka 52
      3.4.1. Fizikalno-kemijske analize mlijeka 52
      3.4.2. Analize higijenske kvalitete mlijeka 53
      3.4.3. Analize svojstava zgrušavanja mlijeka 53
      3.4.4. Pretrage sekreta vimena 54
   3.5. Statistička obrada podataka 56
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 58
   4.1. Proizvodnja i kemijski sastav mlijeka 59
      4.1.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi 61

4.1.2. Stadij laktacije 63
4.1.3. Redoslijed laktacije....66
4.1.4. Veličina legla 68
4.1.5. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja 70
4.2. Fizikalna svojstva mlijeka 77
4.2.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi 78
4.2.2. Stadij laktacije 79
4.2.3. Redoslijed laktacije....80
4.2.4. Veličina legla 81
4.2.5. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja 81
4.3. Higijenska kvaliteta mlijeka 86
4.3.1. Zdravlje mliječne žlijezde....86
4.3.2. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi 88
4.3.3. Stadij laktacije 88
4.3.4. Redoslijed laktacije....90
4.3.5. Veličina legla 90
4.3.6. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja 91
4.4. Svojstva zgrušavanja mlijeka 95
4.4.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi 95
4.4.2. Stadij laktacije 96
4.5. Koeficijenti korelacija....97
4.6. Optimalna vrijednost koncentracije uree u mlijeku alpina koza 100
4.6.1. Povezanost koncentracije uree s proizvodnjom i kemijskim sastavom kozjeg mlijeka....100
4.6.2. Povezanost koncentracije uree s fizikalnim svojstvima kozjeg mlijeka.....107
4.6.3. Povezanost koncentracije uree s higijenskom kvalitetom kozjeg mlijeka ...108
4.6.4. Povezanost koncentracije uree sa svojstvima zgrušavanja kozjeg mlijeka 109
5. RASPRAVA....111
5.1. Dnevna količina mlijeka, kemijski sastav, higijenska kvaliteta i svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka....112
5.2. Hranidba kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka 114
5.3. Stadij laktacije kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka....117
5.4. Redoslijed laktacije kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka....121

5.5. Veličina legla kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka 122
5.6. Povezanost koncentracije uree s proizvodnjom, fizikalno-kemijskim sastavom, higijenskom kvalitetom i svojstvima zgrušavanja kozjeg mlijeka 124
6. ZAKLJUČCI 128
7. POPIS LITERATURE 130
8. ŽIVOTOPIS 152
9. PRILOZI 155
9.1. Formagrafski dijagrami skupnih uzoraka kozjeg mlijeka 156

Popis kratica

Kratica	Značenje
DKM	dnevna količina mlijeka
ST	suha tvar
Sbm	suha tvar bez masti
NPN	neproteinska dušična frakcija
M:P	omjer mliječne masti i proteina
M:K	omjer mliječne masti i kazeina
UBB	ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija
BSS	broj somatskih stanica
log_{10}UBB	logaritmirani broj aerobnih mezofilnih bakterija
log_{10}BSS	logaritmirani broj somatskih stanica
r	vrijeme zgrušavanja
k_{20}	brzina formiranja gruša
a_{30}	čvrstoća gruša
TMR	potpuno izmiješani obrok (Total mixed ration)
RDP	u buragu razgradivi protein
RUP	u buragu nerazgradivi protein
NDF	neutralna deterdžent vlakna
SP	sirovi protein
KS-12	krmna smjesa sa 12% sirovih proteina
KS-14	krmna smjesa sa 14% sirovih proteina
KS-16	krmna smjesa sa 16% sirovih proteina
KS-18	krmna smjesa sa 18% sirovih proteina
LSM	korigirana srednja vrijednost
SD	standardna devijacija
SE	standardna greška
CV	koeficijent varijacije
KS	udio proteina u krmnoj smjesi
SL	stadij laktacije
RL	redoslijed laktacije
K	kontrola
VL	veličina legla (broj jaradi u leglu)

Popis tablica

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav kozjeg i kravljeg mlijeka (Park, 2010) 12
Tablica 2. Udio laktoze u mlijeku pojedinih mliječnih životinja 15
Tablica 3. Prosječni kemijski sastav mlijeka (%) pojedinih pasmina koza u Hrvatskoj i Europi 19
Tablica 4. Pojedina fizikalna svojstva kozjeg i kravljeg mlijeka 21
Tablica 5. Literaturni pregled vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku 36
Tablica 6. Prijedlozi za rješavanje problema zbog hranidbe krava neizbalansiranim obrocima energijom i proteinima 42
Tablica 7. Kemijski sastav krmne smjese za koze 49
Tablica 8. Shematski prikaz determinacije streptokoka na hranjivoj podlozi 55
Tablica 9. Opisni statistički pokazatelji dnevne količine i kemijskog sastava mlijeka alpina koza (n = 503) 59
Tablica 10. Dnevna količina mlijeka i promjene kemijskog sastava kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi 61
Tablica 11. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu i kemijski sastav mlijeka alpina koza 63
Tablica 12. Utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza 66
Tablica 13. Utjecaj veličine legla na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza 68
Tablica 14. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza 70
Tablica 15. Opisni statistički pokazatelji pojedinih fizikalnih svojstva mlijeka alpina koza 77
Tablica 16. Prosječne vrijednosti pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi 78
Tablica 17. Utjecaj stadija laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza 79
Tablica 18. Utjecaj redoslijeda laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza 80
Tablica 19. Promjene pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka ovisno o veličini legla 81
Tablica 20. Interakcije pojedinih fiksnih utjecaja na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza 81
Tablica 21. Parametri higijenske kvalitete mlijeka alpina koza 86
Tablica 22. Prevalencija i učestalost pojedinih bakterija izoliranih iz mliječne žlijezde alpina koza 87

Tablica 23. Broj somatskih stanica (BSS) u bakteriološki negativnim i pozitivnim uzorcima mlijeka 87
Tablica 24. Prosječne vrijednosti logaritmiranog broja aerobnih mezofilnih bakterija i broja somatskih stanica ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi 88
Tablica 25. Higijenska kvaliteta kozjeg mlijeka ovisno o stadiju laktacije 88
Tablica 26. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o redoslijedu laktacije 90
Tablica 27. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o veličini legla 90
Tablica 28. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na parametre higijenske kvalitete mlijeka alpina koza 91
Tablica 29. Svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka 95
Tablica 30. Svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi 95
Tablica 31. Svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka ovisno o stadiju laktacije 96
Tablica 32. Koeficijenti korelacija između dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka 98
Tablica 33. Koeficijenti korelacija između svojstava zgrušavanja skupnih uzoraka mlijeka i fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete mlijeka 99
Tablica 34. Dnevna količina mlijeka i kemijski sastav mlijeka ovisno o koncentraciji uree u mlijeku alpina koza 101
Tablica 35. Raspodjela uzoraka mlijeka koza hranjenih različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o udjelu proteina i koncentraciji uree u mlijeku 102
Tablica 36. Raspodjela uzoraka mlijeka koza hranjenih različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o udjelu proteina u mlijeku 104
Tablica 37. Raspodjela uzoraka mlijeka tijekom laktacije u koza hranjenih različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o omjeru M:P u mlijeku 105
Tablica 38. Fizikalna svojstva mlijeka alpina koza ovisno o različitim koncentracijama uree u mlijeku 107
Tablica 39. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o koncentraciji uree u mlijeku 108
Tablica 40. Svojstva zgrušavanja skupnih uzoraka mlijeka alpina koza ovisno o koncentraciji uree u mlijeku 109
Tablica 41. Koeficijenti determinacije pojedinih izvora varijabilnosti koncentracije uree u mlijeku alpina koza 110

Popis slika

Slika 1. Broj uzgojno valjanih koza po županijama (Izvor: HPA, 2017.) 7
Slika 2. Udio pojedinih pasmina koza u uzgojno valjanoj populaciji 7
Slika 3. Francuska alpska koza (Izvor: Bendelja Ljoljić, 2017.) 8
Slika 4. Laktacijska krivulja, krivulje konzumacije suhe tvari i tjelesne mase koza tijekom laktacije (Izvor: Grbeša i sur., 2005.) 11
Slika 5. Udio mliječne masti, proteina i laktoze u kozjem mlijeku tijekom laktacije 17
Slika 6. Dijagram vremena zgrušavanja (r), brzine formiranja gruša (k_{20}) i čvrstoće formiranoga gruša (a_{30}) (preuzeto od Ikonen i sur., 2004.) 25
Slika 7. a) Strukturna formula uree, b)Trodimenzionalni prikaz molekule uree 29
Slika 8. Razgradnja proteina u preživača (Izvor: Bryant i Moss, modificirano) 30
Slika 9. Metabolizam proteina u buragu (Izvor: Carlsson i Bergstrom, 1994., modificirano) 31
Slika 10. Povezanost koncentracije uree u skupnom mlijeku i krvi krava (Izvor: Wittwer i sur., 1999.) 34
Slika 11. Procjena opskrbljenosti krava energijom i proteinima na osnovi koncentracije uree i udjela proteina u mlijeku (prilagođeno prema Babnik i sur., 2004.) 40
Slika 12. Lokacija mjesta gdje je provedeno istraživanje (izvor: Google Earth Image © 2016 CNES DigitalGlobe, 2017) 47
Slika 13. Prosječne vrijednosti uree u kozjem mlijeku tijekom laktacije 64
Slika 14. Prosječne vrijednosti dnevne količine mlijeka i koncentracije uree u kozjem mlijeku alpina koza tijekom laktacije 65
Slika 15. Prosječne vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku ovisno o redoslijedu laktacije 67
Slika 16. Prosječne vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku s različitim brojem jaradi u leglu 69
Slika 17 Grafički prikaz interakcije između krmnih smjesa i stadija laktacije na udio kazeina u mlijeku 71
Slika 18. Interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na udio kazeina u mlijeku alpina koza 72
Slika 19. Interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza 73
Slika 20. Interakcija između udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi i veličine legla na dnevnu količinu proizvodenoga proteina 74

Slika 21. Interakcija između udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi i veličine legla na koncentraciju uree u kozjem mlijeku 75
Slika 22. Promjene dnevne količine mlijeka ovisno o utjecaju stadija i redoslijeda laktacije.....76
Slika 23. Interakcija između krmnih smjesa i stadija laktacije na titracijsku kiselost kozjeg mlijeka 82
Slika 24. Interakcija između krmnih smjesa i vremena uzorkovanja na pH–vrijednost kozjeg mlijeka 83
Slika 25. Interakcija između krmnih smjesa i vremena uzorkovanja na titracijsku kiselost kozjeg mlijeka 83
Slika 26. Interakcija između stadija i redoslijeda laktacije na titracijsku kiselost (°SH) kozjeg mlijeka 84
Slika 27. Interakcija između stadija i redoslijeda laktacije na točku ledišta kozjeg mlijeka 85
Slika 28. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log_{10}UBB/mL) i broj somatskih stanica (log_{10}BSS/mL) u mlijeku alpina koza tijekom pojedinih mjeseci.....89
Slika 29. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ovisno o stadiju laktacije i udjelu SP u krmnoj smjesi 92
Slika 30. Interakcija između mjeseca u godini i udjela SP u krmnoj smjesi na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija 93
Slika 31. Grafički prikaz interakcije između stadija i redoslijeda laktacije na broj somatskih stanica u kozjem mlijeku 94
Slika 32. Procjena izbalansiranosti obroka koza na osnovi koncentracije uree i udjela proteina u mlijeku.....103
Slika 33. Povezanost koncentracije uree u kozjem mlijeku s dnevnom količinom mlijeka i udjelom proteina u mlijeku.....104
Slika 34. Procjena izbalansiranosti obroka alpina koza na osnovi omjera M:P i udjela proteina u mlijeku.....106

1. UVOD

Određivanje koncentracije uree u mlijeku nalazi primjenu kao metoda za praćenje hranidbenoga i reprodukcijskog statusa mliječnih krava u okviru kontrole zdravlja, dok se u kozjem i ovčjem mlijeku sustavno ne provodi. Interpretacija rezultata nije u potpunosti standardizirana zbog brojnih utjecaja važnih za njihovo pravilno tumačenje, kao što su: hranidba, pasmina, stadij i redoslijed laktacije, sezona, vrijeme mužnje, način držanja životinja, tjelesna masa, proizvodnja i kemijski sastav mlijeka (Schepers i Meijer, 1998.; Giaccone i sur., 2007.; Abdouli i sur., 2008.). Urea je sastojak krvi i drugih tjelesnih tekućina (mlijeka, sline, mokraće, želučanoga i crijevnog soka) te je uobičajena tvar koja nastaje razgradnjom tjelesnih proteina djelovanjem mikroorganizama, koji omogućuju fermentaciju i razgradnju organske tvari u jednostavnije kemijske spojeve poput amonijaka i hlapljivih masnih kiselina (Brun-Bellut, 1997.; Bonanno i sur., 2008.). Mikroorganizmi buraga koriste amonijak kao izvor dušika i ugrađuju ga u mikrobni protein, koji uz nerazgrađeni protein hrane odlazi u tanko crijevo gdje se razgrađuje u jednostavnije sastojke koji se mogu resorbirati. Ako je sinteza mikrobnog proteina spora, višak nastalog amonijaka u buragu odlazi krvotokom do jetre u kojoj se metaboličkim procesom pretvara u ureu. Stoga se može reći da su stanice mitohondrija jetre glavno mjesto sinteze uree, koja dalje krvotokom odlazi u bubrege iz kojih se izlučuje mokraćom. Kada koncentracija nastale uree u organizmu prijeđe «bubrežni prag» njezina koncentracija će se u krvi povisiti. S obzirom na to da se sintezom uree nastoji ukloniti suvišan dušik, odnosno uspostaviti njegova ravnoteža, amino-skupine koje nisu potrebne za biosintezu aminokiselina ili drugih dušikovih spojeva moraju biti uklonjene iz organizma jer je amonijak vrlo reaktivan i toksičan. Višak proteina u obroku, posebice lako probavljivih te nedostatak energetskih krmiva u obroku, uzrokovat će višak dušičnih tvari u buragu uz veliko oslobađanje i resorpciju amonijaka te povećanje koncentracije uree u mlijeku (Campanile i sur., 1998.). Između koncentracije uree u mlijeku i krvi Bed i sur., (1997.) navode visoki koeficijent korelacije (r=0,88). Zbog visoke povezanosti vrijednosti u krvi i mlijeku, lakše dostupnosti i manjih dnevnih variranja, prednost se daje metodi utvrđivanja koncentracije uree u mlijeku u odnosu na njeno određivanje u krvi (Cannas i sur.,1998.; Shephers i Meijer, 1998.). Uzgajivači u cilju postizanja što veće mliječnosti životinje hrane obrocima neizbalansiranim u pogledu opskrbljenosti probavljivim proteinima i energijom. Posljedica je negativan utjecaj na učinkovitost proizvodnje (povećani su troškovi hranidbe), preradbena svojstva mlijeka (lošija svojstva zgrušavanja mlijeka), onečišćenje okoliša (povećana emisija dušika u tlo) i reprodukcijske sposobnosti kroz smanjenu plodnost (Godden i sur., 2001a.; Mellado i sur., 2004.; Biswajit i sur., 2011.).

Osnovni cilj predmetnog istraživanja bio je utvrditi optimalan sadržaj proteina u krmnoj smjesi mliječnih koza kao i poželjan raspona vrijednosti uree u kozjem mlijeku sa stanovišta njegove kvalitete.

Pritom je, referentna metoda diferencijalne pH-metrije po prvi put korištena za određivanje koncentracije uree u mlijeku u RH. Na taj je način utvrđena pouzdanost rezultata i prikladnost diferencijalne pH-metrije u sustavnoj kontroli koncentracije uree u kozjem mlijeku. Na osnovi dobivenih rezultata o vrijednostima koncentracije uree u kozjem mlijeku, mogu se ispravno dijagnosticirati mogući poremećaji uzrokovani u prvom redu neodgovarajućom hranidbom (odnos između raspoložive energije i proteina u hrani), a što se negativno odražava na proizvodni status mliječnih grla i prekomjernu emisiju dušika u tlo. Kako bi ovakav test bio financijski učinkovit i kako bi se izbjegnuli negativni biološki učinci preniske odnosno previsoke koncentracije uree u kozjem mlijeku, granične vrijednosti trebale bi biti definirane.

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Na osnovi raspoloživih literaturnih podataka, utvrđeno je da koncentracija uree u kozjem mlijeku, kao i čimbenici njezine varijabilnosti, nisu dovoljno istraženi te da poželjan raspon vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku nije definiran.

Polazeći od činjenice da koncentracija uree u mlijeku najviše ovisi o udjelu sirovih proteina krme, pretpostavka je predmetnog istraživanja da će se pomoću koncentracije uree u mlijeku moći utvrditi optimalan sadržaj proteina u obroku mliječnih koza. S obzirom na to da je višak razgradivih proteina u buragu odgovoran za povećanje koncentracije uree u krvi i mlijeku, a služi za sintezu proteina mlijeka, pretpostavka je istraživanja i da će koncentracija uree u mlijeku utjecati na kvalitetu mlijeka za sirenje.

Stoga je cilj predmetnog istraživanja bio utvrditi:

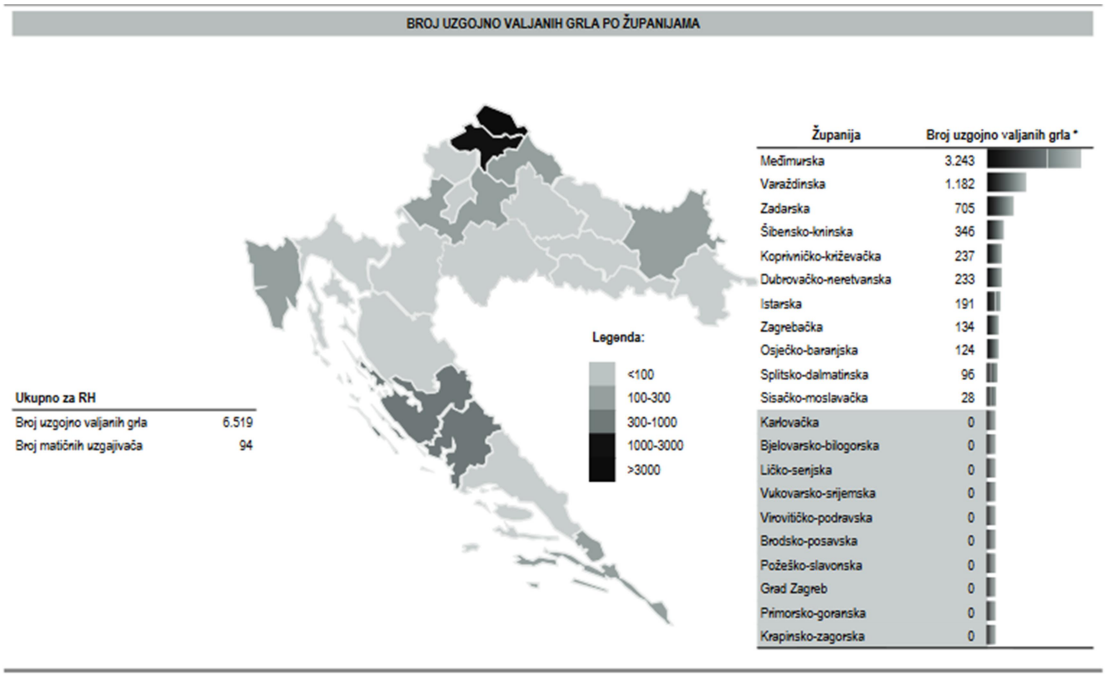
- okolišne čimbenike koji utječu na koncentraciju uree
- fizikalno-kemijsku kvalitetu kao i optimalan odnos masti i proteina
- higijensku kvalitetu (broj somatskih stanica, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija)
- svojstva zgrušavanja mlijeka ovisno o koncentraciji uree u mlijeku i udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi
- poželjan raspon vrijednosti koncentracije uree.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

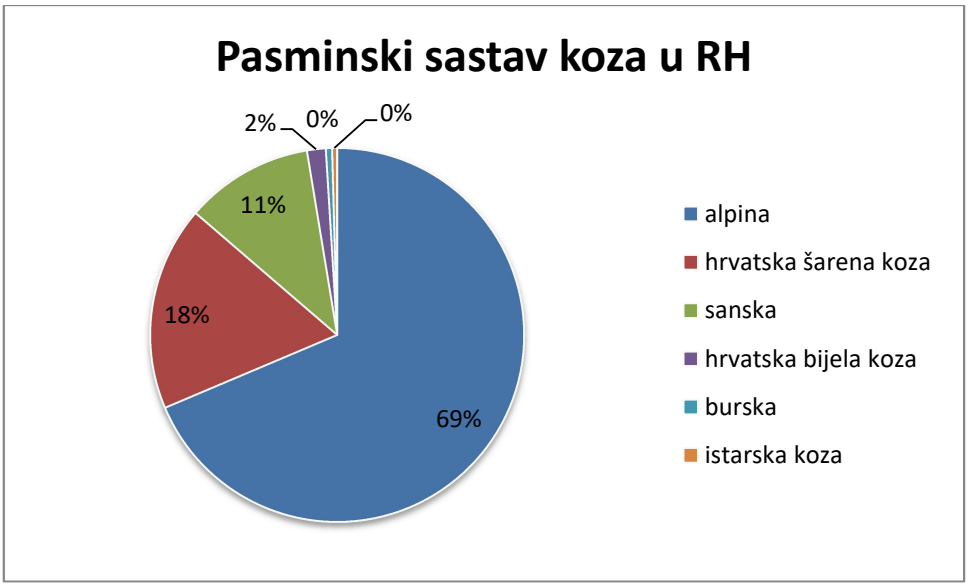
U uzgoju koza u Republici Hrvatskoj u posljednjem desetljeću zamijećeno je postupno povećanje populacije koza kao i znatno povećanje količine mlijeka i mesa. Proizvodnja kozjeg mlijeka sve je važniji izvor prihoda obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava na područjima gdje kozarska proizvodnja nije od primarne važnosti (Međimurje, Podravina, Zagorje, Prigorje i dr.). Koze odlikuje visok stupanj prilagodljivosti na različite okolišne i hranidbene uvjete pa se nerijetko ističe kako su izrazito učinkovite u pretvaranju grube voluminozne krme (šiblja, lišća niskog drveća, grmlja) u visoko vrijedne proteine mlijeka i mesa. Također, razlog povećanog interesa za kozarsku proizvodnju može se potražiti i u manjim zahtjevima koza za smještajem zbog manje tjelesne konformacije, visokom stupnju plodnosti i ranoj fiziološkoj zrelosti, sezonskoj poliestričnosti te velikom broju proizvoda u koristi i namjeni. Mliječne koze drže se u različitim uvjetima, od izrazito ekstenzivnih, gdje im osnovu u hranidbi čini oskudni brst, do izrazito intenzivnih, gdje je hranidba strogo kontrolirana, a obrok čine krmne smjese. Preduvjet je uspješne proizvodnje mlijeka u pravilnoj procjeni: a) hranidbenog statusa stada, b) hranjivosti krme, c) sastavljanja obroka za podmirenje uzdržnih i proizvodnih potreba koza (Grbeša i sur., 2005.).

2.1. Broj koza u Republici Hrvatskoj

Prema podacima Hrvatske poljoprivredne agencije (HPA, 2017.), trenutačno se u Hrvatskoj uzgaja oko 65.000 rasplodnih koza dok je sustavnim uzgojno-selekcijskim radom obuhvaćeno 6.519 uzgojno valjanih koza. Najveći broj koza uzgaja se u Međimurskoj i Varaždinskoj županiji (slika 1). Od ukupne populacije uzgojno valjanih koza, 68,49% čini alpina pasmina (slika 2). Ekstenzivna proizvodnja posebice je karakteristična na području Zadarske i Šibensko-kninske županije, gdje se najviše uzgajaju autohtone pasmine koza hrvatska šarena i hrvatska bijela koza.



Slika 1. Broj uzgojno valjanih koza po županijama (izvor: HPA, 2017.)



Slika 2. Udio pojedinih pasmina koza u uzgojno valjanoj populaciji (izvor: HPA, 2017.)

U 2016. godini laktacija alpina koza u prosjeku je trajala 265 dana, a dojno razdoblje 237 dana. Ukupna količina mlijeka u laktaciji iznosila je 768 kg sa 3,3% mliječne masti i 3,02% proteina (HPA, 2017.).

2.2. Francuska alpska koza (alpina)

Francuska alpska koza kao izrazito mliječna pasmina koza, proširila se znatno izvan okvira svog nastanka (francusko-švicarskih Alpa), a najviše u sredozemnom području. Podjednako je dobro prilagođena ekstenzivnom i intenzivnom sustavu proizvodnje, bilo u nizinskim područjima ili u gorju. Francuska alpska koza danas dominira u hrvatskom mliječnom kozarstvu. Stoga su velike mogućnosti jačanja i razvitka mliječnog kozarstva u gorsko-planinskim i primorskim krškim područjima (Mioč i Pavić, 2002.). Alpina koze su srednje tjelesne razvijenosti, tjelesna je masa odraslih ženskih grla između 50 i 80 kg, a jaraca od 80 do 100 kg (slika 3). Životinje su kratkih uspravnih ušiju, uz mogućnost pojave rogova u muških i ženskih grla. Fina i glatka koža prekrivena je kratkom dlakom. Plodnost ove pasmine je dobra te koze jare najčešće dvoje jaradi. Mliječnost francuske alpske koze posljedica je dugogodišnje sustavne selekcije. Koze tijekom laktacije od 230 do 240 dana proizvedu od 600 do 900 litara mlijeka. Iako su alpina koze vrlo otporne i prilagodljive, za visoku proizvodnju mlijeka potreban je intenzivan program hranidbe uz osiguranje visokog stupnja tjelesnih rezervi prije početka laktacije (Mioč i Pavić, 2002.).

Slika 3. Francuska alpska koza (izvor: Bendelja Ljoljić, 2017.)

2.3. Kozje mlijeko

2.3.1. Proizvodnja

Većina kozjeg mlijeka koje se proizvodi u zapadno-europskim zemljama prerađuje se u sir, dok se u manje razvijenim europskim zemljama kozje mlijeko koristi u svježem stanju. Proizvodnja kozjeg mlijeka od iznimne je važnosti za gospodarstvo i prehranu ljudi mnogih zemalja, Azije i Afrike, srednjeg Istoka, Sredozemlja kao i u razvijenim zemljama Europe, Sjeverne Amerike, Australije i Oceanije (Albenzio i sur., 2006.).

U posljednjih desetak godina zabilježen je trend povećanja ukupne količine kozjeg mlijeka u svijetu, no još je uvijek nedostatna. Velika industrijalizacija kozarske proizvodnje ograničena je manjim opsegom i sezonskom proizvodnjom mlijeka.

Količina mlijeka ovisi o nizu čimbenika, poput genotipa, hranidbe, sezonskih promjena temperature zraka, stadija i redoslijeda laktacije, dužine laktacije, dobi koze, zdravlja životinja te menadžmenta stada (Antunac i sur., 2001. a i c; Mioč i Pavić, 2002.; Guo i sur., 2004.; Žan i sur., 2006.; Park i sur., 2007.).

Genotip je najvažniji čimbenik o kojem ovisi količina i kvaliteta mlijeka te uz brojne negenetske čimbenike određuje granice mogućnosti koza u proizvodnji mlijeka. Odgovarajuća hranidba pak predstavlja najvažniji negenetski čimbenik kojim se uvelike omogućava iskorištenje genetskog potencijala koza.

Laktacijska proizvodnja mlijeka usko je povezana sa sezonom. Najčešće laktacija koza započinje u prvim mjesecima godine, tj. tijekom razdoblja hranidbe koza krmnom smjesom te sjenažom i silažom. U proljeće, kada se koze puste na ispašu, uslijedi naglo povećanje mliječnosti koja se u jesenskim mjesecima ponovno smanjuje.

Kędzierska-Matyseka i sur., (2013.) utvrdili su u ranom razdoblju laktacije (zimski–ranoproljetni obrok) prosječnu dnevnu količinu mlijeka od 1,44 kg. Najviša proizvodnja (2,04 kg) zabilježena je tijekom ljetnih mjeseci, kada su koze boravile na paši, da bi se postupno smanjivala prema kraju laktacije (jesensko-zimski obrok) na 1,16 kg dnevno.

U proizvodnji mlijeka osnovni je cilj postizanje što veće mliječnosti uz što manje troškove, osobito hranidbene, pri čemu zdravlje koza ne smije biti narušeno. Neovisno o načinu držanja, a posljedično i o načinu hranidbe, potrebno je u potpunosti zadovoljiti sve potrebe za hranjivima i energijom. U intenzivnom sustavu kozarske proizvodnje, kada kozama vegetacija nije dostupna po volji pa ne mogu same regulirati konzumaciju hrane, od iznimne je važnosti pravilno sastaviti obrok kako bi se zadovoljile uzdržne i proizvodne potrebe koza. Osnovni obrok koza mora se sastojati od voluminoznih krmiva, a visokoproizvodne koze nisu u mogućnosti sve svoje potrebe (energetske, proteinske,

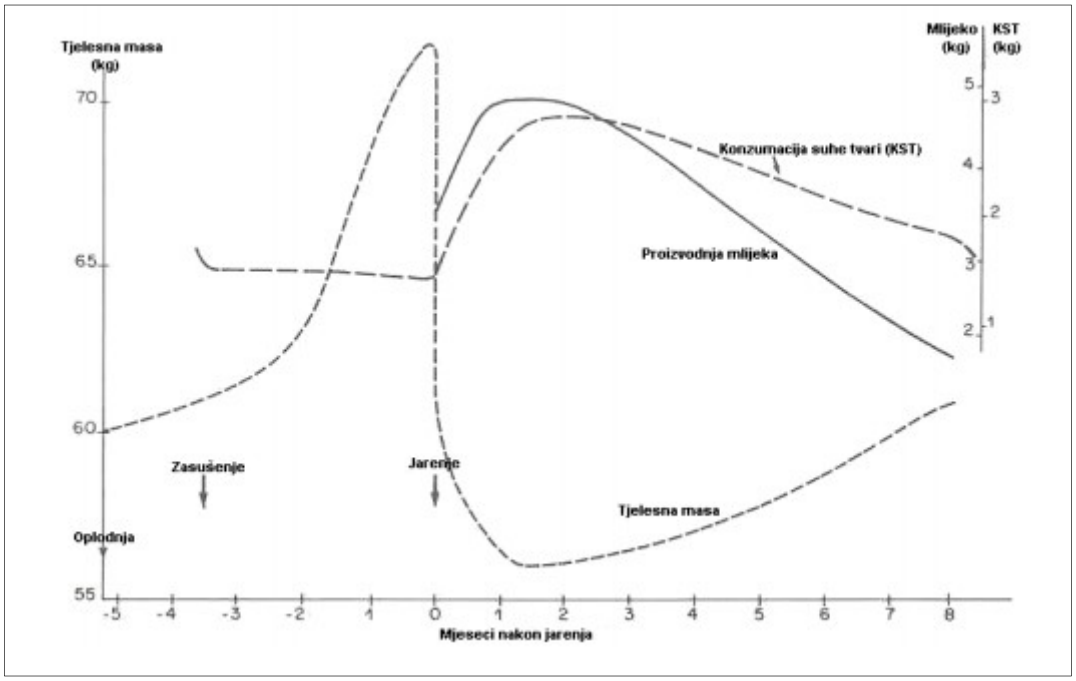
vitaminske) namiriti iz voluminoznog obroka, stoga je nužno obrok izbalansirati krepkim krmivima.

Hranidba mliječnih koza vrlo je zahtjevna i različita ovisno o stadiju reprodukcijskog ciklusa odnosno laktacije.

Laktacijska krivulja koza ima vrlo sličan trend kao i laktacijska krivulja krava (slika 4). Koze vrh mliječnosti postižu jedan do dva mjeseca nakon jarenja, nakon čega se proizvodnja mlijeka postupno smanjuje. U pogledu tjelesne mase koza, trend je obrnut pa najnižu tjelesnu masu koze dosežu šest tjedana nakon jarenja. Mogućnost konzumacije hrane nakon jarenja znatno sporije raste od mliječnosti te vrh doseže osam tjedana nakon jarenja (Grbeša i sur., 2005.), da bi se sa smanjenjem proizvodnje mlijeka postupno smanjivala. Stoga u ranoj laktaciji koze gube na tjelesnoj masi budući da na proizvodnju mlijeka troše više hraniva nego što ih hranom unose pa obrok koza mora sadržavati više energije. Povećani udio proteina u obroku koza u ranoj laktaciji potreban je mikroorganizmima buraga za sintezu mikrobnog proteina. Od iznimne je važnosti postupno povećavati količinu krepkih krmiva, budući da se mikloflora buraga ne može brzo prilagoditi obrocima bogatima njima. Nadalje, kozama je u ranoj laktaciji poželjno dati i *bypass* (u buragu nerazgradivo) proteinsko krmivo kako bi osigurali aminokiseline važne za sintezu mlijeka kao i glukogene aminokiseline potrebne u sintezi mliječnog šećera. Energetski status nakon jarenja najniži je zbog visoke proizvodnje mlijeka pa je nužno spriječiti negativan energetski disbalans u koza s visokim genetskim potencijalom za proizvodnju mlijeka. Najviša proizvodnja mlijeka postiže se odgovarajućom kombinacijom razina hranidbe prije jarenja i poslije jarenja, a najekonomičnija je proizvodnja kada se kombinira intenzivna hranidba za vrijeme rane laktacije s visokom razinom energije prije jarenja (Mioč i Pavić, 1993.).

U sredini laktacije, kada energetska bilanca postane pozitivna, moguće je postupno umanjiti količinu krepkih krmiva u obroku koza uz osiguranje nadoknade potrošenih masnih pričuva. Osim količine krepkih krmiva, od iznimne je važnosti i njihov sastav budući da o njima ovise količina i sastav mlijeka.

Nasuprot tome, potkraj laktacije obnavljaju se tjelesne pričuve zbog većeg unosa hraniva od potrebnih za proizvodnju mlijeka. U kasnoj fazi laktacije, prihranjivanje koza krepkim krmivima od male je važnosti za povećanje mliječnosti, a od izrazitog za osiguranje dobre rasplodne kondicije budući da se u toj fazi koze pripuštaju. Uz osiguranje dovoljnih količina proteina, u kasnoj fazi laktacije neizostavno je osiguravanje energetskih potreba. Većina uzgajivača tijekom cijele laktacije kozama daje istu količinu krepkih krmiva bez obzira na visinu proizvodnje.



Slika 4. Laktacijska krivulja, krivulje konzumacije suhe tvari i tjelesne mase koza tijekom laktacije (izvor: Grbeša i sur., 2005.)

2.3.2. Kemijski sastav

Kozje senmlijeko najvećim dijelom prerađuje u sir, iako se i mala količina kozjeg mlijeka konzumira kao UHT mlijeko ili jogurt. Budući da se sir sastoji od suhe tvari (proteina, mliječne masti, laktoze i soli) i vode, a na prinos sira najveći učinak ima udio masti i proteina u mlijeku, od iznimne je važnosti dobro poznavati promjene kemijskog sastava mlijeka. Ne postoje službeni propisi i zahtjevi o točnom udjelu masti i proteina u mlijeku, osim minimalnih zahtjeva specifičnih za svaku regionalnu industriju prema tržišnim uvjetima i potrebama.

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav kozjeg i kravljeg mlijeka

Sastojak (%)	Kozje mlijeko	Kravlje mlijeko
Suha tvar	12,2	12,3
Mliječna mast	3,8	3,6
Proteini	3,5	3,3
Kazein	2,11	2,70
Laktoza	4,1	4,6
Mineralne tvari	0,8	0,7
NPN*	0,4	0,2

(izvor: Park, 2010.)

Podaci o kemijskom sastavu i fizikalnim svojstvima kozjeg mlijeka (Anifantakis i Kandarakis, 1980.; Jenness, 1980.; Juárez i Ramos, 1986.; Antunac, 1994.; Jandal 1996., Trancoso i sur., 2010). kao i hranjivoj vrijednosti (Božanić i sur., 2002.; Haenlein, 2004.) dostupni su za brojne pasmine koza u svijetu te objavljeni u preglednim radovima (Morgan i sur., 2003.; Park i sur., 2007.; Raynal-Ljutovac i sur., 2008.).

Kozje mlijeko po svom kemijskom sastavu slično je kravljem (tablica 1). Prosječno sadržava 12,2% suhe tvari koja se sastoji od mliječne masti (3,8%), proteina (3,5%), laktoze (4,1%) i mineralnih tvari (0,8%). U odnosu na kravlje mlijeko, kozje sadržava manje ukupnog kazeina ali više neproteinske dušične frakcije (tablica 1).

2.3.2.1. Suha tvar

Suha tvar mlijeka sastoji se od: mliječne masti, proteina, laktoze i pepela. Varijabilnost suhe tvari u najvećoj mjeri ovisi o udjelu mliječne masti, dok suha tvar utječe na prehrambenu vrijednost mlijeka, randman, konzistenciju i kvalitetu mliječnih proizvoda. Brojni autori navode različite vrijednosti suhe tvari u kozjem mlijeku, od 11,15 do 11,9% (Antunac, 1994.), 10,63 – 12,94% (Mayer i Fiechter, 2012.b), 12,4% (Mayer i Fiecher, 2012.a), 12,57 – 13,13% (Kondyli i sur., 2012.) do 14,8% (Raynal-Ljutovac i sur., 2008.).

2.3.2.2. Mliječna mast

Mast kozjeg mlijeka sastavljena je od triacilglicerola (98-99%), a karakterizira ju viši udio nižih masnih kiselina (20%) u odnosu na mast kravljeg mlijeka (12%) (Juarez i Ramos, 1986.). Karakterističan „kozji miris“ potječe od nižih masnih kiselina (kapronske,

kaprilne i kaprinske). Mast se u mlijeku nalazi u obliku masnih globula prosječnog promjera <3μm, koje su male i ima ih mnogo pa je njihova relativna površina veća te ih enzimi lipaze u crijevima lakše razgrađuju. Takve male globule mliječne masti jednoličnije su raspršene u mlijeku s obzirom na to da kozje mlijeko ne sadržava aglutinin pa masne globule nemaju sposobnost izdvajanja na površinu, što ne dovodi do agregacije i daje puno bolju homogenost kozjeg mlijeka (Le Mens, cit., Antunac i Samaržija, 2000.).

Mliječna mast je najvarijabilniji sastojak mlijeka, a njezin udio ovisi o nizu čimbenika: hranidbi, genotipu (pasmini), stadiju i redoslijedu laktacije, sezoni, zdravstvenom statusu mliječne žlijezde i dr. Znatna su variranja udjela mliječne masti tijekom laktacije koji je u obrnuto proporcionalnom odnosu s proizvodnjom mlijeka. Hranidba je najvažniji čimbenik varijabilnosti udjela mliječne masti. Naime, obrok koji sadržava dovoljne količine voluminozne hrane utječe na povećanje udjela mliječne masti u mlijeku, dok prijelaz s hranidbe sijenom na pašu uzrokuje znatno smanjenje udjela mliječne masti. U visoko mliječnih pasmina koza, povećanje sadržaja energije u obroku tijekom laktacije dovodi do povećane proizvodnje mlijeka i udjela proteina za 0,1-0,15% uz smanjenje udjela mliječne masti za 0,2-0,4% (Morand-Fehr i Le Jaouen, cit., Antunac i Samaržija, 2000.). Najniže vrijednosti mliječne masti utvrđene su u ljetnim mjesecima (lipanj-srpanj), što je dijelom uvjetovano načinom hranidbe, sezonom i stadijem laktacije. Stadij laktacije također je važan čimbenik kemijskog sastava mlijeka. U istraživanju, Strzalkowska i sur., (2009.) ističu da je udio mliječne masti najniži tijekom srednjeg stadija laktacije (3,38%). Garefa i sur., (1985.) tvrde da se udio mliječne masti smanjuje odmicanjem laktacije sa 5,96% na 4,76%, dok je od minorne važnosti utjecaj redoslijeda laktacije kao i dobi životinje. Pri infekciji mliječne žlijezde smanjuje se udio mliječne masti zbog smanjenja sintetske sposobnosti žljezdanog tkiva.

Prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017.), kozje mlijeko mora sadržavati minimalno 2,5%, a najviše 5% mliječne masti.

2.3.2.3. Proteini

Mlijeko sadržava više od 200 različitih proteina, od kojih je u njemu većina zastupljena u tragovima. Od ukupnih dušičnih tvari mlijeko sadržava oko 95% pravih proteina i 5% neproteinskih dušičnih tvari (NPN), u koje se ubrajaju molekule koje sadržavaju dušik, ali nisu pravi proteini (urea, aminokiseline, kreatin, kreatinin, amonijak, aminošećeri i dr.). Pravi su proteini mlijeka kazein i sirutkini proteini, a zastupljeni su u mlijeku u omjeru ≈80:20. Osim po udjelu u mlijeku, pravi proteini međusobno se razlikuju

po kemijskom sastavu i strukturi, veličini i obliku te po funcionalnim i tehnološkim svojstvima (Tratnik i Božanić, 2012.).

Urea je najveća pojedinačna neproteinska dušična tvar (NPN), koja čini oko 50% ukupnog NPN u kravljem mlijeku (Wolfschoon-Pombo i Klostermeyer, 1981.).

Kozje mlijeko sadržava više NPN i manje kazeina od ovčjeg i kravljeg mlijeka, stoga sporije i teže formira gruš te ima manji randman (Guo, 2003.). Jooyandeh i Aberoumand (2010.) navode viši udio neproteinske dušične frakcije kozjeg u odnosu na kravlje mlijeko. Sadržaj kazeina u kozjem mlijeku varira od 1,6% do 2,6%, a udio je NPN u ukupnim dušičnim frakcijama između 3% i 13% (Remeuf i Lenoir, 1986.). Kazein kozjeg mlijeka sadržava više β-kazeina te daje mekši i krhkiji gruš.

Prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017.), kozje mlijeko mora sadržavati najmanje 2,5%, a najviše 4,5% proteina.

Proteini su manje varijabilan sastojak mlijeka u odnosu na mliječnu mast, a važni su u proizvodnji sira najviše za svojstva zgrušavanja. Udio proteina u mlijeku promjenjiv je ovisno o genotipu, stadiju laktacije i hranidbi.

Garefa i sur., (1985.) navode postupno povećanje udjela proteina u mlijeku prema kraju laktacije sa 3,30% na 3,75%

2.3.2.4. Omjer mliječna mast:protein

Omjer mliječna mast/protein (M:P) prvenstveno se koristi za procjenu hranidbenog statusa mliječnih životinja, odnosno opskrbljenosti životinja energijom, proteinima i sirovim vlaknima te u procjeni metaboličkih poremećaja poput ketoze i acidoze (Heuer i sur., 1999. cit. Puangdee i sur., 2016.; Duffield, 2004.). Optimalan omjer M:P definiran je za kravlje mlijeko te prema Richardsu (2004.) iznosi od 1,1 do 1,5, dok Haas i Hofirek, 2004. cit. Puangdee i sur., (2016.) i Čejna i Chládek, (2005.) navode da je optimalan omjer u rasponu od 1,2 do 1,4. Omjer M:P niži od 1,2 označava supkliničku acidozu buraga čime je narušena reproduktivna sposobnost životinja, dok omjer M:P viši od 1,4 odražava energetski nedostatak i moguće supkliničke ketoze.

Početak laktacije karakterizira povećana sinteza mliječne masti u vimenu (Klein i sur., 2012 cit. Puangdee i sur., 2016) i omjer M:P viši od 1,5 zbog energetskog deficita zbog povećanih potreba životinja za energijom te stoga životinje mobiliziraju tjelesne pričuve masti. Istovremeno, smanjen unos fermentirajućih ugljikohidrata može dovesti do nedostatne sinteze proteina mlijeka.

Prema istraživanju Bonanno i sur., (2008.) Girgentana koze koje su boravile na pašnjacima prosječno su proizvele 1160 g mlijeka sa 3,8% mliječne masti i 3,9% proteina, a omjer M:P iznosio je 0,99 sa rasponom od 0,57 do 1,73.

Količina proizvedenoga sira povezana je s omjerom mliječna mast:protein (M:P), odnosno mliječna mast:kazein (M:K), koji u kravljem mlijeku iznosi 1:0,7.

2.3.2.5. Laktoza

Mliječni šećer, laktoza, glavni je ugljikohidrat kozjega, ovčjega i kravljeg mlijeka. Laktoza je disaharid sastavljen od 2 monosaharida, glukoze i galaktoze, koji također mogu biti prisutni u mlijeku u malim količinama (Božanić i sur., 2002.). Laktoza je važan sastojak mlijeka jer pogoduje crijevnoj apsorpciji kalcija, magnezija i fosfora, ali i iskorištenju vitamina D. Od velike je važnosti za održavanje osmotske ravnoteže između krvotoka i alveolarnih stanica mliječne žlijezde tijekom sinteze mlijeka (Larson i Smith, 1974. cit Park i sur., 2007.). Proizvodnja svih fermentiranih mliječnih proizvoda temelji se na fermentaciji laktoze. Laktoza je sastojak mlijeka svih sisavaca osim tuljana i to u različitim koncentracijama. Naime, podjednako je sadržavaju kozje i kravlje mlijeko, iako pojedini autori (Haenlein, 1996.; Antunac i Samaržija, 2000.) navode niži sadržaj laktoze u kozjem mlijeku.

Osim laktoze, u kozjem mlijeku nalaze se u malim količinama i drugi ugljikohidrati: oligosaharidi, glikopeptidi, glikoproteini i nukleotidni šećeri, no njihova je funkcija u kozjem mlijeku vrlo malo proučavana.

Udio laktoze u mlijeku pojedinih vrsta prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. Udio laktoze u mlijeku pojedinih mliječnih životinja

Mlijeko	Laktoza (%)
Kravlje	4,82
Kozje	4,51
Ovčje	4,75
Kobilje	6,9
Mlijeko magarice	6,88
Devino	4,30

(izvor: Barłowska i sur., 2011.)

Iz tablice 2 vidljiva je velika varijabilnost udjela laktoze u mlijeku pojedinih vrsta. Kravlje, kozje i ovčje mlijeko sadržavaju gotovo jednake udjele laktoze (4,5% - 4,8%) dok mlijeko magarice i kobile sadržava više laktoze (≈7%).

Hoxha i Mara, (2012.) navode različite udjele laktoze u kravljem (4,39% – 5,22%), ovčjem (3,8% – 3,95%) i kozjem (4,07% – 4,28%) mlijeku ovisno o pasmini. Mayer i Fiechter (2012.a) u mlijeku šest pasmina koza u Austriji utvrdili su prosječan udio laktoze od 4,23%.

Iako je laktoza manje varijabilan sastojak mlijeka u odnosu na mliječnu mast i proteine, udio laktoze u mlijeku mijenja se pod utjecajem pasmine, zdravlja mliječne žlijezde i stadija laktacije. Najveće promjene u udjelu laktoze u mlijeku događaju se zbog pojave mastitisa, kada je sinteza laktoze smanjena. Promjene u udjelu laktoze tijekom laktacije suprotan je onomu za mliječnu mast i protein. Tako su Bhosale i sur., (2009.) utvrdili znatno povećanje udjela laktoze u mlijeku tijekom laktacije. Laktoza je u ovčjem mlijeku kao i u ostalih preživača niža početkom i potkraj laktacije, suprotno od udjela masti i proteina u mlijeku (Pulina i Bencini, 2004.; Haenlein i Wendorff, 2006.).

2.3.2.6. Suha tvar bez masti

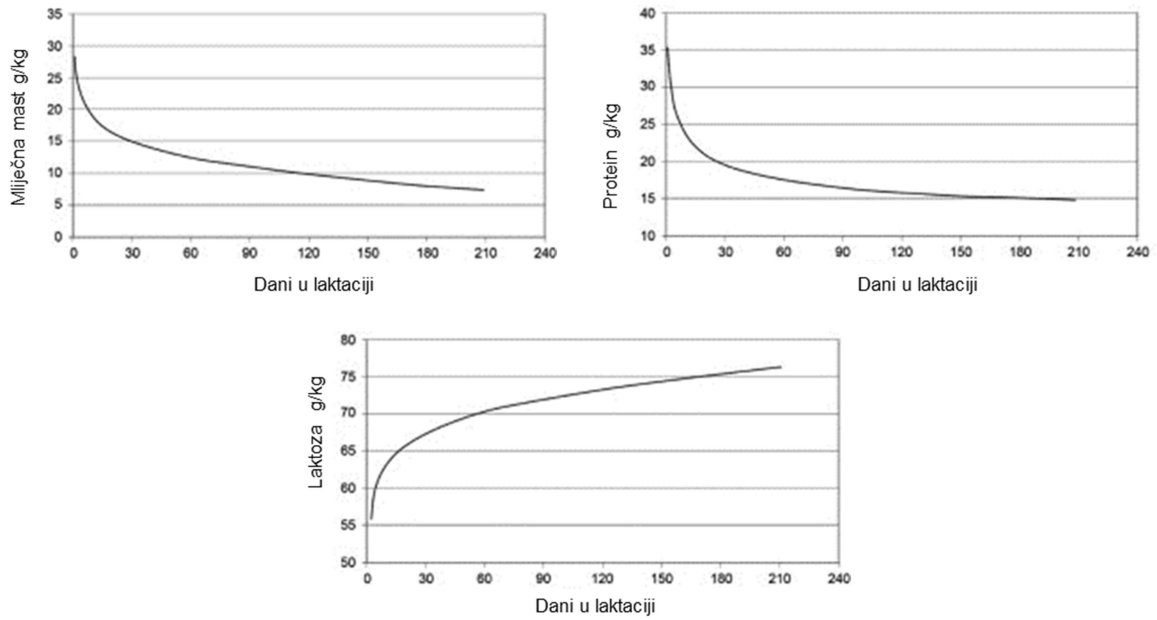
Suha tvar bez masti (Sbm) kemijski je pokazatelj koji ovisi o udjelu proteina, laktoze i mineralnih tvari. Određivanje suhe tvari bez masti važno je u procjeni patvorenja mlijeka. Udio Sbm utječe na konzistenciju i kvalitetu proizvoda kao i na randman sira. Pravilnikom o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017.) propisano je da kozje mlijeko ne smije sadržavati manje od 7,5% suhe tvari bez masti.

Voutsians i sur., (1990.) utvrdili su 8,32% Sbm u mlijeku alpina koza u Grčkoj, dok su Hoxha i Mara, (2012.) za navedenu pasminu u Albaniji utvrdili nešto nižu vrijednost (7,77%).

2.3.2.7. Utjecaj pojedinih čimbenika na kemijski sastav kozjeg mlijeka

Kemijski sastav kozjeg mlijeka varira ovisno o hranidbi, pasmini, stadiju i redoslijedu laktacije, godišnjem dobu te okolišnim čimbenicima (Park i sur., 2007.). Varijacije kemijskog sastava kozjeg mlijeka najčešće su uvjetovane hranidbom i sezonom. Temeljni sastojci kozjeg mlijeka najviše vrijednosti dostižu početkom laktacije, nakon čega se njihov udio smanjuje, da bi se prema kraju laktacije ponovno povećale (Guo i sur., 2001.). Poseban se naglasak pri tom stavlja na znatnu promjenjivost udjela mliječne masti

i proteina tijekom godine, što se negativno odražava na standardiziranost kvalitete sira. Poznato je da se sastav kozjeg mlijeka mijenja tijekom laktacije (Keskin i sur., 2004.). Naime, odmicanjem laktacije povećava se udio mliječne masti, proteina, suhe tvari i mineralnih tvari u mlijeku, dok se udio laktoze smanjuje (Haenlein, 2004.). Dnevna količina mlijeka postupno se smanjuje prema kraju laktacije, a udio suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina povećava se od 190. dana pa do kraja laktacije (Králíčková i sur., 2013.). Sredinom laktacije (sredinom ljeta), kada je okus kozjeg mlijeka najizraženiji, udio mliječne masti i proteina nizak je budući da klimatski uvjeti uzrokuju proizvodnju mlijeka s nižim udjelom mliječne masti i suhe tvari.



Slika 5. Udio mliječne masti, proteina i laktoze u kozjem mlijeku tijekom laktacije

Promjene udjela mliječne masti i proteina suprotne su promjenama udjela laktoze u mlijeku (slika 5).

Budući da hrana utječe na sastav kozjeg mlijeka, razlike se mogu javiti i zbog različitih proizvodnih sustava (intenzivan, temeljen na hranidbi koza sijenom, odnosno ekstenzivan sustav proizvodnje utemeljen na hranidbi koza svježom voluminoznom krmom). Naime, Galina i sur., (2007.) uvidjeli su značajne razlike u sastavu mekog kozjeg sira proizvedenog od mlijeka koza hranjenih sijenom u usporedbi s onima hranjenih svježom voluminoznom krmom.

Udio proteina i mliječne masti u mlijeku ovisi u najvećoj mjeri o sastavu hrane. Ako obrok mliječnih životinja sadržava 15% sirovih proteina u suhoj tvari (ST), razgradivi

proteini mogu biti jedini izvor proteina, dok je za obrok sa 18% sirovih proteina u ST nužan pravilan omjer razgradivih i nerazgradivih proteina poput zaštićene soje ili kukuruznoga glutenskog brašna (Grbeša i sur., 2005.). Na poželjan udio mliječne masti u mlijeku može se utjecati dodavanjem voluminozne krme, dok se istovremeno može smanjiti mliječnost kao i udio proteina u mlijeku.

Voluminozna krma količinom i oblikom (sijeno i sjenaža, paša, livadne trave, leguminoze, djetelina, zeleni silažni kukuruz) utječe na udio mliječne masti u mlijeku. Sirova su vlakna (celuloza, hemiceluloza i lignin) najvažnijii sastojak voluminozne krme koji utječe na količinu masti u mlijeku, a čiji kemijski sastav ovisi o vrsti i stadiju razvoja biljke. Razgradnjom voluminozne hrane nastaju octena, propionska i maslačna kiselina koje su važne za sintezu mliječne masti. Neizostavno treba istaknuti kako voluminozna krma daje visok udio mliječne masti, ali nisku proizvodnju mlijeka, dok povećanje krepkog dijela obroka djeluje suprotno. Stoga je izbalansiranost obroka osnovni preduvjet za visoku proizvodnju mlijeka s visokim udjelom mliječne masti.

Svaka promjena sastava mlijeka odrazit će se na hranidbenu, tehnološku i gospodarsku vrijednost kozjeg mlijeka te drugih mliječnih proizvoda.

Sezonska poliestričnost koza uvjetuje znatne razlike sastava kozjeg mlijeka. Naime, koze se najčešće pripuštaju samo jednom godišnje pa je i jarenje te početak laktacije najčešće u rano proljeće. Pritom se uz fazu laktacije uvijek povezuju i sezonske promjene mlijeka (Haenlein, 1993.). Mayer i Fiechter (2012.b) tvrde da su udjeli suhe tvari, mliječne masti i proteina važan pokazatelj sezonske varijacije, s tim da je najniža vrijednost utvrđena u razdoblju od svibnja do listopada, a najviša potkraj listopada, odnosno prema kraju laktacije. Istraživanjem u SAD-u utvrđen je vrlo visok udio mliječne masti i proteina u siječnju (5,1% i 4,5%) najvjerojatnije zbog kombinacije dvaju čimbenika, malog broja uzoraka i niske proizvodnje kozjeg mlijeka (Zeng i sur., 2008.).

Osim hranidbe, sezone i stadija laktacije, važan je čimbenik kemijskog sastava kozjeg mlijeka i pasmina. U tablici 3 prikazan je prosječni kemijski sastav mlijeka različitih pasmina koza u Hrvatskoj i Europi.

Tablica 3. Prosječni kemijski sastav mlijeka (%) pojedinih pasmina koza u Hrvatskoj i Europi

Država	Pasmina	Suha tvar	Mliječna mast	Protein	Laktoza	Izvor
Hrvatska	alpina	-	3,26	3,01	-	HPA, 2017.
Hrvatska	sanska	-	3,78	2,99	-	HPA, 2017.
Hrvatska	alpina	-	3,47	3,08	4,54	Mioč i sur., 2008.
Hrvatska	sanska	-	3,25	3,01	4,46	Mioč i sur., 2008.
Austrija	sanska	12,37	3,73	3,34	4,31	Mayer i Fiechter, 2012a
Austrija	togenburška	12,47	3,86	3,40	4,46	Mayer i Fiechter, 2012a
	sanska	-	3,61	2,65	4,30	Superchi i sur., 2007.
Italija	girgentana	-	3,93	3,48	4,55	Todaro i sur., 2005.
Grčka	alpina	11,76	3,44	3,35	4,30	Voutsinas i sur., 1990.

Pasmina značajno utječe na količinu i sastav kozjeg mlijeka. Treba razlikovati autohtone pasmine s relativno niskom proizvodnjom mlijeka, ali s visokim udjelom suhe tvari, odnosno boljom kvalitetom mlijeka, i pasmine selekcionirane za visoku mliječnost te s niskim udjelom suhe tvari. Iz tablice 3 vidljiva je razlika u kemijskom sastavu mlijeka različitih pasmina koza. Primjerice, mlijeko girgentana koza u Italiji prosječno sadržava 3,93% mliječne masti (Todaro i sur., 2005.), dok mlijeko sanskih koza u Hrvatskoj prosječno sadržava 3,25% mliječne masti (Mioč i sur., 2008.). Udio proteina u mlijeku također varira između pasmina, od 2,65% u mlijeku sanskih koza (Superchi i sur., 2007.)

do 3,48% u mlijeku girgentana koza (Todaro i sur., 2005.). Mlijeko alpina koza u Hrvatskoj prosječno sadrži 3,26% mliječne masti i 3,01% proteina, dok mlijeko sanskih koza sadržava 3,78% mliječne masti i 2,99 % proteina (HPA, 2017.). Flamant i Morand-Fehr, (1982.) zaključili su da zbog biološki uvjetovane negativne korelacije između proizvedene količine mlijeka i njegova kemijskog sastava proizlazi utjecaj genotipa na kemijski sastav mlijeka. Visokomliječne koze u pravilu proizvode mlijeko s nižim udjelom mliječne masti i proteina. Trancoso i sur., (2010.) utvrdili su značajne razlike u kemijskom sastavu mlijeka 4 autohtone pasmine koza u Portugalu i sanske koze, dok Mayer i Fiechter, (2012a) ne navode značajne razlike u kemijskom sastavu mlijeka između 6 mliječnih pasmina koza u Austriji.

Redoslijed laktacije utječe na udio mliječne masti i proteina u mlijeku, te količinu proizvedenoga mlijeka. Pojedini autori (Zeng i Escobar, 1995.; Carnicella i sur., 2008.) navode nižu proizvodnju mlijeka u prvojarki nego u koza koje su se jarile više puta, dok su najvišu proizvodnju mlijeka utvrdili u koza u 3. ili 4. laktaciji. Zeng i sur., (2008.) navode vrlo slične vrijednosti udjela mliječne masti i proteina u mlijeku tijekom prvih pet laktacija, ali mnogo niže u 6. laktaciji.

2.3.3. Fizikalna svojstva

Fizikalna su svojstva mlijeka gustoća, titracijska i ionometrijska kiselost, točka ledišta, točka vrelišta, redoks potencijal, viskoznost, indeks refrakcije, električna provodljivost, osmotski tlak i površinski napon.

Iako su se kriteriji za procjenu kvalitete mlijeka uglavnom odnosili na utvrđivanje udjela mliječne masti, proteina i suhe tvari, uvedeno je i određivanje točke ledišta u svrhu utvrđivanja dodane vode u mlijeko (Antunac i sur., 2001b).

Prema *Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (2017.), kozje mlijeko mora imati kiselinski stupanj od 6,5 do 8,0ºSH, odnosno pH-vrijednost od 6,4 do 6,7, ne smije imati gustoću nižu od 1,024 g/cm^3 pri temperaturi od 20ºC, a točku ledišta ne višu od -0,540ºC.

Prosječne vrijednosti pojedinih fizikalnih svojstava kozjeg mlijeka prikazane su u tablici 4.

Tablica 4. Pojedina fizikalna svojstva kozjeg i kravljeg mlijeka

Svojstvo	Kozje mlijeko	Kravlje mlijeko
Gustoća	1,032	1,032
pH-vrijednost	6,50	6,6
Titracijska kiselost (ºSH)	8,0	7,1
Točka ledišta (ºC)	-0,570	-0,524

(izvor: Pulina i Bencini, 2004.)

2.3.3.1. Kiselost

Mogući su uzroci povišene kiselosti mlijeka: nestručno obavljena mužnja, neodgovarajuće postupanje s mlijekom tijekom i nakon mužnje i tijekom transporta te loša mikrobiološka kvaliteta mlijeka. Dvije su vrste kiselosti - titracijska i ionometrijska kiselost. Niska se kiselost negativno odražava na svojstva zgrušavanja mlijeka, pri čemu sirno tijesto postaje spužvasto i gnjecavo. Povišena kiselost mlijeka (viša od 8ºSH) dovodi do nastanka kiselog okusa mlijeka koje se tijekom zagrijavanja zgruša. Kiselost se osim kao titracijska može izraziti i kao pH-vrijednost, a smanjuje se povećanjem temperature. Visoka pH-vrijednost u pozitivnoj je korelaciji sa smanjenim sadržajem laktoze. Mayer i Fiechter (2012a) navode da je prosječna pH-vrijednost mlijeka 6,55.

2.3.3.2. Točka ledišta

Relativno niska varijabilnost točke ledišta mlijeka posljedica je osmotske ravnoteže u mlijeku i krvi. Točka ledišta mlijeka ovisi o otopljenim tvarima u mlijeku, ponajviše o laktozi i kloridima (75–80%), dok preostalih 20–25% ovisi o prisutnosti mineralnih tvari (Ca, Mg), soli (laktata, fosfata, citrata), uree itd. (Fox i McSweeney, 1998.). Stoga, mlijeko koje sadržava manje laktoze ima višu točku ledišta. Varijabilnost točke ledišta uvjetuju i unos vode, udio CO_2 u mlijeku, toplinski stres, pasmina, sezona i stadij laktacije, hranidba, geografsko područje (Antunac i sur., 2001b; Kedzierska-Matysek i sur., 2011.; Hanuš i sur., 2011.). Na točku ledišta mlijeka mliječna mast i proteini zanemarivo utječu (Bhandari i Singh, 2003.). Točka ledišta kozjeg mlijeka obično varira u rasponu od -0,520°C do -0,540°C pa u usporedbi s kravljim, kozje mlijeko ima nižu točku ledišta što je uzrokovano većim sadržajem suhe tvari bez masti (Alichanidis i Polychroniadou, 1995.). Janštová i sur., (2007.) utvrdili su tijekom laktacije vrijednosti točke ledišta u rasponu od -0,5454°C

do -0,5567°C. Mayer i Fiechter, (2012a) navode prosječnu točku ledišta mlijeka od -0,549°C za 6 pasmina koza u Austriji. U istraživanju o povezanosti koncentracije uree u mlijeku i točke ledišta, Henno i sur., (2008.), navode kako je lošija iskoristivost proteina hrane dovela do viših vrijednosti točke ledišta u kravljem mlijeku. Također, utvrdili su da je točka ledišta mlijeka s niskim udjelom proteina bila bliža nuli od one s višim udjelom proteina. Nadalje, odstupanje točke ledišta mlijeka za svaku promjenu koncentracije uree u mlijeku od 20 mg/L kao i promjenu u udjelu proteina, iznosilo je od 0,00028°C do 0,00043°C. Autori zaključuju da niži unos energije i proteina kao i slabija iskoristivost proteina iz hrane posljedično uzrokuje smanjenu sintezu proteina u mlijeku i višu točku ledišta. Kedzierska-Matysek i sur., (2011.) i Hanuš i sur., (2011.) navode višu točku ledišta kravljeg mlijeka pri višoj koncentraciji uree, što objašnjavaju višim udjelom proteina u mlijeku.

2.3.4. Higijenska kvaliteta

Ukupnu kvalitetu mlijeka uz kemijski sastav i fizikalna svojstva određuje i higijenska kvaliteta (Kalit i Lukač-Havranek, 1998.). Osnovni su pokazatelji higijenske kvalitete mlijeka broj somatskih stanica i ukupan broj mikroorganizama. Prema *Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (2007.), ukupan broj mikroorganizama u kozjem mlijeku ne bi smio biti viši od 1.500.000/mL dok broj somatskih stanica pravilnikom nije definiran.

2.3.4.1. Somatske stanice

Somatske stanice (SS) pokazatelj su higijenskih uvjeta u proizvodnji mlijeka i prihvatljivosti za preradu i konzumaciju. Broj somatskih stanica (BSS) u kozjem mlijeku prema većini autora ne bi smio biti viši od $1x10^6$/mL, što je znatno više od propisane vrijednosti za kravlje mlijeko ($40x10^4$/mL), najvjerojatnije zbog zastupljenosti većeg broja citoplazmatskih čestica koje su rezultat apokrinog tipa sekrecije mlijeka (Dulin i sur., 1982.; Park i Humphrey, 1986.; Hinckley, 1990.). Stoga se za utvrđivanje broja somatskih stanica u kozjem mlijeku ne mogu u potpunosti koristiti metode koje se koriste za kravlje mlijeko, niti prihvatiti granična vrijednost od $40x10^4$ SS/mL pa se preporučuje korištenje metoda koje razlikuju stanice nukleotida od citoplazmatskih čestica (Antunac i sur., 1997a). Jelinek i sur., (1996.) definirali su graničnu vrijednost BSS od $75x10^4$/mL kao češki standard. U skupnim uzorcima kozjeg mlijeka rijetko je BSS manji od $1x10^6$/mL,

osobito pri kraju laktacije. U Sjedinjenim Američkim Državama, Uprava za hranu i lijekove, prihvatila je graničnu vrijednost od $1x10^6$/mL za kozje mlijeko, dok u zemljama EU-a još uvijek ne postoji prihvaćen standard.

Povišeni broj somatskih stanica u kozjem mlijeku posljedica je infekcije mliječne žlijezde, a odražava se promjenama u sekreciji i kemijskom sastavu mlijeka, fizikalnim, bakteriološkim i tehnološkim svojstvima mlijeka. Ostali su čimbenici koji neizravno utječu na broj somatskih stanica, a također pripadaju u rizične čimbenike pojavnosti upale: stres uzrokovan toplinom, dob koze, broj laktacija, problemi s papcima, otvorene ozljede i dr. Zbog infekcije mliječne žlijezde zbivaju se promjene u sadržaju i sastavu mliječne masti, poput povećanja količine sirutkinih proteina i proteina krvi (Antunac i sur., 1997b). Nadalje, smanjuje se količina laktoze budući da kroz inficiranu mliječnu žlijezdu protječe manja količina krvi, a s njom i glukoza koja je jedan od prekursora u sintezi laktoze. Osim promjena kemijskog sastava mlijeka, mikroorganizmi uzročnici mastitisa uzrok su smanjenje titracijske kiselosti i povećanja pH-vrijednosti zbog povećane propusnosti žlijezdanog tkiva za sastojke krvi. Promjene tehnoloških svojstava mlijeka očituju se u nepovoljnim omjerima frakcija kazeina, povećanju pH-vrijednosti, promjenama svojstava zgrušavanja mlijeka, smanjenju randmana i u konačnici kvaliteti finalnog proizvoda. Visok broj somatskih stanica u mlijeku problem je za prerađivače mlijeka. Naime, nepoželjan je visok broj somatskih stanica u mlijeku koje se koristi za preradu, budući da reducira vijek održivosti/trajanja konzumnog mlijeka i fermentiranih mliječnih proizvoda. Aroma takvih proizvodalošija je od onih proizvedenih od mlijeka s niskim brojem somatskih stanica. Iz svega navedenog može se zaključiti da povećan broj somatskih stanica uzrokuje znatne financijske gubitke proizvođačima i prerađivačima mlijeka.

Pasmina, dob, stadij i redoslijed laktacije, sustav držanja, godišnje doba, veličina stada, stresni čimbenici, pretjerana fizička aktivnost ali i mužnja, u znatnoj mjeri uzrokuju varijabilnost broja somatskih stanica u mlijeku koza, budući da se njima može objasniti 48% varijance ukupnog broja somatski stanica (Gonzalo i sur., 2002.; 2005.), dok najveći utjecaj na broj somatskih stanica ima infekcija mliječne žlijezde s patogenim mikroorganizmima.

Stadij laktacije najvažniji je neinfektivni čimbenik povezan s povećanjem broja somatskih stanica u mlijeku (Rota i sur., 1993.; Wilson i sur., 1995.; Galina i sur., 1996.; Zeng i sur., 1997.). Naime, s odmicanjem laktacije povećava se broj somatskih stanica u mlijeku Gomes i sur., (2006.) navode evidentno povećanje broja somatskih stanica u mlijeku u osmom mjesecu ($6,5\times10^5$/mL) u odnosu na vrijednost u prvom mjesecu laktacije koza ($2,6\times10^5$/mL). Paape i sur., (2007.) navode razlog većeg broja somatskih stanica u

mlijeku tijekom prvih 15 dana laktacije u odnosu na cijelu laktaciju, i to zbog većeg broja somatskih stanica u kolostrumu nakon partusa. Zeng i sur., (2008.) utvrdili su povećanje broja somatskih stanica u mlijeku u prvih osam mjeseci laktacije, s relativno konstantnim vrijednostima u posljednja četiri mjeseca.

S redoslijedom laktacije povećava se i broj somatskih stanica u kozjem mlijeku (Wilson i sur., 1995.; Contreras i sur., 1996.; Salama i sur., 2003.; Paape i sur., 2007.; Zeng i sur., 2008.). Niži broj somatskih stanica ($3,0x10^5$/mL) u mlijeku sanskih i autohtonih grčkih koza utvrdili su Boscos i sur., (1996.) u 1. laktaciji, a znatno viši ($6,0x10^5$/mL) u 6. laktaciji. Kao mogući uzrok tog povećanja autori navode veći broj bakterija odnosno nakupljeni stres kod životinja. Wilson i sur. ,(1995) navode da više od 90% promjena u BSS-u nisu rezultat intramamarne infekcije već stadija laktacije i sezone.

2.3.4.2. Ukupan broj mikroorganizama

Mlijeko je vrlo pogodan medij za razmnožavanje i rast mnogih mikroorganizama, i to zbog složenoga biokemijskog sastava, relativno visokog udjela vode i pH-vrijednosti. Na rast i razmnožavanje mikroorganizama utječu: hrana, temperatura, vlaga te količina raspoloživog kisika. Mastitis je najčešća bolest mliječne žlijezde uzrokovana infekcijom patogenim mikroorganizmima. Najčešći su uzročnici mastitisa bakterije *Staphylococcus aureus* i streptokoki, dok se sporadično pojavljuju i drugi uzročnici poput *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. itd. Do sada je poznato oko 150 različitih vrsta mikroorganizama koji mogu biti uzročnici mastitisa. Bolest je zabilježena u gotovo svih vrsta domaćih sisavaca, a najveću gospodarsku važnost ima u krava, koza i ovaca.

2.3.5. Svojstva zgrušavanja mlijeka

Zgrušavanje mlijeka može se definirati kao svojstvo mlijeka da reagira s enzimom zgrušavanja te da formira gruš odgovarajuće čvrstoće u odgovarajućem vremenu. Postupak zgrušavanja mlijeka u proizvodnji sira moguće je prikazati dijagramom u tri faze. Navedeno je moguće kvantificirati uređajem koji se naziva formagraf ili laktodinamograf.

Svojstva zgrušavanja mlijeka mogu se još odrediti sljedećim metodama: refraktometrijom, (Korolczuk i sur., 1988.), infracrvenom spektroskopijom (O'Callaghan i

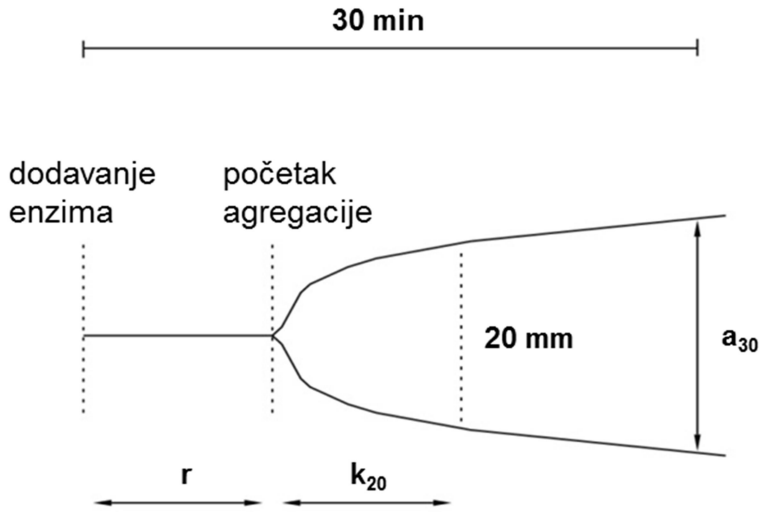
sur., 2000.), vibracijskom viskozimetrijom (Marshall i sur., 1982.; O'Callaghan i sur., 2000.) i fluorescentnom spektroskopijom (Herbert i sur., 1999.).

Svojstva zgrušavanja mlijeka:

1.) vrijeme zgrušavanja (r) je vrijeme od dodavanja sirila u mlijeko do trenutka kada počinje rasti u širinu

2.) brzina formiranja gruša (k_{20}, min) predstavlja interval od početka formiranja gruša do postignute oscilacijske širine od 20 mm

3.) čvrstoća gruša (a_{30}, mm), čvrstoća gruša 30 minuta nakon dodavanja enzima, a predstavlja širinu grafa onog trenutka kada mjerenje završava.



Slika 6. Dijagram vremena zgrušavanja (r), brzine formiranja gruša (k_{20}) i čvrstoće formiranoga gruša (a_{30}) (preuzeto od Ikonen i sur., 2004.)

Tijekom prve faze (r) kimozin cijepa peptidnu vezu između aminokiselina Phe105 – Met106 u peptidnom lancu kapa kazeina (κ-kazein) na hidrofobni dio para-κ-kazein i hidrofilni dio kazeinomakropeptid. κ-kazein igra ulogu zaštitnog koloida te sprječava zgrušavanje mlijeka. Zbog cijepanja κ-kazeina omogućeno je zgrušavanje mlijeka te agregacija kazeina.

Druga neenzimska faza započinje prije nego što se cijeli κ-kazein pocijepa. Tijekom treće faze zgrušavanja mlijeka agregirane kazeinske micele formiraju više ili manje čvrstu strukturu gela. Mjerenje traje 30 minuta, budući da se u proizvodnji većine sireva gruš počinje rezati 30 minuta nakon dodavanja enzima (Ikonen i sur., 2004.).

Vrijednosti svojstava zgrušavanja u kravljem mlijeku mogu varirati, ali u većini slučajeva one iznose (Havranek i sur., 2014.) : r – 12 min; k_{20} – 8 min; a_{30} – 36 mm.

Brojna istraživanja o utjecaju sastava mlijeka na svojstva zgrušavanja provedena su na kravljem, a vrlo malo na kozjem mlijeku (Storry i sur., 1983.; Remeuf i Lenoir, 1986.; Ambrosoli i sur., 1988.; Clark i sur., 2000.; Hoxha i Mara, 2012.).

Hoxha i Mara, (2012.) navode relativno kraće vrijeme zgrušavanja (8,5 - 11,14 min.) kravljeg mlijeka u odnosu na kozje mlijeko (12,28 - 15,17 min). Brzina formiranja gruša (k_{20}) u kravljem mlijeku (8,5 - 10,8 min.) bila je kraća od one utvrđene u kozjem mlijeku (14,9 min.). Čvrstoća gruša (a_{30}) bila je znatno veća u kravljem (14 - 18,46 mm) nego u kozjem mlijeku (2,6 - 6,05 mm). Autori zaključuju da je kraće vrijeme zgrušavanja povezano s boljom čvrstoćom gruša.

Kraće vrijeme zgrušavanja kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje, kao i mekanija konzistencija gruša upućuju na lošiju sposobnost prerade kozjeg mlijeka u sir (Remeuf i Lenoir, 1986. cit Park i sur., 2007.). Udio kazeina u mlijeku značajno utječe na svojstva zgrušavanja, što potvrđuju Storry i sur., (1983.). Autori navode da je maksimalna čvrstoća gruša kozjeg mlijeka mnogo manja, čak i kada kozje mlijeko sadržava isti udio kazeina kao i kravlje, ali i da gruš nije tako čvrst kao onaj od kravljeg mlijeka.

Poznato je da visoki udjeli mliječne masti i proteina u mlijeku pridonose boljim svojstvima zgrušavanja mlijeka i većem prinosu sira. Također, pojedini autori navode da veći udio proteina i/ili kazeina u kravljem mlijeku skraćuje vrijeme zgrušavanja, povećava brzinu formiranja gruša i gruš je čvršći (Jen i Ashworth, 1970.; Schaar, 1984.; Okigbo i sur., 1985.; Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986.; Politis i Ng-Kwai-Hang, 1988.). Suprutno tome, Ambrosoli i sur., (1988.) navode da visoki udio proteina i kazeina u kozjem mlijeku posljedično uzrokuje dulje vrijeme zgrušavanja (r), brže formiranje gruša i veću čvrstoću gruša (a_{30}).

Jedan je od osnovnih problema u preradi mlijeka postizanje odgovarajuće prikladnosti mlijeka za sirenje, pri čemu su najvažnija svojstva zgrušavanja mlijeka (vrijeme zgrušavanja, brzina formiranja gruša i čvrstoća gruša).

Svojstva zgrušavanja mlijeka ovise o pH-vrijednosti (Ostersen i sur., 1997.; Ikonen i sur., 2004.); količini kalcijevog klorida ($CaCl_2$) u mlijeku (Ostersen i sur., 1997.; Pytel i sur., 2016.); udjelu proteina odnosno kazeina (Ostersen i sur., 1997.; Guinee i sur., 2001.; Auldist i sur., 2002.). Temeljni je čimbenik brzine formiranja gruša i njegove čvrstoće

α_{s1}-kazein (Park, 1994.; Clark i Sherbon, 2000.). Kozje mlijeko sadržava manje kazeina, osobito α_{s1}-kazeina, a gruš od kozjeg mlijeka obično je mekaniji i nježniji u odnosu na gruš od kravljeg mlijeka. Fermentacija kozjeg mlijeka traje dulje zbog većeg udjela sirutkinih proteina koji kozjem mlijeku osiguravaju bolji puferni kapacitet, čime je i pad pH-vrijednosti sporiji. Čvrstoća gruša u pozitivnoj je korelaciji s ukupnim udjelom kalcija i β-kazeina. Brzina zakiseljavanja također je u pozitivnoj korelaciji s udjelom β-kazeina, a u negativnoj s ukupnim i ionskim kalcijem i omjerom α_{s1}/β-kazein (Božanić i sur., 2002.).

Vrijeme zgrušavanja u pozitivnoj je korelaciji s udjelom suhe tvari, suhe tvari bez masti, α_{s1}–kazeinom i čvrstoćom gruša, što potvrđuju rezultati istraživanja Storry i sur., (1983.) i Ambrosoli i sur., (1988.). Mlijeko s višim udjelom suhe tvari, osobito suhe tvari bez masti i proteina, kasnije započinje zgrušavanje od mlijeka s nižim udjelom suhe tvari što upućuje na činjenicu kako proteini odgađaju zgrušavanje.

Također, svojstva zgrušavanja mlijeka mijenjaju se pod utjecajem pojedinih sastojaka mlijeka (npr. mliječne masti, zatim omjera M:P, laktoze, uree), fizikalnih svojstava (npr. titracijske kiselosti, pH- vrijednosti) odnosno broja somatskih stanica. Dodatni su čimbenici koji utječu na svojstva zgrušavanja mlijeka i: životna dob (Schaar, 1984.; Tyrisevä i sur., 2004.), stadij laktacije (Macheboeuf i sur., 1993.; Guinee i sur., 2001.), sezona (Martini i sur., 2008.; Salari i sur., 2016.) i pasmina (Auldist i sur., 2002.; De Marchi i sur., 2007., Hoxha i Mara, 2012.).

Iako u sastavu mlijeka alpina i sanskih koza Ambrosoli i sur., (1988.) nisu utvrdili značajne razlike, autori navode bolja svojstva zgrušavanja (kraći r, viši k_{20} i a_{30}) u mlijeku alpina koza. Suprotno tome, Clark i Sherbon, (2000.) nisu utvrdili značajan utjecaj pasmine (alpina i sanska) na svojstva zgrušavanja mlijeka iako je postajala značajna razlika u sastavu mlijeka (udio Sbm i α_{s1}–kazein).

Smatra se kako povećanje koncentracije uree u mlijeku dovodi do djelomične disocijacije frakcija kazeina, kalcija i fosfora u topljivu fazu te smanjene sposobnosti zgrušavanja mlijeka. Također, više koncentracije uree inhibiraju aktivnost mljekarskih kultura te mijenjaju kemijski sastav svježeg sira.

2.4. Urea u mlijeku

2.4.1. Razgradnja proteina hrane

Temeljna, anatomsko-fiziološka razlika između preživača i drugih sisavaca proistječe iz činjenice da preživači imaju složenu građu probavnog sustava. Najvažnija su mjesta razgradnje proteina hrane i apsorpciju dušika u preživača burag, tanko i debelo crijevo. Različiti su mehanizmi uključeni u proces probave hrane u različitim dijelovima probavnog sustava. Zbog prisutnosti buraga, samo razumijevanje metabolizma preživača kompliciranije i složenije u odnosu na ne preživače.

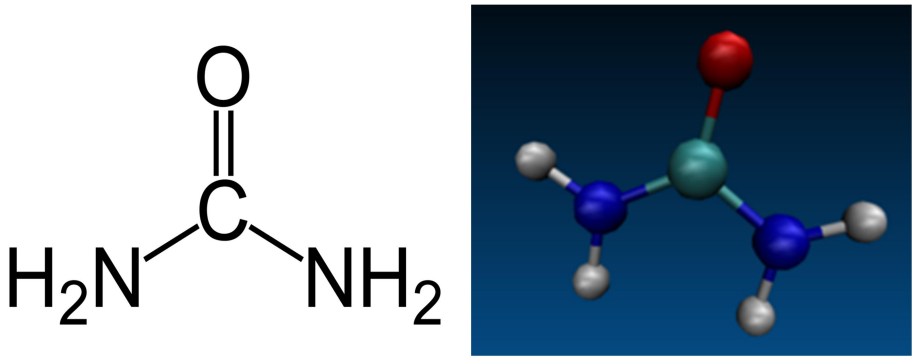
Mikrobna sinteza od iznimne je važnosti za preživače, budući da mikroorganizmi osiguravaju za životinju potrebne aminokiseline.

Preživači ne sintetiziraju enzime za razgradnju vlakna, ali zbog simbiotskog odnosa s mikroorganizmima buraga njihova je razgradnja moguća. Razgradnju hrane ne provodi sama životinja, već kompleksna mikrobna zajednica koja se sastoji od bakterija, protozoa, arhea i gljiva. Ova složena zajednica živi u simbiozi s domaćinom, pružajući mu uvjete za rast. Mikroorganizmi buraga osiguravaju domaćinu energiju u obliku hlapljivih masnih kiselina i aminokiselina, odnosno mikrobni protein i vitamin kroz mikrobnu razgradnju biljnog materijala (Hungate, 1966. cit. Genzebu i Tesfay, 2015.).

Bakterije čine oko polovice mikrobne populacije u buragu, a odgovorne su za najveći dio fermentacije i nastanak mikrobnog proteina (Sylvester i sur., 2005.). Protozoe su druga po veličini skupina mikroorganizama i tvore 20-50% mikrobne populacije. Glavna je uloga protozoa u procesu probave hrane razgradnja bakterijskih i gljivičnih stanica. Njihov doprinos u stvaranju mikrobnog proteina u buragu je relativno mali, zbog relativno dugog vremena zadržavanja u buragu. Uloga gljivica uključuje razgradnju vlakana vrlo aktivnim celulolitičkim enzimima (Lee i sur., 2000.). Između 0,3 i 3,3% mikroorganizma buraga čine arhee koje su u metabolizmu buraga okarakterizirane kao sekundarni fermentatori i ne pridonose izravnoj razgradnji hrane (Henderson i sur., 2015.).

2.4.2. Sinteza uree

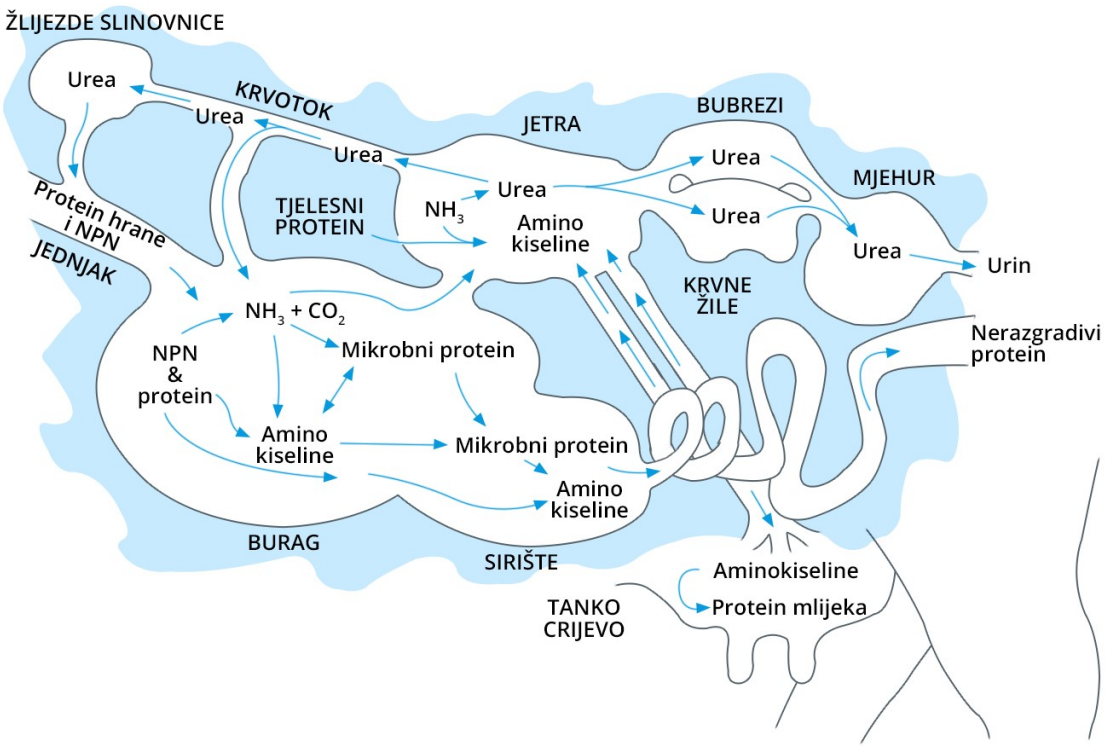
Ureu je u urinu otkrio 1773. godine francuski kemičar Hilaire Rouelle. Smatra se da je ona prvi organski spoj sintetiziran iz anorganskih spojeva, što je 1828. godine uspjelo Friedrichu Wöhleru. U kopnenih kralježnjaka urea se sintetizira u ciklusu uree koji je otkrićem Hansa Adolfa Krebsa i Kurta Henseleita davne 1932. godine službeno postao prvi kružni metabolički put ikada otkriven. Urea, karbamid ili mokraćevina prema van den Bijgaartu (2002) mala je organska molekula sastavljena od ugljika, dušika, kisika i vodika (slika 7).



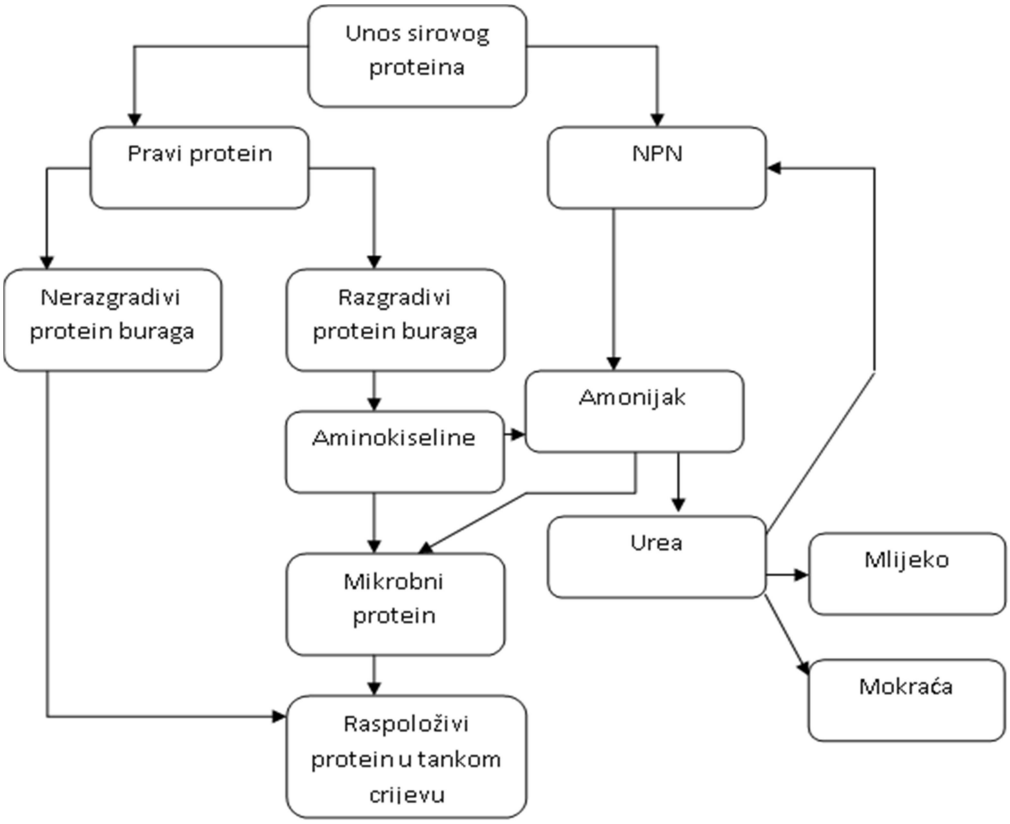
a) b)

Slika 7. a) Strukturna formula uree, b)Trodimenzionalni prikaz molekule uree

Od ukupnih dušičnih tvari u mlijeku, 95% čine pravi proteini, a svega 5% neproteinske dušične tvari, tj. spojevi koji u svojoj molekuli sadržavaju dušik, a nisu proteini (urea, aminokiseline, kreatin, kreatitnin, mokraćna kiselina). Urea je sastojak krvi i drugih tjelesnih tekućina (mlijeka, sline, mokraće, želučanoga i crijevnog soka) i normalni je sastojak koji nastaje razgradnjom tjelesnih proteina djelovanjem mikroorganizama. Gotovo 60-100% proteina hrane koji dospijevaju u organizam preživača prelazi u amonijak. Mikroorganizmi buraga koriste amonijak kao izvor dušika i ugrađuju ga u mikrobni protein koji, uz nerazgrađeni protein hrane, odlazi u tanko crijevo, gdje se razgrađuje u jednostavnije sastojke koji se mogu resorbirati. Ako je sinteza mikrobnog proteina spora, višak nastalog amonijaka u buragu odlazi krvotokom do jetre u kojoj se metaboličkim procesom pretvara u ureu. Stoga se može reći da su stanice mitohondrija jetre, glavno mjesto sinteze uree, koja dalje krvotokom odlazi u bubreg iz kojeg se izlučuje mokraćom (slika 8 i 9).



Slika 8. Razgradnja proteina u preživača
(Izvor: Bryant i Moss, modificirano)



Slika 9. Metabolizam proteina u buragu (Izvor: Carlsson i Bergstrom, 1994., modificirano)

Pri oštećenju bubrega i nakon hranidbe životinja obrocima bogatim proteinima, koncentracija uree u krvnoj plazmi značajno se povisuje (Mitin, 1974.). Kada koncentracija uree nastale u organizmu prijeđe «bubrežni prag», njezina se koncentracija u krvi povisuje. S obzirom na to da se sintezom uree nastoji ukloniti suvišan dušik, odnosno uspostaviti njegova ravnoteža, amino skupine koje nisu potrebne za biosintezu aminokiselina ili drugih dušikovih spojeva moraju biti uklonjene iz organizma jer je amonijak vrlo reaktivan i kao takav toksičan (Huntington i Archibeque, 1999.). Prema Symonds i sur., (1981.), jetra mliječnih krava može uspješno ukloniti toksični amonijak do koncentracije od 12,0 g NH_3-N·h^{-1}. Pri koncentraciji od 23,0 g NH_3-N·h^{-1} dolazi do trovanja, pa krava nemoćno leži. Ako u perifernoj cirkulaciji (nakon jetre) amonijak dosegne koncentraciju od 2 do 4 mg/100 mL krvi, krava ugiba (Symonds i sur., 1981.). Višak proteina u obroku, posebice lako probavljivih, te nedostatak energetskih krmiva u hranidbi uzrokovat će višak dušičnih tvari u buragu uz veliko oslobađanje i resorpciju amonijaka, te porast koncentracije uree u mlijeku (Campanile i sur., 1998.). Aminokiselinski sastav proteina i dušičnih spojeva za mikrobnu sintezu u buragu nije ključan, jer se mikrobna sinteza i rast buragovih mikroorganizama temelje na

elementarnim tvarima biljnih krmiva, kao što su lakotopljivi i probavljivi proteini i razni dušični spojevi iz biljnih krmiva (aminokiseline, nitrati, urea, amonijak). Ključan je čimbenik osiguranje dovoljne količine ugljikohidrata dostupnih buragu, kako bi mikroorganizmima buraga osigurali dovoljnu količinu energije za pretvaranje amonijaka u mikrobni protein.

2.4.3. Važnost određivanja uree u mlijeku

Određivanja koncentracije uree usko je povezano s učinkovitošću proizvodnje, reprodukcijskim sposobnostima (Godden i sur., 2001a.; Marenjak i sur., 2004.; Mellado i sur., 2004.; Butler, 2005.; Biswajit i sur., 2011.), preradbenim svojstvima mlijeka i onečišćenjem okoliša.

Uravnotežena hranidba smatra se temeljem učinkovite proizvodnje kozjeg mlijeka. Općenito, prema istraživanjima, troškovi hranidbe čine oko 50% izravnih troškova proizvodnje kozjeg mlijeka. Stoga uravnotežena struktura hranidbe i bilansiranje stvarnih potreba donose uštede, a istovremeno se postiže povećanje količine i kvalitete mlijeka. Pritom urea služi kao dobar pokazatelj opskrbljenosti koza energijom i proteinima. Utvrđivanjem granične vrijednosti koncentracije uree u mlijeku alpina koza smanjili bi se troškovi hranidbe zbog racionalnijeg unošenja proteina, kao najskupljeg sastojka obroka, a hranidbom koza prema stvarnim potrebama povećala dobit.

Biološki mehanizmi za objašnjenje korelacija između koncentracije uree i reprodukcijskih sposobnosti koza još uvijek su nepoznanica. Neke su od pretpostavki kako visoka koncentracija amonijaka ili uree utječe na embrionalni razvoj izravno preko promjene kemijske okoline ili neizravno preko energetskog statusa. Plodnost životinja glavni je čimbenik profitabilnosti mliječnih stada. Selekcija životinja na veću mliječnost rezultirala je smanjenom plodnosti zbog antagonističke genetske korelacije između proizvodnih i reprodukcijskih svojstava (Pryce i sur., 2004.). Na plodnost životinja utječe velik broj čimbenika, a menadžment hranidbe svakako igra ulogu u postizanju zadovoljavajućega reprodukcijskog statusa. Prevelika količina u buragu razgradivih proteina djeluje putem dosad nepoznata mehanizma na pad pH-vrijednosti u maternici tijekom lutealne faze embrionalnog razvoja, što posljedično može uzrokovati smanjenje plodnosti (Elrod i Butler, 1993.). Rani embrionalni razvoj zahtjeva odgovarajuće uvjete u jajovodu i maternici. Visoke koncentracije uree ili amonijaka u krvi mogu biti toksične za spermu, jajašca ili embrij, odnosno mogu dovesti do destrukcije cilija u jajovodu (Moore i Varga, 1996.). Uvođenjem u obrok više u buragu nerazgradivih proteina (*bypass*) snižava

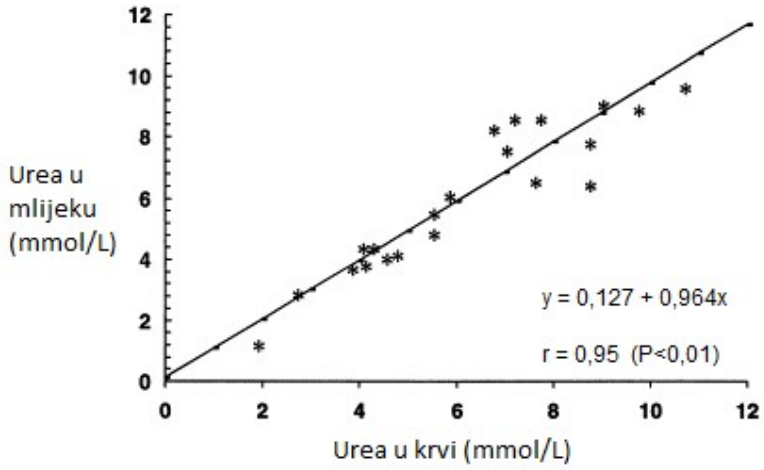
se koncentracija uree u mlijeku i krvi, a poboljšava plodnost. Neke studije izvijestile su o negativnom učinku visoke koncentracije uree u mlijeku na reprodukcijske odlike mliječnih životinja (Gustafsson i Carlson, 1993.; Wittwer i sur., 1999.; Rajala-Schultz i sur., 2001.; Nourozi i sur., 2010.). U krava je uočeno kako koncentracija uree u krvi viša od 10 mg/100 mL povećava rizik od pobačaja i posljedično uzrokuje niski stupanj koncepcije (Mellado i sur., 2004.). Međutim, neke studije ne pronalaze negativne učinke više koncentracije uree u mlijeku na plodnost (Melendez i sur., 2000.; Godden i sur., 2001a.).

Jedan je od osnovnih problema u preradi mlijeka postizanje odgovarajuće prikladnosti mlijeka za sirenje, pri čemu su najvažniji pokazatelji svojstva zgrušavanja mlijeka (vrijeme zgrušavanja, brzina formiranja gruša i čvrstoća gruša). Istraživanja koja se odnose na utjecaj pojedinih sastojaka (kazeina, proteina, mliječne masti, omjera M:P, laktoze, uree), fizikalnih svojstava mlijeka (titracijske kiselosti, pH-vrijednosti) i broj somatskih stanica na preradbena svojstva mlijeka, obično su fokusirana na udio kazeina, budući da on najviše sudjeluje u formiranju gruša. Među brojnim sastojcima i fizikalnim svojstvima mlijeka koja utječu na kvalitetu sira koncentracija uree igra važnu ulogu. Istraživanja na kravljem mlijeku pokazala su kako koncentracija uree u mlijeku viša od 49 mg/100 mL produljuje vrijeme zgrušavanja mlijeka, smanjuje čvrstoću gruša pa takvi sirevi sadržavaju više vode. Smatra se kako povećanje koncentracije uree u mlijeku dovodi do djelomične disocijacije frakcija kazeina, kalcija i fosfora u topljivu fazu te smanjene sposobnosti zgrušavanja mlijeka. Također, više vrijednosti koncentracije uree inhibiraju aktivnost mljekarskih kultura te mijenjaju kemijski sastav svježeg sira.

Poznato je da stočarska proizvodnja generira velike količine plinova u tlo i zrak. Jedan od njih je i dušik iz uree, čija je emisija velik okolišni problem u područjima intenzivne stočarske proizvodnje. Dušik iz uree predstavlja okolišni problem, jer se pretvara u atmosferske onečišćivače - amonijak, koji pogoduje nastanku kiselih kiša te dušikov-oksid koji pridonosi klimatskim promjenama. Dušik iz mokraće može biti opasan za ljudsko zdravlje preko nitrata u vodi za piće (Wattiaux i Ranathunga). Hranidbom mliječnih životinja obrokom koji sadržava više proteina, višak unesenog dušika izlučuje se iz organizma u obliku uree, koja se najvećim dijelom pretvara u amonijak i isparava u atmosferu. Emisije amonijaka u atmosferu zabrinjavajuće su jer mogu formirati manje čestice koje uzrokuju astmu i druge plućne tegobe kod ljudi (WHO, 2005.).

2.4.4. Određivanje uree u mlijeku i krvi

Protok krvi kroz bubrege životinja je konstantan i samim time osigurava konstantnu razinu filtracije uree (mililitara krvi filtrirane u minuti), bez obzira na volumen mokraće. Ako je koncentracija uree u krvi visoka, više uree bit će uklonjeno u minuti u usporedbi kada je koncentracija niska, no ukupna količina krvi očišćene ureom bit će podjednaka. Nakon hranjenja mikrobna razgradnja proteina hrane uzrokovat će povećanje koncentracije amonijaka u buragu. Zbog transporta amonijaka iz buraga u krv i naknadne pretvorbe krvnog amonijaka u ureu u jetri, uslijedit će povećanje koncentracije uree u krvi odnosno mlijeku zbog difuzije između mlijeka i krvi. Najviše uree izlučuje se mokraćom. S obzirom na to da je urea mala molekula koja lako difundira u krv i mlijeko, moguće je objasniti međusobnu visoku povezanost koncentracije uree u krvi, mlijeku i mokraći (Butler i sur., 1996.; Broderick i Clayton, 1997.; Jonker i sur., 1998.; Nousiainen i sur., 2004.). Visoku pozitivnu korelaciju između koncentracije uree u krvi i mlijeku u mliječnih krava utvrdili su Roseler i sur., (1993.); Butler i sur., (1996.); Broderick i Clayton, (1997.), u ovaca Cannas i sur., (1998.) i koza Cabiddu i sur., (1999.); Bava i sur., (2001.); Sahoo i Walli, (2008.). Između koncentracije uree u mlijeku i krvi Bed i sur., (1997.) navode visoki pozitivan koeficijent korelacije (r=0,88), dok su Wittwer i sur., (1999.) analizom skupnih uzoraka mlijeka (slika 10) utvrdili nešto višu korelaciju između koncentracije uree u krvi i mlijeku krava (r=0,95; p<0,01). Što je koncentracija uree u krvi viša to će i njezina koncentracija biti viša u mokraći i mlijeku. Zbog visoke povezanosti vrijednosti uree u krvi i mlijeku, lakše dostupnosti i pripreme uzorka, manjih dnevnih variranja kao i ekonomske isplativost same analize prednost ima metoda određivanja koncentracije uree u mlijeku u odnosu na njezino određivanje u krvi (Cannas i sur.,1998.; Shephers i Meijer, 1998.).



Slika 10. Povezanost koncentracije uree u skupnom mlijeku i krvi krava
(Izvor: Wittwer i sur., 1999.)

2.4.5. Pojedinačni i skupni uzorci mlijeka

Broderick i Clayton, (1997.) i Jonker i sur., (1998.) predlažu da se koncentracija uree ne određuje u pojedinačnim uzorcima mlijeka već u skupnom uzorku cijelog stada. Prednosti takva utvrđivanja hranidbenog statusa mliječnih stada bila bi u smanjenju utroška rada i ekonomičnije analize uzoraka. No, međutim, postoji sumnja u interpretaciju tih rezultata, tj. pouzdanosti rezultata koncentracije uree u skupnom uzorku kao pokazatelja prosječne koncentracije uree u stadu. Potencijalne razlike između vrijednosti koncentracije uree individualnih i skupnih uzoraka mlijeka mogu proizaći iz: nepreciznosti pri mjerenju pojedinačnih težina mlijeka, varijanci uzoraka, analitičkoj varijanci, kao i vremenskim učincima budući da skupni i individualni uzorci nisu nužno uzeti pri istoj mužnji (Biswajit i sur., 2011.).

2.4.6. Vrijednosti koncentracije uree u mlijeku

Fiziološka koncentracija uree u kozjem mlijeku nije definirana ,za razliku od kravljeg mlijeka u kojem je ona od 10 do 30 mg/100 mL (Marenjak i sur., 2004.). Budući da su poznate fiziološke vrijednosti koncentracije uree u kravljem mlijeku, potrebno ih je definirati i u kozjem i ovčjem. U različitim izvorima vidljive su različite vrijednosti koncentracije uree u kravljem mlijeku, koje variraju od 12 do 27 mg/100 mL ili od 2,0 do 4,5 mmol/L (Marenjak, 2007.), dok Young, (2001.) navodi od 12 do 16 mg/100 mL kao preporučenu koncentraciju uree u kravljem mlijeku.

U tablici 5 prikazane su koncentracije uree u kozjem mlijeku različitih autora.

Tablica 5. Koncentracija uree u kozjem mlijeku

Koncentracija uree (mg/100 mL)	Tumačenje	Autor
17,6 – 21,6	Alpina koze hranjene koncentratnim dodatkom sa 11,5% sirovih proteina	Min i sur., 2005.
a) 21,7 b) 23,1	a) jonica koze hranjene s malo u buragu razgradivih proteina b) jonica koze hranjene s puno u buragu razgradivih proteina	Laudadio i Trufarelli, 2010.
22,5	Girgentana koze	Bonanno i sur., 2008.
23,62	White short–hired koze	Kuchtík i Sedláčková, 2003.
34,2	Srednja vrijednost dobivena iz 5 provedenih pokusa uz 13 različitih hranidbenih tretmana	Rapetti i sur., 2014.
39,2 – 41,2	Hranidbom koza sa 18-19% sirovih proteina u suhoj tvari obroka	Rapetti i sur., 2009.
40 - 45	Girgentana koze hranjene s komercijalnim koncentratom	Giaccone i sur., 2007
a) 42,12 b) 49,61	a) sanske koze hranjene obrokom koji sadržava11,4% sirovih proteina b) sanske koze hranjene obrokom koji sadržava 17,8% sirovih proteina	Suprechi i sur., 2007.
a) 49,2 b) 56,2 c) 56,2	a) koze tijekom noći boravile na paši b) koze tijekom dana boravile na paši c) koze boravile u štali	Di Grigoli i sur., 2009.

Kuchtík i Sedláčková, (2003.), Todaro i sur., (2005.), Giaccone i sur., (2007.), Sahoo i Walli, (2008.) te Rapetti i sur., (2009.) navode različite vrijednosti koncentracija uree u mlijeku različitih pasmina koza, i to: 23,62 mg/dL (kratkodlaka bijela koza), 43,70 mg/100 mL (girgentana pasmina); 54,4–62,4 mg/100 mL (križanci sanska x beetal i alpina x beetal pasmina); te 39,2-41,2 mg/100 mL (u mlijeku različitih pasmina koza). Brun-Bellut i sur., (1991.), u cilju procjene izbalansiranosti obroka, navode fiziološki raspon koncentracije uree u kozjem mlijeku 28-32 mg/100 mL (tablica 5).

Ako je koncentracija uree izvan fiziološkog raspona vrijednosti, treba razmotriti na koji se način ona odražava na proizvodnju mlijeka te je li obrok energetski i proteinski

uravnotežen. Prekomjerna konzumacija proteina u obroku dovodi do povišene razine uree u mlijeku. Ako je proizvodnja mlijeka niža od očekivane, razlog možemo potražiti u mogućim prevelikim očekivanjima za proizvodnju mlijeka ili u neuravnoteženom obroku uz nedostatnu opskrbu energijom. Ako je proizvodnja mlijeka zadovoljavajuća i u skladu s očekivanjima, a koncentracija uree nije u rasponu fizioloških vrijednosti, nužno je provjeriti sastav krmne smjese, ispitati jesu li su tom hranidbom zadovoljene hranidbene potrebe životinje, ali i je li TMR dobro izmiješan. Neodgovarajuće izmiješani TMR može dovesti do neodgovarajuće raspodjele hranjivih tvari u smjesi, pa pojedine životinje mogu biti pothranjene ili prehranjene pojedinim sastojkom smjese. Sastav krmnih smjesa može biti znatno različit ovisno o načinu rezanja odnosno mljevenja (Kohn, 2007.). Na koncentraciju uree može znatno utjecati i postupak obrade zrna. Naime, ako je zrno pšenice ili neke druge sušene krme tamnosmeđe boje, može sadržavati znatan dio vezanog proteina koji životinja nije u mogućnosti iskoristiti. Također, ako je sijeno tijekom konzerviranja bilo izloženo previsokoj toplini, probavljivost proteina može se smanjiti, a obrok sadržavati premalu količinu razgradivog proteina što može rezultirati niskom koncentracijom uree u mlijeku (Kohn, 2007.).

Uzroci previsoke koncentracije uree u mlijeku (Biswajit i sur., 2011.):

- višak proteina u hrani
- premala količina u buragu razgradivih ugljikohidrata
- višak proteina koji izbjegne razgradnju u buragu
- premali unos vode
- detoksikacijski procesi koji prekomjerno opterećuju jetru
- gubici energije koji proizlaze iz uzgojnih uvjeta.

Uzroci preniske koncentracije uree u mlijeku (Jonker i sur., 1998.):

- nedovoljna razina proteina u hrani
- višak lako probavljivih ugljikohidrata
- neuravnotežen unos energije i proteina koji ne moraju nužno inhibirati produktivnost mliječnih životinja.

2.4.7. Čimbenici varijabilnosti

Na koncentraciju uree u mlijeku utječu brojni čimbenici, hranidba, kao najvažniji, te brojni proizvodni i okolišni čimbenici poput pasmine, stadija i redoslijeda laktacije, vremena mužnja, sezone, tjelesne mase, proizvodnje i kemijskog sastava mlijeka kao i BSS-a (Giaccone i sur., 2007.; Abdouli i sur., 2008.). Varijacije koncentracije uree u mlijeku ne mogu se objasniti samo hranidbenim menadžmentom odnosno proizvodnim i okolišnim čimbenicima već definiranjem njihova zajedničkog utjecaja. Od ukupnih varijacija koncentracije uree u mlijeku, Arunvipas i sur., (2003.) svega 13,3% varijacija pripisuju nehranidbenim čimbenicima dok Hojman i sur., (2004.) istima pripisuju 37% pojedinačnih varijacija. Bonanno i sur., (2008.) utvrdili su kako su udio i omjer sirovih proteina i neutralnih deterdžent vlakana varijable koje najbolje objašnjavaju varijabilnost koncentracije uree u mlijeku.

2.4.7.1. Hranidba

Koncentracijaj uree u mlijeku ovisi o razini konzumacije sirovih proteina hrane, o postotku u buragu razgradivih (RDP) i nerazgradivih proteina (RUP), kao i odnosu energije i proteina u obroku (Kohn, 2007.). U buragu su razgradivi i nerazgradivi protein neophodan izvor energije za bakterije buraga kao i za sintezu proteina. RDP prolazi kroz burag nepromijenjen, a samo neki podliježu probavi u tankom crijevu. Nužan je za postizanje više razine proizvodnje mlijeka. Uspostavljanjem ravnoteže u omjeru između RDP-a, RUP-a i nevlaknastih ugljikohidrata (izvor energije za mikroorganizme buraga), s manjom količinom proteina u obroku moguće je osigurati veću proizvodnju mlijeka. Prema NRC-u (2007.), svega 45% RDP-a apsorbira se u obliku aminokiselina, a ostatak se izlučuje urinom. Za učinkovito iskorištenje dušika potrebna je odgovarajuća energija u buragu koja uglavnom dolazi iz šećera, škroba i pojedinih vlakana. Nasuprot tome, 85% RUP-a apsorbira se čime je istaknuta njegova važnost za učinkovito korištenje proteina hrane.

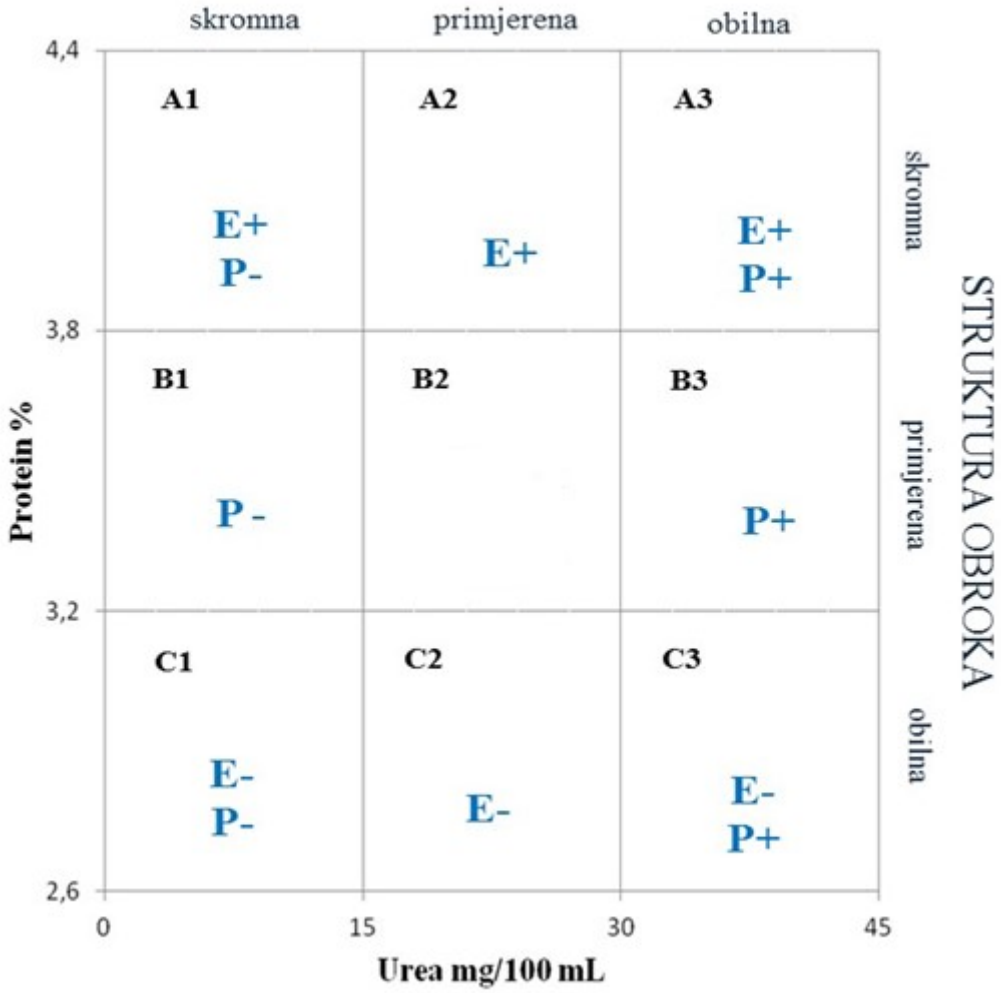
Kako se sintezom uree nastoji ukloniti suvišan dušik, odnosno uspostaviti njegova ravnoteža, višak proteina u obroku, posebice lakoprobavljivih te nedostatak energetskih krmiva u hranidbi uzrokovat će višak dušičnih tvari u buragu uz veliko oslobađanje i resorpciju amonijaka te povećanje koncentracije uree u mlijeku. Visoka koncentracija uree u mlijeku pokazatelj je prevelike količine amonijaka u buragovu soku, što može prouzročiti niz problema kao što su: preveliko iskorištenje energije za izlučivanje dušika iz tijela, preveliko opterećenje jetre prilikom pretvaranja amonijaka u ureu, te onečišćenje zraka u staji zbog prevelike koncentracije dušika u urinu (Babnik i sur., 2004.). Odnos između

koncentracije uree i sadržaja proteina u mlijeku inverzan je budući da su niže vrijednosti koncentracije uree povezane s većom iskoristivošću proteina hrane. Naime, niska koncentracija uree u mlijeku pokazatelj je malog sadržaja amonijaka u buragovu sadržaju, što može upozoravati na nepovoljne uvjete za rast mikroorganizama zbog teže probave hrane u buragu kao i manje sinteze mikrobnih proteina u buragu (Marenjak i sur., 2004.). Poznato je kako je povećani unos razgradivih proteina u buragu odgovoran za porast koncentracije uree u mlijeku i krvi, a vrlo malo služi za sintezu proteina mlijeka (Roseler i sur., 1993.; Kampl i Stolla, 1995.; Campanile i sur., 1998.; Marenjak i sur., 2004.). Krmiva koja sadržavaju lakotopljive i razgradive proteine poput zelenih krmiva, trave, pšenice, ječma i sličnih žitarica, ne daju visoki postotak proteina u mlijeku (Feldhofer, 1997.). Također, Feldhofer (1997.) ističe kako upotrebom krmiva sa stabilnijim proteinima poput kukuruzne silaže, suncokretove sačme, uljane repice, sušenog sijena, sojine ljuske, uz proteine lako razgradive u buragu koji se pretvaraju u mikrobni protein, u tanko crijevo dolazi veća količina proteina za enzimsku razgradnju kao i kvalitetne aminokiseline potrebne za sintezu tkiva i proteina mlijeka. Takvom hranidbom moguće je poboljšati količinu i kakvoću proteina u mlijeku. Babnik i sur., (2004.) navode kako je za obroke u kojima prevladava krma s travnjaka ili travna silaža karakteristično povećanje koncentracije uree u mlijeku u odnosu na obroke koji obiluju kukuruznom silažom ili sijenom. Ako obrok obiluje krepkim krmivima, dolazi do zakiseljavanja sadržaja buraga, manja je probavljivost voluminozne hrane te smanjena sinteza mikrobnog proteina, a posljedica je manji sadržaj proteina u mlijeku (Babnik i sur., 2004.). Na koncentraciju uree u mlijeku utječu i neki drugi čimbenici poput količine škroba koji se ne može razgraditi u buragu i tankom crijevu te fermentira u debelom crijevu pa se dio dušika veže za mikrobne proteine koji se iz organizma izlučuju fecesom. Hranidbom mliječnih životinja obrokom koji obiluje u buragu nerazgradivim škrobom veći se dio dušika iz organizma izlučuje fecesom, a samo manji dio urinom i mlijekom (Jonker i sur., 1998.; Babnik i sur., 2004.). Stoga se pri takvoj hranidbi, a pri istoj koncentraciji amonijaka u buragovu soku, očekuje niža koncentracija uree u mlijeku.

Čimbenici obroka koji utječu na koncentraciju uree u mlijeku:

a) svojstva osnovnog obroka (sadržaj sirovih proteina u obroku najviše utječe na koncentraciju uree u mlijeku)
b) dopuna osnovnog obroka (obroke koji obiluju proteinima treba dopuniti žitaricama, a one siromašne proteinima sojinom ili suncokretovom sačmom)
c) sastav krepkih krmiva (sadržaj proteina u krepkim krmivima te njihova razgradivost u buragu).

Opskrbljenost krava energijom i proteinima proizlazi iz koncentracije uree i proteina u mlijeku, što je prikazano na slici 11.



Slika 11. Procjena opskrbljenosti krava energijom i proteinima na osnovi koncentracije uree i udjela proteina u mlijeku (prilagođeno prema Babnik i sur., 2004.)

Za kvalitetnu procjenu obroka mliječnih krava ili drugih mliječnih životinja potrebno je imati precizne podatke o udjelu proteina i koncentraciji uree u mlijeku. Za svaku procjenu pravokutnik treba podijeliti u 9 kvadranata s obzirom na opskrbljenost krava s energijom i proteinima. Iz slike 11 može se zaključiti da je obrok dobro izbalansiran energijom (E) i proteinima (P) te prilagođen stvarnim potrebama krava, ako koncentracija uree u mlijeku iznosi 15 - 30 mg/100 mL, a udio proteina u mlijeku 3,2 - 3,8%. Može se reći da su krave, u pogledu svojih potreba optimalno opskrbljene pa su u mogućnosti

dobro iskoristiti genetski potencijal za proizvodnju mlijeka. Ako su ispunjeni i drugi uzgojni uvjeti (higijena krava i štale, primjerena opskrba vitaminima i mineralima, dobro zdravstveno stanje krava) možemo očekivati dobru proizvodnju mlijeka, poželjan udio mliječne masti i proteina u mlijeku kao i njihov omjer, dobru plodnost, otpornost na bolesti te dug proizvodni vijek krava.

Za kvadrante A1, B1, C1 važno je pomanjkanje u buragu razgradivih proteina, otežana probava i manja sinteza mikrobnih proteina. Ovaj problem moguće je otkloniti povećanjem sadržaja proteina u obroku krava.

Za kvadrante A3, B3, C3 važan je višak u buragu razgradivih proteina. Ovaj problem moguće je riješiti smanjenim unosom sirovih proteina u obroku te povećanjem energetskog dijela obroka, ponajviše žitarica i drugih krmiva koje sadržavaju više energije.

Za kvadrante A1, A2, A3 važna je velika opskrbljenost energijom. Nužno je voditi računa kako krave pri kraju laktacije, kada su im smanjene potrebe za energijom, ne bi pripadale ovim kvadrantima jer postoji velika mogućnost da se pretjerano udebljaju.

Za kvadrante C1, C2, C3 važno je pomanjkanje metaboličkih proteina i energije u obroku kao posljedica: manjeg unosa u buragu razgradivih proteina (kvadrant C1), manje energije potrebne za sintezu mikrobnih proteina u buragu (kvadrant C2), te smanjen unos u buragu nerazgradivih proteina (kvadrant C3).

Tablica 6. Prijedlozi za rješavanje problema zbog hranidbe krava neizbalansiranim obrocima energijom i proteinima

A1	**A2**	**A3**
↑ unos u buragu razgradivih proteina (paša, svježa trava, djetelinsko-travne smjese), kod nedostatka sijena ili silaže u obrok dodajemo suncokretovu sačmu ili sačmu uljane repice	↑ urea u mlijeku = ↓ unos u buragu razgradivih proteina	↓ unos u buragu razgradivih proteina (smanjiti unos krme s travnjaka) (pri kraju laktacije smanjiti energiju u obroku).
B1	**B2**	**B3**
↑ unos u buragu razgradivih proteina (smanjiti udio kukuruzne silaže a povećati udio paše, zelene krme i travne silaže)	obrok izbalansiran energijom i proteinima	↓ unos u buragu razgradivih proteina (paša, zelena krma, travna silaža) a ↑ količinu kukuruzne silaže (koristiti sjenažu umjesto travne silaže).
C1	**C2**	**C3**
↑ unos u buragu razgradivih proteina (smanjiti udio kukuruzne silaže a povećati udio paše, zelene krme i travne silaže, uljanih sačmi ili drugih proteinskih krmiva) urea optimalna, a udio proteina u mlijeku se smanjuje = povećati energiju u obroku	↑ unos energije u obroku ↓ urea u mlijeku = ↑ unos u buragu razgradivih proteina ↓ protein u mlijeku = ↑ unos u buragu nerazgradivih proteina (sojina sačma, kukuruzni gluten).	↑ unos energije u obroku ↓ urea u mlijeku = ↑ unos u buragu razgradivih proteina i kukuruzne silaže i krepkih krmiva s manjim udjelom proteina ↑protein u mlijeku = ↑ unos u buragu nerazgradivih proteina (sojina sačma, kukuruzni gluten).

2.4.7.2. Sezona

Uz hranidbu, sezona je čimbenik varijabilnosti koncentracije uree u mlijeku alpina koza, kao i dnevne proizvodnje mlijeka i kemijskog sastava (udjela mliječne masti, proteina i kazeina). Poznato je da su više vrijednosti koncentracije uree u mlijeku utvrđene tijekom ljetnih mjeseci kada se udio neproteinskih dušičnih frakcija u mlijeku povećava. Uzrok više koncentracije uree u mlijeku proizvedenom ljeti može biti povezanost sezone s dostupnošću voluminozne krme. Naime, Carlsson i sur., (1995.) navode da se udio ukupnog dušika i pravih proteina (većinom kazeina) u mlijeku smanjuje tijekom ljeta, dok se, istodobno, udio neproteinskih dušičnih frakcija mlijeka povećava pa je, stoga, koncentracija uree u mlijeku najviša ljeti. Prema Moller i sur., (1993.), varijacije koncentracije uree u mlijeku povezane su sa sezonskim promjenama udjela proteina iz paše i energetskih komponenata obroka, a poznato je da svježa paša sadržava vrlo probavljive proteine te visoki odnos energije i proteina. Hojman i sur., (2004.) utvrdili su izravan utjecaj sezone na koncentraciju uree u mlijeku, odnosno najveće vrijednosti uree upravo u mlijeku proizvedenom ljeti. Kim i sur., (2013.) navode najviše vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku tijekom ljeta (30,14 mg/dL), a najniže u proljeće (26,30 mg/dL). Giaccone i sur., (2007.) sezonske varijacije uree u mlijeku tumače fiziološkim i prehrambenim uvjetima. Naime, zimski mjeseci (siječanj, veljača i ožujak) odlikuju se s višim razinama uree u mlijeku u usporedbi s proljetnim mjesecima (travanj, svibanj i lipanj), dok su najviše vrijednosti utvrđene u srpnju budući da su pašnjaci na Siciliji zimi bogatiji topljivim dušikom, ali siromašniji energijom i neutralnim deterdžent vlaknima (NDF).

Niža koncentracija uree u mlijeku u proljeće može se, eventualno, objasniti smanjenom mliječnošću, kao i smanjenom mogućnošću konzumacije suhe tvari obroka neposredno nakon partusa. Sezonske varijacije koncentracije uree u mlijeku povezane su sa sezonskim promjenama udjela proteina iz paše i energetskih komponenata obroka, a poznato je da svježa paša sadržava vrlo probavljive proteine te visok odnos energije i proteina.

2.4.7.3. Stadij laktacije

Tijekom rane laktacije koncentracija uree u mlijeku najniža je zbog smanjene mogućnosti konzumacije suhe tvari neposredno nakon partusa kao i zbog naglog povećanja mliječnosti. Uz pretpostavku da je obrok uravnotežen u pogledu energije (fermentirajući ugljikohidrati) i proteina (u buragu razgradivi proteini), u kasnoj laktaciji dolazi do smanjenja koncentracije uree u mlijeku budući da su smanjene i potrebe mliječnih životinja za proteinima. Promjena koncentracije uree u kravljem mlijeku prati laktacijsku krivulju, odnosno krivulju kretanja dnevne proizvodnje mlijeka (Johnson i Young, 2003.; Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Slične promjene koncentracije uree u kozjem mlijeku utvrdili su Giaccone i sur., (2007.) navodeći najvišu koncentraciju uree u mlijeku upravo u vrijeme postizanja vrha laktacije između 30. i 60. dana laktacije. Kuchtík i Sedláčková, (2003.) utvrdili su u mlijeku lokalne češke pasmine koza najvišu koncentraciju uree (30,92 mg/100 mL) 135. dana laktacije, koja se postupno smanjivala prema kraju laktacije, da bi 258. dana iznosila 19,16 mg/100 mL. Smanjenje koncentracije uree u mlijeku tijekom laktacije moguće je objasniti smanjenjem unosa proteina hrane, a vjerojatno i zbog smanjene ponude visokoproteinskog bilja na pašnjaku.

2.4.7.4. Redoslijed laktacije

Povećanjem redoslijeda laktacije značajno se povisuje i koncentracija uree u mlijeku i u krvi (Ng-Kwai-Hang i sur., 1985.; Carlsson i sur., 1995.; Godden i sur., 2001b; Arunvipas i sur., 2003.; Wood i sur., 2003.; Hojman i sur., 2004.). Naime, mliječne životinje u prvoj laktaciji u fazi su rasta i razvoja pa učinkovitije iskorištavaju aminokiseline iz obroka. Zbog toga se u jetri formira manja količina uree pa je koncentracija uree i u mlijeku niža. Također, mogući razlog je činjenica što životnje u prvoj laktaciji proizvode manju količinu mlijeka. Giaccone i sur., (2007.) utvrdili su znatno niže vrijednosti koncentracije uree u mlijeku prvojarki (41,09 mg/100 mL) u odnosu na drugojarke i trećejarke (45,03 i 44,43 mg/100 mL). Suprotno tome, Jonker i sur., (1998.) i Doska i sur., (2012.) navode više vrijednosti uree u mlijeku mlađih krava, što može upućivati na suvišak sirovih proteina u obroku.

2.4.7.5. Vrijeme mužnje

Koncentracija uree u mlijeku ovisi i o vremenu uzorkovanja uzoraka mlijeka. Tako su više vrijednosti koncentracije uree u mlijeku večernje nego u mlijeku jutarnje mužnje, i to zbog kraćeg vremenskog intervala između hranidbe i mužnje tijekom večeri, kako su u kravljem mlijeku utvrdili autori: Miettinen i Juvonen, (1990.), Carlson i Bergstrom, (1994.), Broderick i Clayton, (1997.), Godden i sur., (2001b.), Geerts i sur., (2004.), budući ista nisu provedena na kozjem mlijeku. Tome u prilog idu i rezultati istraživanja (Godden, 1998. cit. Prpić i sur., 2005.), koji navode najvišu koncentraciju uree u mlijeku krava hranjenih unutar 5 - 6 sati prije uzimanja uzoraka mlijeka. Friggens i Rasmussen, (2001.) opažaju nižu koncentraciju uree u mlijeku pri kraćim intervalima između mužnji. Naime, Nielsen i sur., (2005.) sugeriraju kako je vrijeme između konzumacije hrane i trenutka mužnje, odnosno uzimanja uzoraka mlijeka možebitan razlog objašnjenja viših vrijednosti uree u mlijeku. Drugo objašnjenje može biti u činjenici kako povećanje učestalosti mužnje vjerojatno prati povećanje proizvodnje mlijeka i konzumacije suhe tvari, što rezultira povećanim unosom dušika obrokom te višom koncentracijom uree u mlijeku i krvi. Ikuta i sur., (2005) navode najvišu koncentraciju uree u mlijeku 4 h nakon hranjenja.

2.4.7.6. Veličina legla

Vrlo je malo istraživanja provedeno u cilju utvrđivanja utjecaja veličine legla na koncentraciju uree u mlijeku, iako autori navode da je upravo broj sisajuće mladunčadi jedan od čimbenika varijabilnosti uree u mlijeku preživača.

Baveći se problematikom definiranja utjecaja stadija laktacije i veličine legla na pojedine sastojke ovčjeg mlijeka, Sobiech i sur., (2008.) utvrdili su značajno povećanje koncentracije uree tijekom laktacije u mlijeku ovaca koje su ojarile jedno i dvoje jaradi. Utvrđena koncentracija uree, neovisno o stadiju laktacije, bila je gotovo 6 mg/100 mL veća u mlijeku ovaca koje su ojarile dvojke. Istovremeno, zamjetno je bilo i smanjenje udjela ukupnog proteina u mlijeku, što je vjerojatno povezano s katabolizmom proteina tijekom intenzivne sinteze mlijeka.

Giaccone i sur., (2007.) ne navode značajan utjecaj veličine legla na koncentraciju uree u kozjem mlijeku.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Odabir koza i tehnologija uzgoja

Istraživanjem su bile obuhvaćene 72 koze alpina pasmine, kao najbrojnije u uzgojno valjanoj populaciji koza u Republici Hrvatskoj. Odabrano obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo nalazi se u Šemovcu u Varaždinskoj županiji (slika 12), a istraživano stado je u Matičnoj evidenciji Hrvatske poljoprivredne agencije (HPA) koja podrazumijeva vođenje sveobuhvatne evidencije o svakom pojedinom grlu.

Slika 12. Lokacija mjesta gdje je provedeno istraživanje
(izvor: Google Earth Image © 2016 CNES DigitalGlobe, 2017)

Koze su podijeljene u tri skupine sa po 24 slučajno odabrana grla, bez vidljivih (kliničkih) znakova mastitisa, a hranjenih krmnom smjesom različitih udjela sirovih proteina. Prije početka istraživanja, sve koze su 15 dana (razdoblje privikavanja) bile hranjene istim obrokom (12% SP u krmnoj smjesi), nakon čega je uslijedila hranidba s 3 različite smjese tijekom laktacije. Prva skupina koza (KS-16) hranjena je s optimalnom količinom sirovih proteina (16%) prema Nutrient requirements of goats (1981). Druge dvije skupine koza dobivale su obrok s 2% višom (KS-18) odnosno 2% nižom (KS-14) količinom sirovih proteina u obroku u odnosu na prvu skupinu. Količina sirovih proteina u obroku za sve tri skupine korigirane su tijekom laktacije s obzirom na proizvedenu količinu mlijeka, a prema važećim preporukama za mliječne koze (NRC, 2007). Svi obroci koza bili su izoenergetski. Istraživanje je trajalo od 35. dana laktacije (nakon odbića jaradi) do zasušenja (270.–280. dana laktacije). Tijekom istraživanja praćeno je zdravstveno stanje vimena svake pojedine koze, a u slučaju uočenih pojava mastitisa, koze su isključene iz istraživanja.

3.1.1. Sustav kozarenja

Koze su tijekom cijele godine držane u staji. Upravo stajski način držanja koza ima važnu ulogu u intenzivnoj proizvodnji kozjeg mlijeka. Pri tom je omogućeno maksimalno pojedinačno praćenje grla u uzgoju, ponajviše u pogledu pojave bolesti ili pak praćenje reprodukcijskih faza. Kretanje životinja je bilo ograničeno, a maksimalna energija usmjerena je za proizvodnju mlijeka. Kozama su tijekom cijele godine bile osigurane dovoljne količine voluminoznih i krepkih krmiva. Koze su bile u staji dimenzija 20 x 7,5 m u kojoj se nalazi 7 odvojenih odjeljaka za koze i 3 boksa za jarce.

3.1.2. Higijenski uvjeti u staji

Posebna pozornost bila je usmjerena na osiguranje higijenskih uvjeta smještaja koza, zbog utjecaja na zdravlje koza i učinkovitost u proizvodnji mlijeka. Temeljito čišćenje i dezinfekcija kozarnika provođena je jednom mjesečno, a obuhvaćala je izbacivanje prostirke s gnojem, pranje svih površina vodom i dezinfekciju zidova vapnom.

3.1.3. Hranidba koza

Osnovni obrok koza tijekom cijelog razdoblja istraživanja bio je identičan odnosno sastojao se od sijena djetelinsko-travne smjese. Kao dopunu voluminoznom dijelu obroka koze su konzumirale krmnu smjesu.

Sirovinski sastav svih krmnih smjesa bio je sljedeći: 30% kukuruza, 15% pšenice, 10% ječma, 6% zobi i 39% superkoncentrata s različitim udjelom sirovih proteina (tablica 7). Krmnu smjesu koze su dobivale u izmuzištu tijekom jutarnje i večernje mužnje u količini od 0,5 kg/obroku dok su voluminozni dio obroka dobivale po volji.

Kemijski sastav hrane prikazan je u tablici 7.

Tablica 7. Kemijski sastav hrane za koze

Sastojak g/kg	Krmna smjesa				Sijeno
	*KS-12	KS-14	KS-16	KS-18	
Vlaga	133	112	108	110	74
Sirovi protein	118	140	159	178	60,3
Mast	22	32	39	31	13
Sirova vlakna	37	50	59	50	320
Pepeo	28	54	62	57	57

*KS-12= krmna smjesa s 12% sirovih proteina kojom su koze hranjene tijekom predtretmana, kemijski sastav predstavlja prosjek sve tri skupine tijekom predtretmana; KS-14= krmna smjesa s 14% sirovih proteina; KS-16= krmna smjesa s 16% sirovih proteina; KS-18= krmna smjesa s 18% sirovih proteina

Drvene jasle za koze smještene su u izmuzištu, na visini od 55 cm izdignute od podne površine kako bi položaj muzača tijekom mužnje bio što prirodniji. Drvene jasle imaju 15 hranidbenih mjesta pa je istovremeno moguće musti 15 koza.

Krmna smjesa za koze krupno je mljevena kako bi se izbjegla pojava acidoze do koje može doći konzumiranjem presitno mljevenih žitarica, odnosno kako žitarice ne bi ostale neprobavljene ukoliko bi im se davala cjelovita zrna. U cilju sprječavanja problema uzrokovanih nesrazmjerom količine kozumirane hrane i količine proizvedenoga mlijeka, količina krmne smjese postupno je povećavana za 250 g/tjedan. Faza prilagodbe trajala je 15 dana, pri čemu su sve koze hranjene obrokom s 12% sirovih proteina. Sijeno je kozama bilo na raspolaganju tijekom cijeloga dana s tim da su koze voluminozni dio obroka konzumirale prije davanja krepkih krmiva.

3.2. Kontrola mliječnosti

Kontrola mliječnosti koza provedena je AT metodom (ICAR Recording Guidelines (2016), ručnim izmuzivanjem mlijeka (naizmjenično jutarnja i večernja mužnja), a vremenski interval između mužnji bio je 12 h. Prosječno vremensko razdoblje između dvije uzastopne kontrole bilo je 30 dana, s dozvoljenim odstupanjem u okviru 28-34 dana. Uzorkovanje mlijeka provedeno je jednom mjesečno, kroz 7 odnosno 8 kontrola (ovisno o trajanju laktacije) odnosno dok količina mlijeka po mužnji nije bila manja od 200 mL.

Tijekom cijele laktacije vodilo se računa o provedbi higijenske mužnje: pranje i dezinfekcija vimena, izmuzivanje prvih mlazeva mlijeka. Na dan kontrole, uzeti su uzorci mlijeka od svake koze tijekom jutarnje ili večernje mužnje za određivanje koncentracije uree u mlijeku te analize fizikalno-kemijskog sastava i mikrobiološke kvalitete mlijeka, dok su za određivanje svojstava zgrušavanja mlijeka uzeti skupni uzorci od svake skupine (3). Od svake koze uzet je uzorak mlijeka u količini od 300 mL, što je bilo dostatno za provođenje svih predviđenih analiza. Nadalje, tijekom pripremnog razdoblja, a prije početka istraživanja, u svrhu bakteriološke pretrage, iz svake polovice vimena uzet je uzorak mlijeka u sterilne epruvete zapremine 10 mL. Sterilne epruvete su tijekom uzorkovanja držane gotovo u vodoravnom položaju kako bi se spriječilo onečišćenje prašinom i mikroorganizmima.

Količina namuzenog mlijeka po jednoj kozi utvrđena je procjenom količine mlijeka izmjerene graduiranom menzurom koja je preračunata na masu (kg) korištenjem faktora korekcije (1,030) za gustoću kozjeg mlijeka koji je propisan u *Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (2017).

Uzorci pohranjeni u prijenosnom hladnjaku na temperaturi od +4 ºC, unutar 12 sati od uzorkovanja dostavljeni su na analizu u Referentni laboratorij za mlijeko i mliječne proizvode Zavoda za mljekarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Ukupno pomuženo mlijeko pohranjeno je u rashladnom uređaju na temperaturu od +4 ºC do trenutka predaje mlijeka u kamioncisternu.

Ukupna proizvodnja mlijeka izračunata je na temelju podataka mjesečnih kontrola mliječnosti (ICAR, 2016), a odnosi se samo na muzno razdoblje budući je jarad bila uz koze i sisala. Kao početni datum za izračun proizvodnje uzet je datum početka mužnje. Količina proizvedenoga mlijeka izračunata je prema Fleischmann-ovoj formuli (HSC, 2004):

$$KMI = I_0 \times KM_1 + I_1 \times (KM_1 + KM_2)/2 + I_2 \times (KM_2 + KM_3)/2 + I_{n-1} \times (KM_{n-1} + KM_n)/2 + I_nKM_n$$

I_0 – interval od početka mužnje (od datuma posljednjeg jarenja ukoliko je jarad posisala samo kolostrum) do 1. kontrole

KM_1, KM_2,...KM_n – količina pomuzenog mlijeka u mililitrima pomuzena u 24 sata na dan kontrole

I_1, I_2, ...In – interval između dvije prateće kontrole

I_n – interval između zadnje kontrole i zasušenja

3.3. Analize stočne hrane

U uzorcima hrane nakon mljevenja do veličine od 1 mm utvrđen je udio suhe tvari, pepela, sirovih proteina (N x 6,25), sirovih vlakana i ostalih sastojaka u Laboratoriju za ispitivanje hrane za životinje na Agronomskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Analize kemijskog sastava obroka obavljene su prije početka i na kraju istraživanja.

U uzorcima krmnih smjesa i sijena utvrđen je:

-udio vlage sušenjem prema HRN ISO 6496:2001;

-udio sirovih bjelančevina metodom destilacije parom na instrumentu Kjeltec 8200, prema HRN EN ISO 5983:2010;

-udio masti modificiranom ekstrakcijskom metodom, na instrumentu ANKOM XT 15 prema HRN ISO 6492:2001;

-udio sirovih vlakana metodom s intermedijarnom filtracijom na instrumentu FOSS Fiber Cap prema HRN EN ISO 6865:2001;

-udio pepela prema HRN ISO 5984:2001.

3.4. Analize mlijeka

Analize kemijskog sastava mlijeka te analize fizikalnih svojstava i higijenske kvalitete mlijeka, obavljene su u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode Zavoda za mljekarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.4.1. Fizikalno-kemijske analize mlijeka

- udjeli: suhe tvari, mliječne masti, proteina, laktoze i suhe tvari bez masti, određeni su metodom infracrvene spektrometrije na instrumentu Milkoscan FT 120, prema HRN ISO 9622:2001;
- udio ukupnih proteina određen je metodom po Kjeldahlu, na instrumentu Kjeltec 2300, prema HRN EN ISO 8968-1:2014;
- udio kazeina određen je metodom po Kjeldahlu, na instrumentu Kjeltec 2300, prema HRN ISO 17997-2:2010;

- udio neproteinskog dušika određen je metodom po Kjeldahlu, na instrumentu Kjeltec 2300, prema HRN EN ISO 8968-4:2016;
- koncentracija uree određena je referentnom metodom diferencijalne pH-metrije na instrumentu CL-10, EFA 2000 **-** Hamilton**,** Bonaduz**,** Switzerland;
- pH-vrijednost potenciometrijski određena je ionometrijskom metodom na instrumentu Mettler Toledo, prema radnoj uputi RU 4.2.1-FA-03;
- kiselost mlijeka određena je metodom po Soxhlet-Henkelu, prema radnoj uputi RU 4.2-1-FA-2;
- točka ledišta određena je metodom krioskopije na instrumentu Cryostar, Funke-Gerber, prema HRN EN ISO 5764:2003;

3.4.2. Analize higijenske kvalitete mlijeka

- ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (UBB) određen je metodom protočne citometrije na instrumentu Bactoscan FC, prema ISO 21187:2004;
- broj somatskih stanica određen je fluoro-opto-elektroničkom metodom na instrumentu Fossomatic Minor, prema HRN EN ISO 13366-2:2007 i HRN EN ISO 13366-2/:2007.

3.4.3. Analize svojstava zgrušavanja mlijeka

Svojstva zgrušavanja mlijeka određena su formagraf aparatom prema Martini i sur., (2008) na Istituto per la Qualitá e le Technologie Agroalimentaria u Thieni, Italija. U 10 mL uzorka kozjeg mlijeka, zagrijanog na 35 ºC, dodano je 0,2 mL 8%-tne vodene otopine sirila Chr. Hansen te su određeni sljedeći pokazatelji:

1.) vrijeme zgrušavanja (r) je vrijeme od dodavanja sirila u mlijeko do trenutka kada krivulja počinje rasti u širinu;

2.) brzina formiranja gruša ($k_{20,}$ min), je vremenski interval od početka formiranja gruša do postignute oscilacijske širine od 20 mm

3.) čvrstoća gruša ($a_{30,}$ mm), čvrstoća gruša 30 minuta nakon dodavanja enzima predstavlja širinu krivulje onog trenutka kada mjerenje završava.

3.4.4. Pretrage sekreta vimena

Mikrobiološke pretrage vimena obavljene su u Laboratoriju za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka, Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu, prema uputama navedenim u „Laboratory handbook on bovine mastitis“ (National Mastitis Council, 1999).

Količina od 0,01 mL uzorka mlijeka nacijepljena je na ¼ površine Petrijeve zdjelice u kojoj se nalazila podloga eskulin-krvni agar te inkubirana pri temperaturi 37ºC/24 sata. Nakon inkubacije uslijedio je pregled ploča kako bi se utvrdilo možebitno povećanje kolonija. Ukoliko na nacijepljenoj podlozi nisu porasle kolonije provedena je inkubacija daljnjih 24 sata.

Kolonije bakterija poraslih na podlozi eskulin-krvnog agara koje nije bilo moguće morfološki identificirati, precijepljivane su na selektivne i diferencijalne podloge i to na:

- Baird-Parker agar, kolonije koje morfološki odgovaraju stafilokokima
- agar za ispitivanje CAMP (Christie Atkins Munch Petersen) fenomena, kolonije koje morfološki odgovaraju streptokokima
- kanamicin-eskulin-azid agar, kada nije bilo moguće razlikovati streptokoke od enterokoka
- TSI (Triple Sugar Iron) i MacConkey agar, za identifikaciju Gram-negativnih bakterija
- Sabouraoud agar, za kvasce i plijesni.

Diferencijacija kolonija izvršena je prema morfološkim i fiziološkim osobinama (boji, veličini, obliku, izgledu, izraženosti hemolize, površini kolonije i njenim rubovima te sposobnosti tvorbe pigmenta).

3.4.4.1. Determinacija streptokoka

Bakterijske kolonije koje su porasle na eskulin-krvnom agaru, a morfološkim osobinama su odgovarale streptokokima podvrgnute su CAMP testu.

Na površinu hranjive podloge eskulin-krvnog agara nacijepljen je, u obliku pruge cijelim promjerom Petrijeve zdjelice, beta hemolitički soj bakterije *Staphylococcus aureus*. Izdvojeni sojevi streptokoka nacijepljeni su okomito na navedenu prugu na udaljenosti 1-2 mm. Petrijeve zdjelice s nacijepljenim bakterijama inkubirane su na temperaturi od 37ºC/18-24 h, nakon čega je izvršena prosudba broja bakterija i determinacija streptokoka, kao što je prikazano u tablici 8.

Tablica 8. Shematski prikaz determinacije streptokoka na hranjivoj podlozi

Boja kolonija na EK podlozi	Hemoliza	Boja kolonija na CAMP podlozi	Polumjesečasta hemoliza	Bakterija
Plavičasta	+ / -	Plavičasta	+	*Str. agalactiae*
Plavičasta ili zelenkasta	+ / -	Plavičasta	-	*Str. dysgalactiae*
Zelenkasta ili smeđa		Zelenkasta ili smeđa	+	*Str. uberis*
Zelenkasta ili smeđa		Zelenkasta ili smeđa	-	Skupina D po Lancefieldovoj ljestvici

3.4.4.2. Determinacija stafilokoka

Za indetifikaciju stafilokoka korišten je koagulaza test u epruveti, pri čemu je kultura analiziranog stafilokoka namnožena na čvrstoj hranjivoj podlozi inokulirana u 0,5 mL plazme kunića. Nakon inkubacije na temperaturi od 37ºC/ 24 h kontrolirana je pojava zgrušavanja. Negativna reakcija očitovala se tekućom konzistencijom suspenzije, dok se, nakon 24 sata inkubiranja, pozitivna reakcija očitovala formiranjem gela u suspenziji. Sojevi koji su stvarali žućkasti pigment te uzrokovali zgrušavanje plazme kunića su identificirani kao *Staphylococcus aureus*.

3.4.4.3. Determinacija gram-negativnih bakterija

Determinacija Gram-negativnih bakterija provedena je reakcijom na podlozi s trostrukim šećerom (TSI). Nakon inkubacije na temperaturi od 37ºC/18-24 h, provedena je prosudba porasta bakterija i determinacija Gram-negativnih bakterija na osnovu nastale boje na hranjivoj podlozi, pri čemu:

- žuta boja – indicira tvorbu kiseline,
- crvena boja – nema tvorbe kiseline,
- crna boja – indicira tvorbu hidrogen-sulfida.

3.5. Statistička obrada podataka

Uzimajući u obzir izvore varijabilnosti podaci su grupirani na slijedeći način:

a) utjecaj različitog udjela proteina u koncentratnom dijelu obroka (optimalna količina, 2% viša i 2% niža razina sirovih proteina u odnosu na optimalnu),
b) utjecaj stadija laktacije (rani do 90. dana laktacije, srednji od 91.-180. dana i kasni od 181. dana do kraja laktacije),
c) utjecaj redoslijeda laktacije (I., II., III. i IV.),
d) utjecaj veličine legla (jedno jare, dvoje i troje jaradi u leglu),

Prema redoslijedu laktacije, 12 koza je bilo u prvoj laktaciji, 13 u drugoj, 19 u trećoj i 28 u četvrtoj laktaciji.

Laktacija je bila podijeljena u tri vremenski jednaka dijela ili stadija (rani, srednji i kasni), a kojima odgovaraju sljedeća razdoblja: do 90. dana laktacije, 91.-180. dana i od 181. dana do kraja laktacije.

Jedno jare ojarile su 22 koze, dvoje jaradi ojarile su 44 koze a troje jaradi ojarilo je 6 koza.

Za utvrđivanje optimalne razine sirovih proteina u krmnoj smjesi, dobiveni rezultati razvrstani su prema utvrđenoj koncentraciji uree u mlijeku u 6 razreda s podjednakim brojem uzoraka (≤30,00; 30,01–35,00; 35,01–40,00; 40,01–45,00; 45,01–50,00; >50 mg/100 mL).

S obzirom na raspodjelu vrijednosti omjera mliječna mast/protein (M:P) u odnosu na normalnu distribuciju, izvršena je raspodjela uzoraka kozjeg mlijeka u 4 razreda (≤0,9; 0,91-1,1; 1,11-1,3; >1,3).

Statistička obrada podataka izvršena je korištenjem statističkog paketa *SAS V8 (SAS STAT, 2015)*. Prikupljeni podaci analizirani su primjenom procedure MIXED, korištenjem modela s ponovljenim mjerenjima, koji kao nezavisne varijable uključuje: razinu sirovih proteina u krmnoj smjesi, stadij i redoslijed laktacije te veličinu legla, dok su kao zavisne varijable u predmetni model bile uključene: koncentracija uree u mlijeku, dnevna količina mlijeka, udio suhe tvari, mliječna mast, protein, laktoza, suha tvar bez masti, kazein, neproteinske dušične frakcije, pH-vrijednost, kiselost mlijeka (ºSH), točka ledišta, broj somatskih stanica, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (UBB), vrijeme zgrušavanja (r), brzina formiranja gruša (k_{20}) i čvrstoća gruša (a_{30}).

Model s ponovljenim mjerenjem uključuje:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_i + L_j + R_k + VL_l + e_{ijkl,} \text{ gdje je:}$$

Y_{ijkll} = ijkl-ta opažena vrijednost,

μ = ukupna srednja vrijednost,

P_i = utjecaj i-te smjese (i = 1 (14% SP), 2 (16% SP), 3 (18% SP)),

L_j = utjecaj j-tog stadija laktacije (j = 1 (rani), 2 (srednji), 3 (kasni)),

R_k = utjecaj k-tog redoslijeda laktacije (k = 1 (prva), (2 (druga), 3 (treća), 4 (četvrta)),

VL_l = utjecaj l-tog broja jaradi (l = 1 (jedno), 2 (dvoje), 3 (troje)),

e_{ijkl} = slučajna greška između opažanja na istoj jedinki.

Statistički značajne interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja uvrštene su u model. Budući da se distribucija broja somatskih stanica i ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u mlijeku razlikovala od normalne, izvršena je njihova pretvorba u logaritamske vrijednosti ($\log_{10}$UBB) za ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija i ($\log_{10}$BSS) za broj somatskih stanica, odnosno kao povratno transformirana geometrijska srednja vrijednost.

Nakon utvrđene pojave patogenih mikroorganizama, koze su bile tretirane antibiotikom te rezultati nisu ulazili u daljnju analizu do trenutka izlječenja.

Procedura CORR korištena je za izračun koeficijenata korelacije između analiziranih varijabli. U svrhu definiranja zavisnosti jedne zavisne varijable o jednoj ili više nezavisnih varijabli korišten je regresijski model, odnosno procedura REG.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Proizvodnja i kemijski sastav mlijeka

Opisni statistički pokazatelji dnevne količine mlijeka i kemijskog sastava mlijeka alpina koza prikazani su u tablici 9.

Tablica 9. Opisni statistički pokazatelji proizvodnje i kemijskog sastava mlijeka alpina koza (n = 503)

Svojstvo	$\overline{x}$	SD	SE	Min	Max	CV
DKM (kg)	3,41	0,99	0,04	0,82	6,80	29,02
Suha tvar (%)	11,02	0,66	0,03	9,24	14,34	5,99
Mliječna mast (%)	3,14	0,45	0,02	2,09	6,27	14,20
Protein (%)	2,85	0,29	0,01	2,22	4,06	10,29
Protein (g/dan)	94,33	24,30	1,08	26,78	209,09	25,76
M:P	1,12	0,16	0,01	0,64	1,93	14,73
Kazein (%)	2,23	0,28	0,01	1,64	3,64	12,36
M:K	1,14	0,22	0,01	0,81	2,35	15,79
NPN (%)	0,13	0,08	0,003	0,04	0,76	61,59
Urea (mg/100 mL)	41,43	10,28	0,44	12,3	88,70	24,82
Laktoza (%)	4,09	0,12	0,01	3,85	4,52	3,05
Sbm (%)	7,88	0,33	0,01	7,00	9,28	4,17

DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; $\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; Min = minimalna vrijednost; Max = maksimalna vrijednost; CV = koeficijent varijacije

Na osnovi rezultata opisnih statističkih pokazatelja prosječne dnevne količine i kemijskog sastava mlijeka alpina koza (tablica 9), uočljivo je da su prosječne vrijednosti kemijskog sastava (udjela mliječne masti, proteina i suhe tvari bez masti) analiziranih uzoraka sukladne odredbama *Pravilnika o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (2017.).

Alpina koze proizvele su u prosjeku dnevno 3,41 kg mlijeka sa 3,14% mliječne masti i 2,85% proteina. U mlijeku alpina koza utvrđen je prosječni udio suhe tvari 11,02%, a suhe tvari bez masti 7,88%. Koze su u prosjeku dnevno proizvele 94,33 g proteina. Najvarijabilniji sastojak mlijeka bio je NPN (CV=61,59%), slijedi dnevna količina mlijeka (CV = 29,02%), dnevna količina proizvedenoga proteina (CV=25,76%), te urea kao dio NPN s koeficijentom varijabilnosti (24,82 %), dok je najujednačeniji kemijski sastojak bila laktoza (CV=3,05%) s prosjekom od 4,09%. Prosječna vrijednost koncentracije uree u mlijeku bila je 41,43 mg/100 mL s rasponom od 12,3 do 88,70 mg/100 mL, a omjer mliječna mast:protein i mliječna mast:kazein, koji se uz ureu koristi kao indikator u procjeni izbalansiranosti obroka iznosili su 1,12 odnosno 1,14.

4.1.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi

U tablici 10 prikazane su prosječne vrijednosti dnevne količine mlijeka i pojedinih kemijskih sastojaka kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi.

Tablica 10. Dnevna količina mlijeka i promjene kemijskog sastava kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi

Svojstvo	Udio SP u krmnoj smjesi			Razina značajnosti
	KS-14 (n= 161) (LSM ± SE)	KS-16 (n= 182) (LSM ± SE)	KS-18 (n= 160) (LSM ± SE)	
DKM (kg)	2,93^{a}±0,07	3,33^{b}±0,07	3,95^{c}±0,07	***
Suha tvar (%)	11,18^{a}±0,05	11,04^{a}±0,05	10,84^{b}±0,05	*
Mliječna mast (%)	3,26^{a}±0,04	3,16^{a}±0,03	3,00^{b}±0,04	**
Protein (%)	2,82^{ab}±0,02	2,85^{a}±0,02	2,76^{b}±0,02	**
Protein (g/dan)	81,58^{a}±1,76	93,36^{b}±1,66	107,67^{c}±1,77	***
M:P	1,15^{a}±0,01	1,11^{ab}±0,01	1,08^{b}±0,01	**
Kazein (%)	2,22^{ab}±0,02	2,31^{a}±0,02	2,16^{b}±0,02	***
M:K	1,47^{a}±0,02	1,38^{b}±0,02	1,38^{b}±0,02	**
NPN (%)	0,14±0,01	0,13±0,01	0,14±0,01	NZ
Urea (mg/100 mL)	35,01^{a}±0,72	41,24^{b}±0,67	48,11^{c}±0,72	***
Laktoza (%)	4,11^{a}±0,01	4,06^{b}±0,01	4,11^{a}±0,01	**
Sbm (%)	7,92±0,03	7,87±0,02	7,85±0,03	NZ

DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b,c = prosječne vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$); NZ = nije značajno; KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

Povećanje udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi značajno je utjecalo ($p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,001$) na gotovo sve istraživane parametre proizvodnje i kemijskog sastava mlijeka, izuzev suhe tvari bez masti i NPN. Povećanje udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi pratilo je povećanje u dnevnoj količini mlijeka, dnevnoj količini proizvedenoga proteina i koncentraciji uree u mlijeku, kao i smanjenje udjela suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina.

Hranidba koza krmnom smjesom sa 14% sirovih proteina (skupina koza KS-14) dovela je do značajno ($p<0,001$) nižih prosječnih dnevnih količina mlijeka u odnosu na hranidbu krmnim smjesama sa 16% (KS-16) i 18% SP (KS-18), a dnevna količina mlijeka bila je gotovo 1 kg viša kod koza KS-18 u odnosu na KS-14 skupinu (tablica 10). Najmanja razlika u prosječnoj dnevnoj količini mlijeka (0,4 kg) uočena je između KS-14 i KS-16 skupine (tablica 10). Hranidba koza s višim udjelom SP u krmnoj smjesi značajno je povećala ($p<0,001$) i koncentraciju uree, sa 35,01 mg/100 mL (KS-14) na 48,11 mg/100 mL (KS-18). Povećanjem udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi, smanjivao se omjer M:P i M:K, pri čemu je utvrđena statistički značajna razlika ($p<0,01$) između skupina KS-14 i KS-18. Iako su koze hranjene većim udjelom sirovih proteina u krmnoj smjesi imale manji udio proteina u mlijeku, dnevna količina proizvedenoga proteina postupno se povećavala.

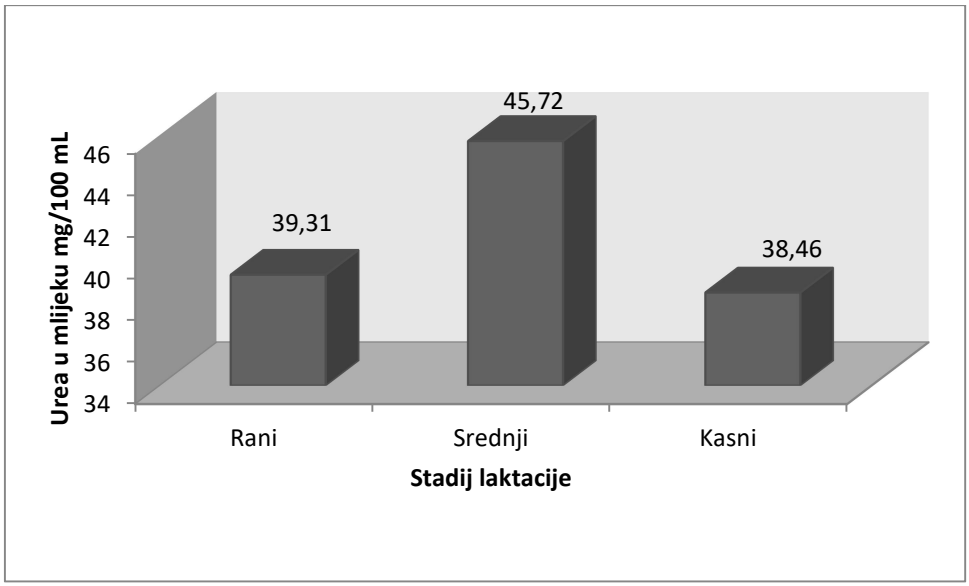
4.1.2. Stadij laktacije

Promjene u dnevnoj količini mlijeka i analiziranim pokazateljima kemijskog sastava mlijeka alpina koza tijekom laktacije prikazane su u tablici 11.

Tablica 11. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu i kemijski sastav mlijeka alpina koza

Svojstvo	Stadij laktacije			Razina značajnosti
	Rani (n= 155) (LSM ± SE)	Srednji (n= 188) (LSM ± SE)	Kasni (n= 160) (LSM ± SE)	
DKM (kg)	3,73^{a}±0,07	3,75^{a}±0,06	2,67^{b}±0,07	***
Suha tvar (%)	11,11^{a}±0,05	10,73^{b}±0,05	11,29^{a}±0,05	***
Mliječna mast (%)	3,21^{a}±0,04	3,00^{a}±0,03	3,24^{b}±0,04	***
Protein (%)	2,72^{a}±0,02	2,70^{a}±0,02	3,03^{b}±0,02	***
Protein (g/dan)	101,10^{a}±1,82	100,55^{a}±1,65	79,88^{b}±1,79	***
M:P	1,18^{a}±0,01	1,11^{b}±0,01	1,07^{b}±0,01	***
Kazein (%)	2,11^{a}±0,02	2,15^{a}±0,02	2,45^{b}±0,02	***
M:K	1,52^{a}±0,02	1,39^{b}±0,02	1,32^{b}±0,02	***
NPN (%)	0,17^{a}±0,01	0,12^{b}±0,01	0,11^{b}±0,01	***
Urea (mg/100 mL)	39,31^{a}±0,76	45,72^{b}±0,62	38,46^{a}±0,72	***
Laktoza (%)	4,17^{a}±0,01	4,05^{b}±0,01	4,06^{b}±0,01	***
Sbm (%)	7,88^{a}±0,02	7,73^{b}±0,02	8,05^{c}±0,02	***

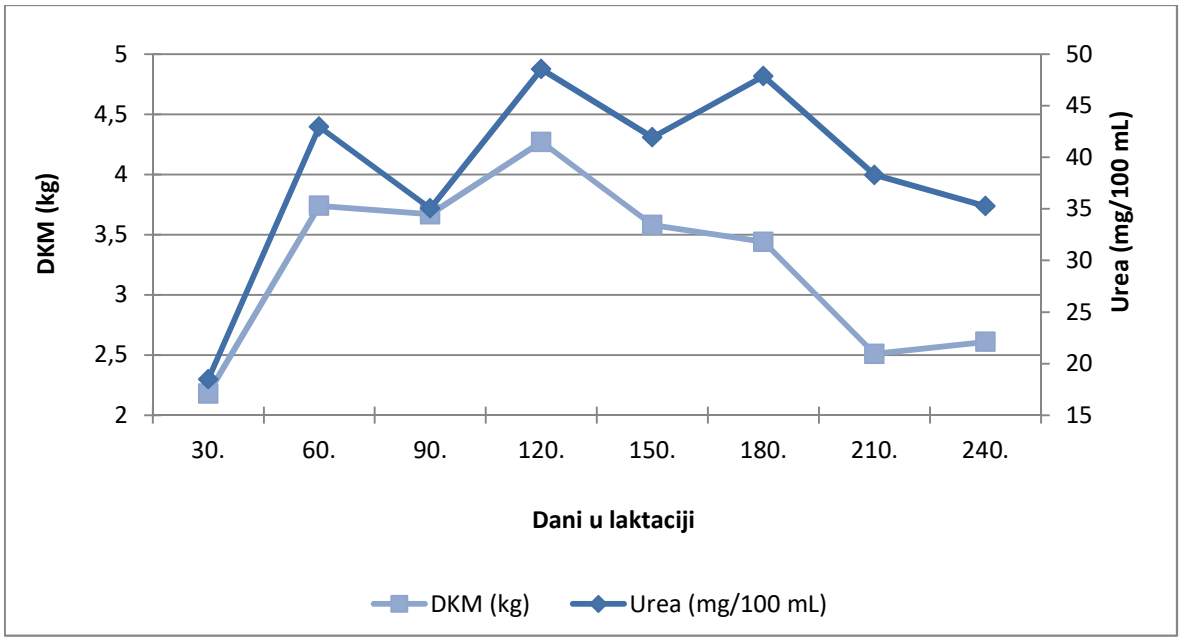
DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b,c = prosječne vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju *** ($p<0,001$);



Slika 13. Prosječne vrijednosti uree u kozjem mlijeku tijekom laktacije

Stadij laktacije značajno je utjecao ($p<0,001$) na dnevnu količinu mlijeka kao i na sve pokazatelje kemijskog sastava mlijeka. Najviše su mlijeka alpina koze proizvele u srednjem stadiju (3,75 kg), a najmanju (2,67 kg) u kasnom stadiju laktacije, što čini razliku veću od 1 kg mlijeka (tablica 11).

Najviše vrijednosti suhe tvari, mliječne masti, proteina, kazeina i suhe tvari bez masti utvrđene su u mlijeku proizvedenom u kasnom stadiju laktacije, dok je kretanje udjela laktoze i NPN, kao i omjera M:P i M:K imalo suprotan tijek (najviše prosječne vrijednosti utvrđene u ranom stadiju laktacije). Najviša vrijednost koncentracije uree u mlijeku utvrđena je tijekom srednjeg stadija laktacije (45,72 mg/100 mL, slika 13), a najniža u kasnom stadiju (38,46 mg/100 mL). Udio laktoze bio je značajno ($p<0,001$) viši tijekom ranog stadija te se smanjivao prema kraju laktacije.



Slika 14. Prosječne vrijednosti dnevne količine mlijeka i koncentracije uree u kozjem mlijeku alpina koza tijekom laktacije

Utvrđeno je značajno povećanje dnevne količine mlijeka i koncentracije uree u mlijeku uvođenjem veće količine sirovih proteina u obrok, tj. prvih 30 dana kada su koze bile hranjene krmnom smjesom sa 11% SP pa je i količina mlijeka i koncentracija uree u mlijeku bila značajno niža ($p<0,001$) (slika 14).

Kao što je vidljivo na slici 14, promjene prosječne dnevne količine mlijeka i koncentracija uree u mlijeku tijekom laktacije imale su sličan tijek. Naime, vrh laktacijske proizvodnje mlijeka istraživane koze dostignule su 120. dana laktacije (4,27 kg), nakon čega je uslijedio postupan pad mliječnosti. Najviše koncentracije uree u mlijeku (41,94–48,55 mg/100 mL) utvrđena je u razdoblju od 120. do 180. dana laktacije. Do 150. dana laktacije razlike u povećanju dnevne količine mlijeka i koncentracije uree u mlijeku bile su manje, da bi potkraj laktacije uslijedilo naglo smanjenje mliječnosti uz nešto manje izraženo smanjenje koncentracije uree u mlijeku.

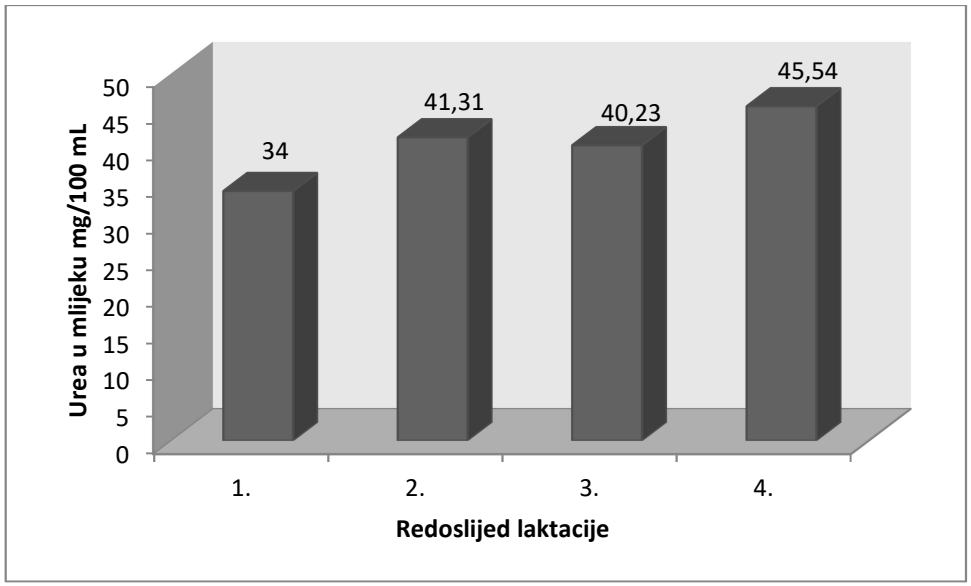
4.1.3. Redoslijed laktacije

U tablici 12 prikazan je utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza.

Tablica 12. Utjecaj redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza

Svojstvo	Redoslijed laktacije				Razina značajnosti
	1. (n= 85) (LSM ± SE)	2. (n= 91) (LSM ± SE)	3. (n= 132) (LSM ± SE)	4. (n= 195) (LSM ± SE)	
DKM (kg)	2,84^{a}±0,10	3,29^{b}±0,10	3,41^{b}±0,08	3,68^{b}±0,07	***
Suha tvar (%)	11,41^{a}±0,07	11,11^{ab}±0,07	11,04^{ab}±0,06	10,84^{b}±0,05	***
Mliječna mast (%)	3,43^{a}±0,05	3,21^{ab}±0,05	3,09^{b}±0,04	3,01^{b}±0,03	***
Protein (%)	2,80±0,03	2,82±0,03	2,84±0,03	2,80±0,02	NZ
Protein (g/dan)	78,95^{a}±2,55	92,01^{b}±2,46	95,13^{b}±2,04	101,09^{b}±1,68	***
M:P	1,22^{a}±0,02	1,14^{ab}±0,02	1,09^{b}±0,01	1,08^{b}±0,01	***
Kazein (%)	2,21±0,03	2,28±0,03	2,22±0,02	2,23±0,02	NZ
M:K	1,56^{a}±0,02	1,43^{ab}±0,02	1,39^{b}±0,02	1,35^{b}±0,02	***
NPN (%)	0,14±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	NZ
Urea (mg/100 mL)	34,00^{a}±1,06	41,31^{bc}±1,01	40,23^{b}±0,72	45,54^{c}±0,72	***
Laktoza (%)	4,10^{ab}±0,01	4,09^{ab}±0,01	4,12^{a}±0,01	4,07^{b}±0,01	**
Sbm (%)	7,88^{ab}±0,04	7,89^{ab}±0,04	7,94^{b}±0,03	7,83^{a}±0,03	**

DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b,c,d = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju ** (p<0,01), *** (p<0,001); NZ = nije značajno;



Slika 15. Prosječne vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku ovisno o redoslijedu laktacije

Istraživanjem je utvrđen značajan utjecaj ($p<0,001$) redoslijeda laktacije na dnevnu količinu mlijeka i udio većine istraživanih sastojaka mlijeka, osim udjela proteina, kazeina i NPN (tablica 12). Tako je u koza 4. laktacije utvrđena najviša prosječna dnevna količina mlijeka, kao i koncentracija uree u mlijeku. Pritom su koze u 4. laktaciji u odnosu na prvojarke ostvarile za 0,7 kg višu prosječnu dnevnu količinu mlijeka, odnosno koncentracija uree u mlijeku bila je 11 mg/100 mL viša (slika 15). Koze u 4. laktaciji ujedno su proizvele i najveću prosječnu dnevnu količinu proteina (101,09 g). Međutim, najveći prosječni udio suhe tvari i mliječne masti utvrđen je u prvojarki. Zbog značajnog povećanja ($p<0,001$) udjela mliječne masti, najviše vrijednosti omjera M:P i M:K utvrđene su u koza prve laktacije, a najniže u koza četvrte laktacije. Najviši udio laktoze i suhe tvari bez masti utvrđen je u mlijeku alpina koza u 3. laktaciji.

4.1.4. Veličina legla

U tablici 13 prikazan je utjecaj veličine legla na prosječnu dnevnu količinu mlijeka te kemijski sastav mlijeka alpina koza.

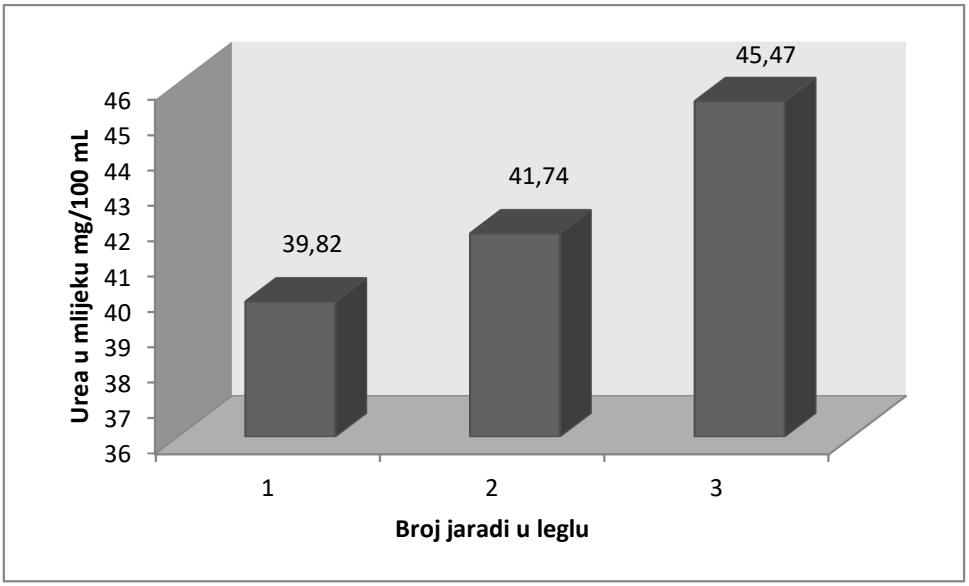
Tablica 13. Utjecaj veličine legla na dnevnu količinu mlijeka i kemijski sastav mlijeka alpina koza

Svojstvo	Veličina legla			Razina značajnosti
	1 (n= 159) (LSM ± SE)	2 (n= 302) (LSM ± SE)	3 (n= 42) (LSM ± SE)	
DKM (kg)	3,30±0,08	3,44±0,06	3,49±0,15	NZ
Suha tvar (%)	10,96±0,05	11,03±0,04	11,17±0,10	NZ
Mliječna mast (%)	3,18±0,04	3,11±0,03	3,19±0,07	NZ
Protein (%)	$2,74^{a}$±0,02	$2,84^{b}$±0,02	$2,89^{b}$±0,05	**
Protein (g/dan)	$89,20^{a}$±1,94	$95,95^{b}$±1,41	$99,81^{b}$±3,77	*
M:P	$1,15^{a}$±0,01	$1,10^{b}$±0,01	$1,11^{ab}$±0,03	**
Kazein (%)	$2,16^{a}$±0,02	$2,27^{b}$±0,02	$2,27^{b}$±0,04	**
M:K	$1,47^{a}$±0,02	$1,38^{b}$±0,01	$1,41^{ab}$±0,03	**
NPN (%)	0,14±0,01	0,13±0,01	0,15±0,01	NZ
Urea (mg/100 mL)	$39,82^{a}$±0,82	$41,74^{ab}$±0,60	$45,47^{b}$±1,60	**
Laktoza (%)	4,08±0,01	4,10±0,01	4,10±0,01	NZ
Sbm (%)	$7,78^{a}$±0,03	$7,91^{b}$±0,02	$7,98^{b}$±0,05	***

DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; LSM - korigirana srednja vrijednost; SE - standardna greška; a,b – vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$); NZ – nije značajno

Iz podataka u tablici 13 razvidan je značajan utjecaj veličine legla na udio proteina, kazeina, omjer M:P i M:K, koncentraciju uree u mlijeku ($p<0,01$), kao i na udio suhe tvari bez masti u mlijeku ($p<0,001$).

U koza s troje jaradi u leglu utvrđena je najveća prosječna dnevna količina mlijeka (3,49 kg), dok su koze s jednim jaretom dnevno proizvele gotovo 0,2 kg mlijeka manje, iako utvrđena razlika nije bila statistički značajna. Također, u mlijeku koza s troje jaradi u leglu utvrđen je viši udio proteina, kazeina, suhe tvari bez masti i uree u odnosu na koze s jednim jaretom ($p<0,01$; $p<0,001$). Utvrđena razlika u koncentraciji uree u mlijeku koza s jednim i troje jaradi iznosila je gotovo 6 mg/100 mL (slika 16).



Slika 16. Prosječne vrijednosti koncentracije uree u kozjem mlijeku s različitim brojem jaradi u leglu

4.1.5. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja

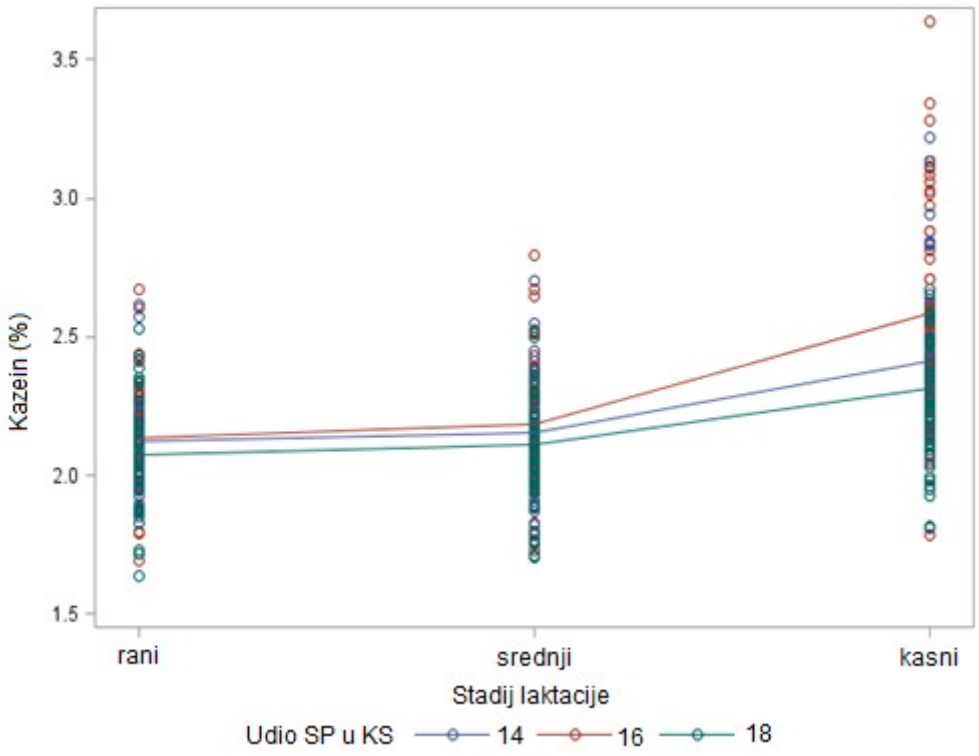
U tablici 14 prikazane su interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na dnevnu količinu mlijeka i analizirane pokazatelje kemijskog sastava kozjeg mlijeka.

Tablica 14. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na dnevnu količinu mlijeka i pokazatelje kemijskog sastava mlijeka alpina koza

Svojstvo	KS x SL	KS x K	KS x VL	SL x RL	SL x VL
DKM (kg)	NZ	NZ	NZ	*	NZ
Suha tvar (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Mliječna mast (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Protein (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Protein (g/dan)	NZ	NZ	*	NZ	NZ
M:P	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Kazein (%)	***	***	NZ	NZ	NZ
M:K	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
NPN (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Urea (mg/100 mL)	NZ	***	***	NZ	NZ
Laktoza (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Sbm (%)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; KS = udio sirovih proteina u krmnoj smjesi; RL = redoslijed laktacije; SL = stadij laktacije; K = mjesec u godini; VL = veličina legla; Razina značajnosti = * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$);

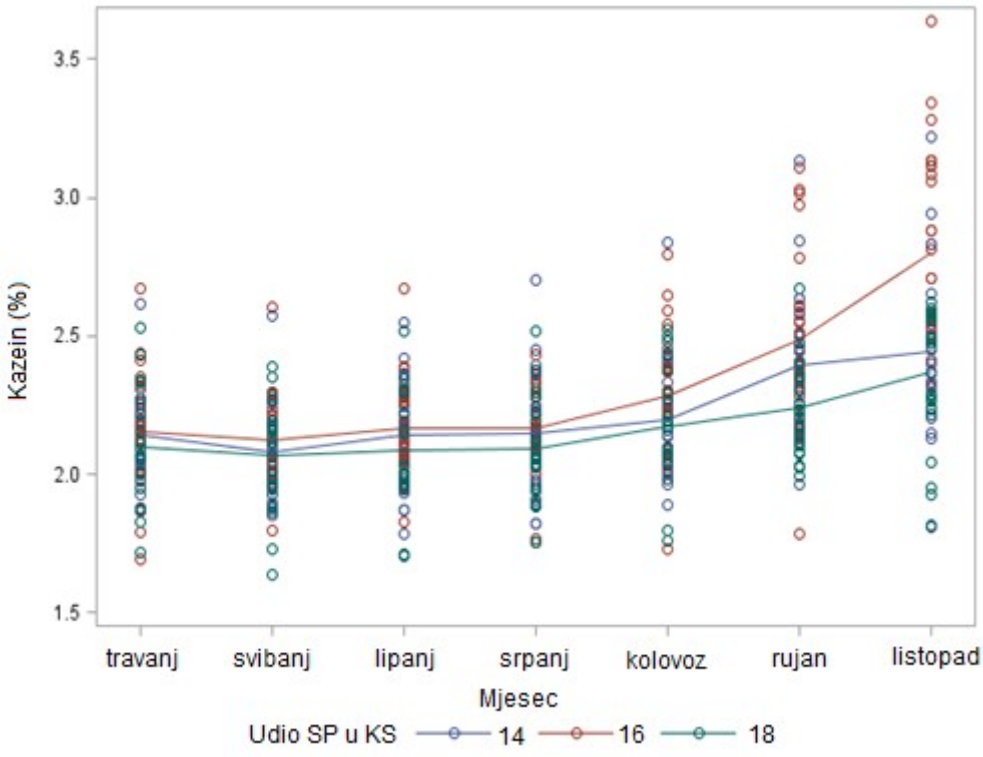
Značajna interakcija ($p<0,001$) između krmne smjese i stadija laktacije utvrđena je jedino za udio kazeina u mlijeku (slika 17).



Slika 17 Grafički prikaz interakcije između krmnih smjesa i stadija laktacije na udio kazeina u mlijeku

Konzumirana je krmna smjesa značajno ($p<0,001$) utjecala na udio kazeina u mlijeku jedino na kraju laktacije kada je utvrđen najviši udio kazeina u uzorcima mlijeka od koza hranjenih sa 16% SP u krmnoj smjesi dok je najniži udio utvrđen u koza hranjenih sa 18% SP u krmnoj smjesi.

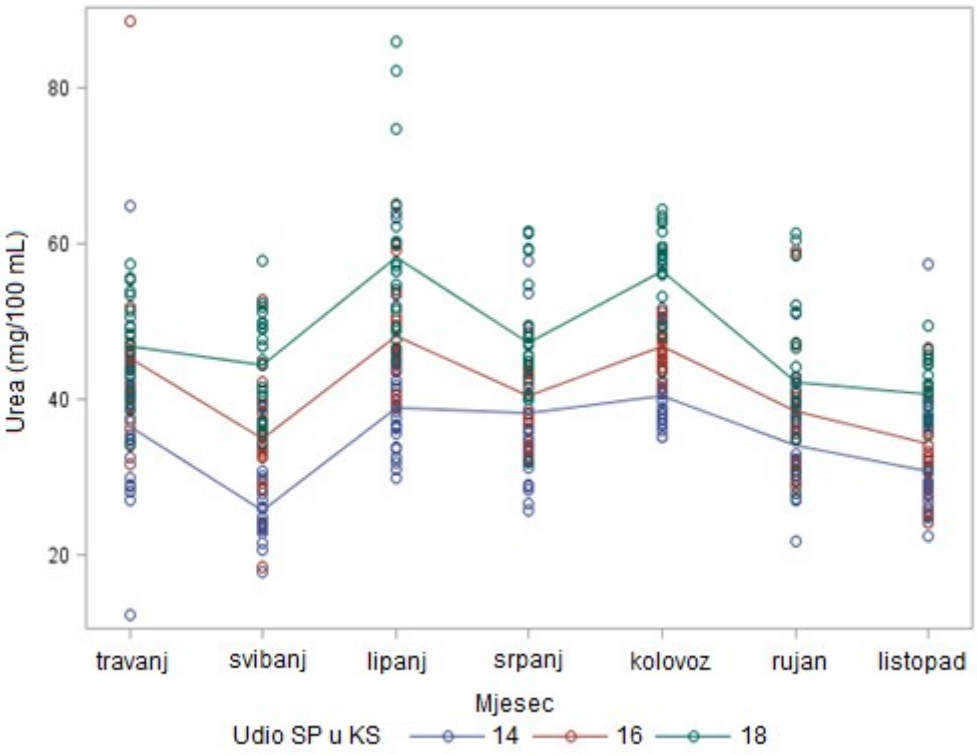
Na slici 18 prikazana je interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na udio kazeina u mlijeku alpina koza.



Slika 18. Interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na udio kazeina u mlijeku alpina koza

Utvrđena je značajna ($p<0,001$) interakcija između mjeseca u godini i konzumirane krmne smjese na udio kazeina u mlijeku. Promjene udjela kazeina u mlijeku u sve tri istraživane skupine koza suprotne su laktacijskoj krivulji. Najviši udio kazeina utvrđen je u uzorcima mlijeka koza hranjenih sa 16% SP u krmnoj smjesi u listopadu, a najniži u koza hranjenih sa 18% SP u krmnoj smjesi.

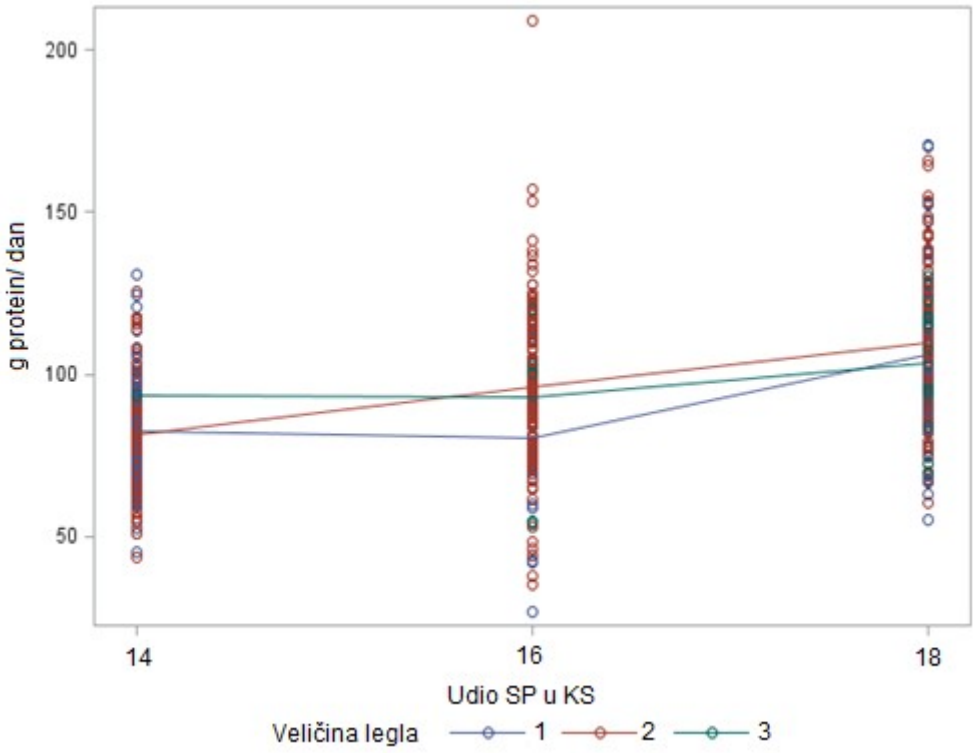
Na slici 19 prikazana je interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza.



Slika 19. Interakcija između mjeseca u godini i krmne smjese na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza

Značajne ($p<0,001$) varijacije koncentracije uree u mlijeku alpina koza utvrđene su u sve tri istraživane skupine koza u razdoblju od travnja do kolovoza, nakon čega je uslijedilo postupno snižavanje vrijednosti uree koje je najizraženije bilo u uzorcima mlijeka koza hranjenih sa 16% SP u krmnoj smjesi. U sve tri istraživane skupine koza, najniže koncentracije uree u mlijeku utvrđene su u svibnju.

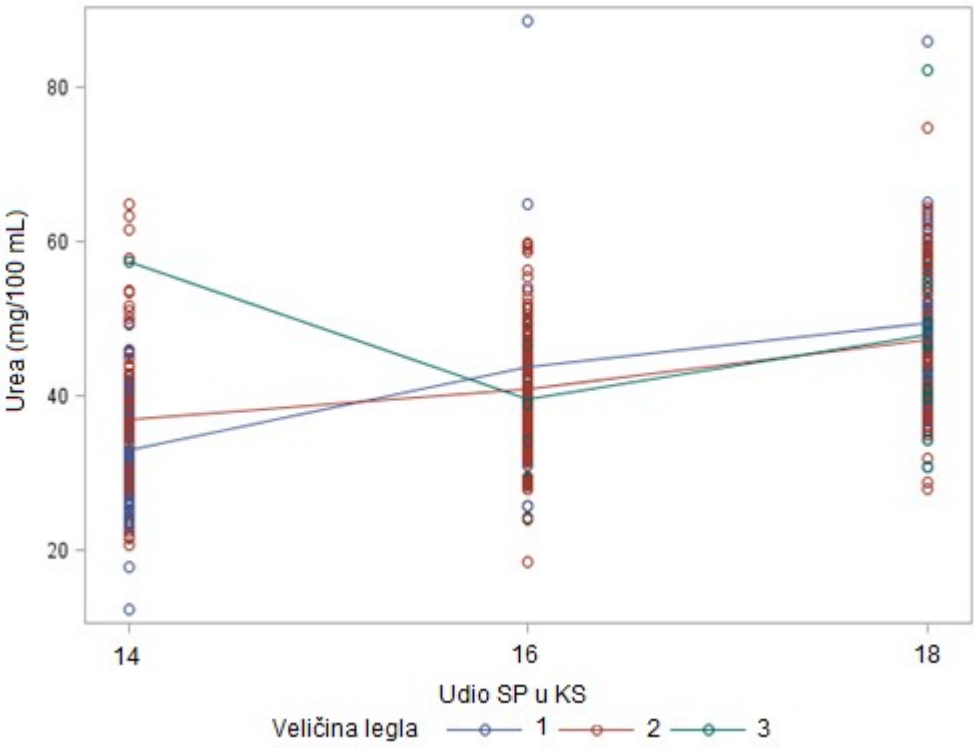
Na slici 20 prikazane su promjene u dnevnoj količini proteina ovisno o veličini legla i udjelu SP u krmnoj smjesi.



Slika 20. Interakcija između udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi i veličine legla na dnevnu količinu proizvodenoga proteina

Linearno povećanje dnevne količine proizvedenih proteina zbog povećanja udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi utvrđeno je samo u koza s dvoje jaradi u leglu. U koza s troje jaradi u leglu povećanje udjela SP u krmnoj smjesi nije značajno utjecalo na dnevnu količinu proizvedenoga proteina (slika 20). Hranidbom koza sa 16% SP u krmnoj smjesi utvrđena je najveća razlika u dnevnoj količini proizvedenoga proteina između koza s jednim i dvoje jaradi u leglu, dok hranidbom koza sa 18% SP razlika nije bila značajna.

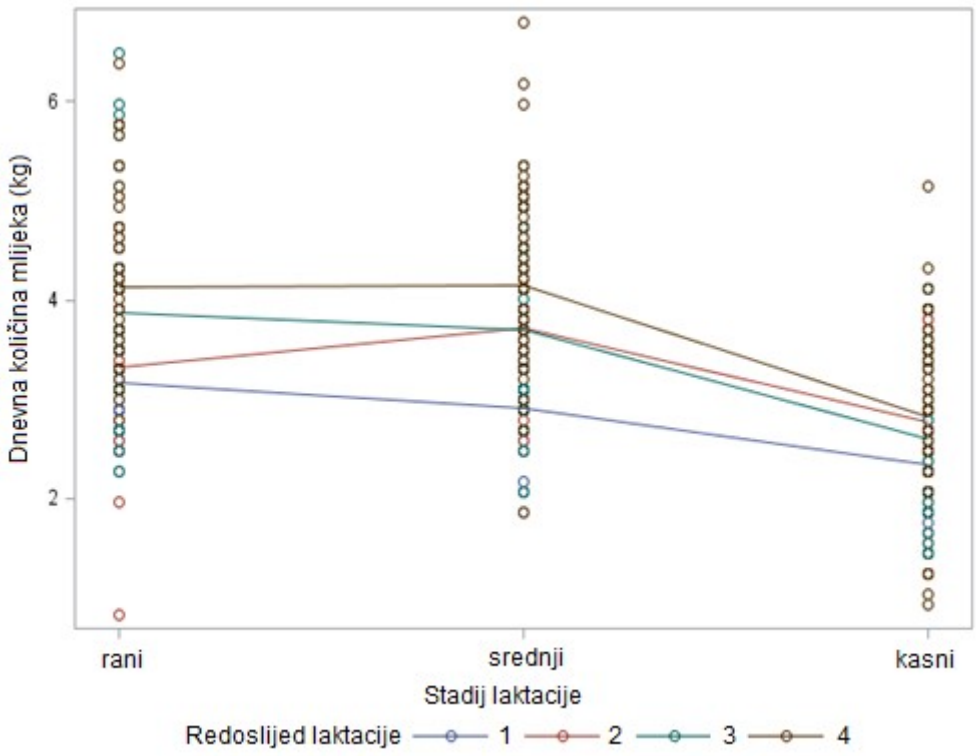
Na slici 21 prikazane su promjene koncentracije uree u kozjem mlijeku ovisno o udjelu SP u krmnoj smjesi i veličini legla.



Slika 21. Interakcija između udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi i veličine legla na koncentraciju uree u kozjem mlijeku

Između udjela SP u krmnoj smjesi i veličine legla utvrđena je značajna ($p<0,001$) interakcija na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza. Iz slike 36 razvidno je kako je najviša koncentracija uree u mlijeku utvrđena u mlijeku koza s troje jaradi u leglu i hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP, a najniža u koza s jednim jaretom i hranjenih sa 14% SP u krmnoj smjesi. Pri hranidbi koza krmnim smjesama sa 16% i 18% SP broj jaradi u leglu nije značajno utjecao na koncentraciju uree u mlijeku.

Promjene u dnevnoj količini mlijeka ovisno o interakciji između stadija i redoslijeda laktacije prikazane su na slici 22.



Slika 22. Promjene dnevne količine mlijeka ovisno o utjecaju stadija i redoslijeda laktacije

Na slici 22 vidljiv je gotovo identičan trend dnevne količine mlijeka ovisno o interakciji između stadija i redoslijeda laktacije. U ranom stadiju laktacije, koze iz 1., 2. i 3. laktacije ostvarile su najvišu dnevnu količinu mlijeka, dok su drugojarke vrh laktacijske proizvodnje dostignule sredinom laktacije.

4.2. Fizikalna svojstva mlijeka

U tablici 15 prikazani su opisni statistički pokazatelji fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza.

Tablica 15. Opisni statistički pokazatelji pojedinih fizikalnih svojstva mlijeka alpina koza

n= 497	$\overline{x}$	SD	SE	Min	Max	CV
pH-vrijednost	6,54	0,10	0,004	5,99	6,77	1,57
Titracijska kiselost (ºSH)	6,66	1,09	0,05	4,11	10,86	16,43
Točka ledišta (ºC)	-0,5542	0,01	0,0004	-0,6217	-0,4522	2,04

$\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; Min = minimalna vrijednost; Max = maksimalna vrijednost; CV = koeficijent varijacije

Iz rezultata prikazanih u tablici 15 vidljivo je da prosječne vrijednosti uzoraka kozjeg mlijeka udovoljavaju odredbama *Pravilnika o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka* (2017.) u pogledu fizikalnih svojstava mlijeka. Prosječna pH-vrijednost i kiselost (°SH) mlijeka iznosila je 6,54 odnosno 6,66, dok je prosječna vrijednost točke ledišta iznosila -0,5542ºC. Ionometrijska kiselost mlijeka varirala je od 5,99 do 6,77, a titracijska kiselost mlijeka od 4,11°SH do 10,86°SH. Najvarijabilnije fizikalno svojstvo mlijeka bila je titracijska kiselost, s koeficijentom varijacije od 16,43%, dok je za ostala svojstva varijabilnost bila mnogo niža.

4.2.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi

U tablici 16 prikazane su prosječne vrijednosti pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi.

Tablica 16. Prosječne vrijednosti pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi

Svojstvo	Udio SP u krmnoj smjesi			Razina značajnosti
	KS-14 (n= 161) (LSM ± SE)	KS-16 (n= 182) (LSM ± SE)	KS-18 (n= 160) (LSM ± SE)	
pH-vrijednost	6,53^{a}±0,01	6,56^{b}±0,01	6,52^{a}±0,01	*
Titracijska kiselost (ºSH)	6,77±0,09	6,55±0,08	6,67±0,09	NZ
Točka ledišta (ºC)	-0,5448±0,004	-0,5544±0,004	-0,5572±0,004	NZ

LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$); NZ = nije značajno;KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

Značajne promjene u fizikalnim svojstvima mlijeka istraživanih alpina koza zbog povećanja udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi utvrđene su jedino za pH-vrijednost mlijeka ($p<0,05$), pri čemu je najviša vrijednost (6,56) utvrđena u koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP (tablica 16).

4.2.2. Stadij laktacije

U tablici 17 prikazan je utjecaj stadija laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka istraživanih alpina koza.

Tablica 17. Utjecaj stadija laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza

Svojstvo	Stadij laktacije			Razina značajnosti
	Rani (n= 155) (LSM ± SE)	Srednji (n= 188) (LSM ± SE)	Kasni (n= 160) (LSM ± SE)	
pH-vrijednost	6,52^{a}±0,01	6,56^{b}±0,01	6,53^{a}±0,01	*
Titracijska kiselost (ºSH)	6,24^{a}±0,09	6,60^{a}±0,07	7,15^{b}±0,09	***
Točka ledišta (ºC)	-0,5536±0,004	-0,5496±0,003	-0,5547±0,004	NZ

LSM - korigirana srednja vrijednost; SE - standardna greška; a,b – vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$); NZ - nije značajno;

Utvrđen je značajan utjecaj stadija laktacije na pH-vrijednost ($p<0,05$) i titracijsku kiselost ($p<0,001$) kozjeg mlijeka (tablica 17). Najviša pH-vrijednost mlijeka utvrđena je u srednjem stadiju laktacije, a kiselost (°SH) u kasnom stadiju laktacije, dok je s odmicanjem laktacije utvrđeno postupno povećanje titracijske kiselosti mlijeka (6,19ºSH u ranom stadiju do 7,09ºSH u kasnom stadiju laktacije). Točka ledišta varirala je od -0,5496ºC u srednjem do -0,5547ºC u kasnom stadiju laktacije, iako utvrđena razlika nije bila značajna.

4.2.3. Redoslijed laktacije

U tablici 18 prikazan je utjecaj redoslijeda laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza.

Tablica 18. Utjecaj redoslijeda laktacije na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza

Svojstvo	Redoslijed laktacije				Razina značajnosti
	1. (n= 85) (LSM ± SE)	2. (n= 91) (LSM ± SE)	3. (n= 132) (LSM ± SE)	4. (n= 195) (LSM ± SE)	
pH-vrijednost	6,53±0,01	6,55±0,01	6,54±0,01	6,53±0,01	NZ
Titracijska kiselost (ºSH)	6,74±0,13	6,59±0,12	6,66±0,10	6,65±0,08	NZ
Točka ledišta (ºC)	$-0,5368^{a}$±0,01	$-0,5535^{ab}$±0,01	$-0,553^{ab}$±0,01	$-0,5578^{b}$±0,01	*

LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$); NZ = nije značajno;

Iz podataka prikazanih u tablici 18 razvidan je značajan ($p<0,05$) utjecaj redoslijeda laktacije na vrijednosti točke ledišta mlijeka. S porastom rednog broja laktacije utvrđeno je smanjenje točke ledišta mlijeka, sa -0,5368ºC u 1. laktaciji do -0,5578ºC u 4. laktaciji (tablica 18).

4.2.4. Veličina legla

U tablici 19 prikazane su prosječne vrijednosti pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka istraživanih alpina koza ovisno o veličini legla.

Tablica 19. Promjene pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka ovisno o veličini legla

Svojstvo	Broj jaradi u leglu			Razina značajnosti
	1 (LSM ± SE)	2 (LSM ± SE)	3 (LSM ± SE)	
pH-vrijednost	6,53±0,01	6,54±0,01	6,52±0,01	NZ
Titracijska kiselost (ºSH)	6,70±0,09	6,61±0,07	6,81±0,17	NZ
Točka ledišta (ºC)	-0,5469±0,004	-0,5545±0,003	-0,5559±0,008	NZ

LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; NZ = nije značajno

Veličina legla nije značajno utjecaja na analizirana fizikalna svojstva kozjeg mlijeka (tablica 19).

4.2.5. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja

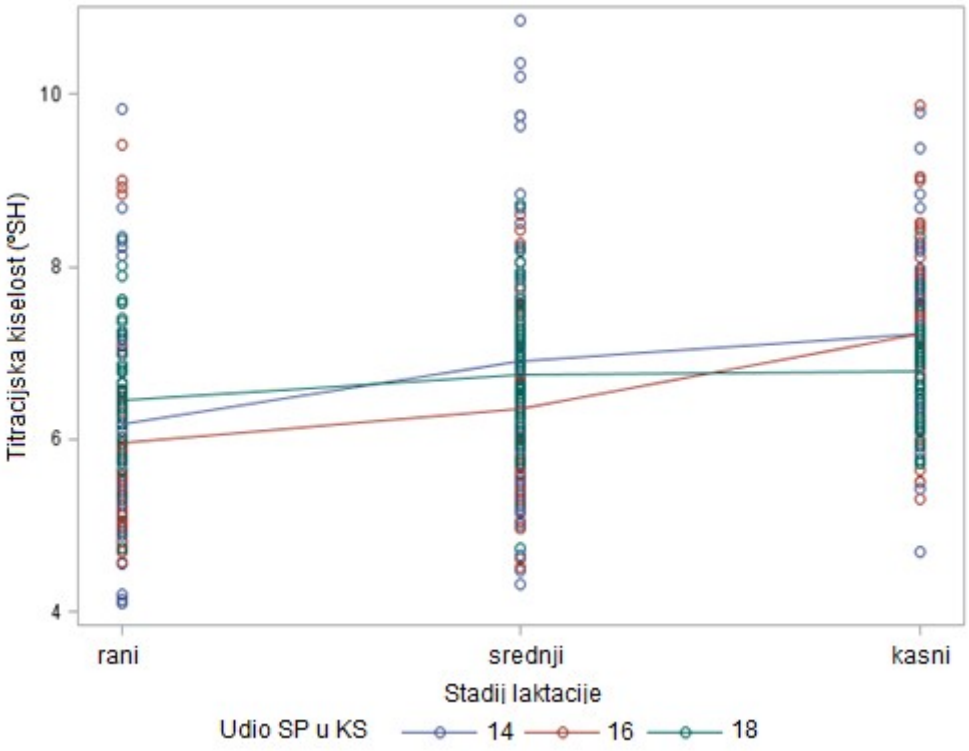
U tablici 20 prikazane su interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na određena fizikalna svojstva kozjeg mlijeka.

Tablica 20. Interakcije pojedinih fiksnih utjecaja na pojedina fizikalna svojstva mlijeka alpina koza

Svojstvo	KS x SL	KS x K	KS x VL	SL x RL	SL x VL
pH-vrijednost	NZ	*	NZ	NZ	NZ
Titracijska kiselost (ºSH)	***	***	NZ	***	NZ
Točka ledišta (ºC)	NZ	*	*	*	NZ

KS = udio sirovih proteina u krmnoj smjesi; RL = redoslijed laktacije; SL = stadij laktacije; K = mjesec u godini; VL = veličina legla; Razina značajnosti = * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$); NZ = nije značajno

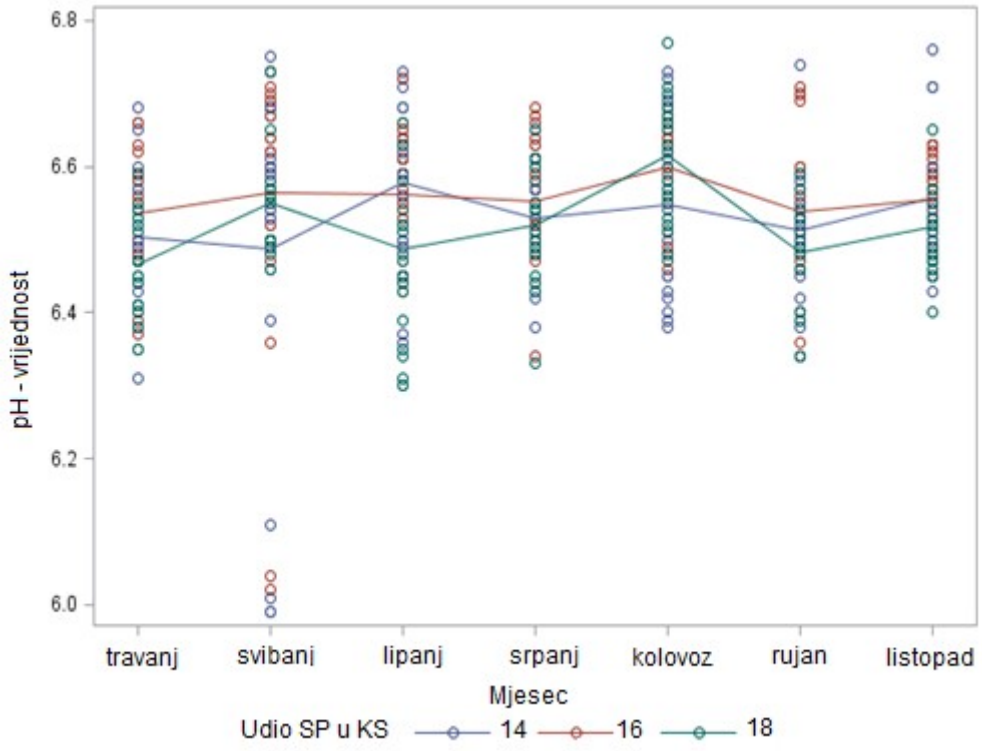
Na slici 23 prikazane su promjene titracijske kiselosti kozjeg mlijeka s obzirom na udio sirovih proteina u krmnoj smjesi i stadiju laktacije.



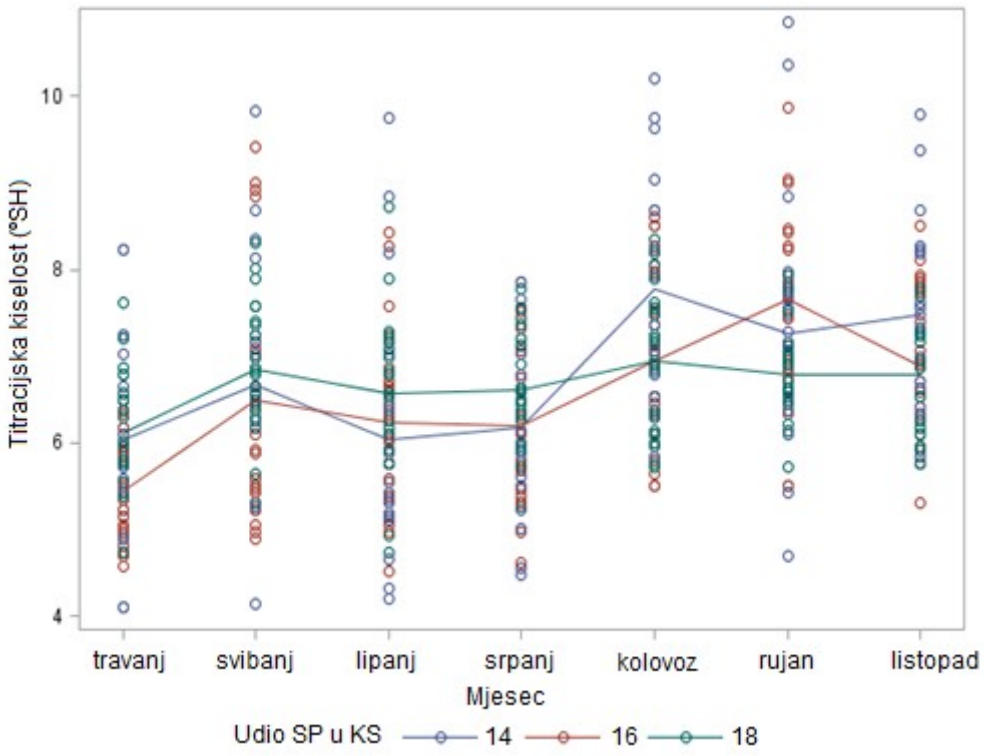
Slika 23. Interakcija između krmnih smjesa i stadija laktacije na titracijsku kiselost kozjeg mlijeka

Povećanje titracijske kiselosti mlijeka tijekom laktacije utvrđeno je u uzorcima mlijeka dobivenih od koza hranjenih krmnim smjesama koje su sadržavale 14% i 16% SP.

Na slikama 24 i 25 prikazane su promjene pH-vrijednosti i titracijske kiselosti kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi i vremenu uzorkovanja (mjesec).



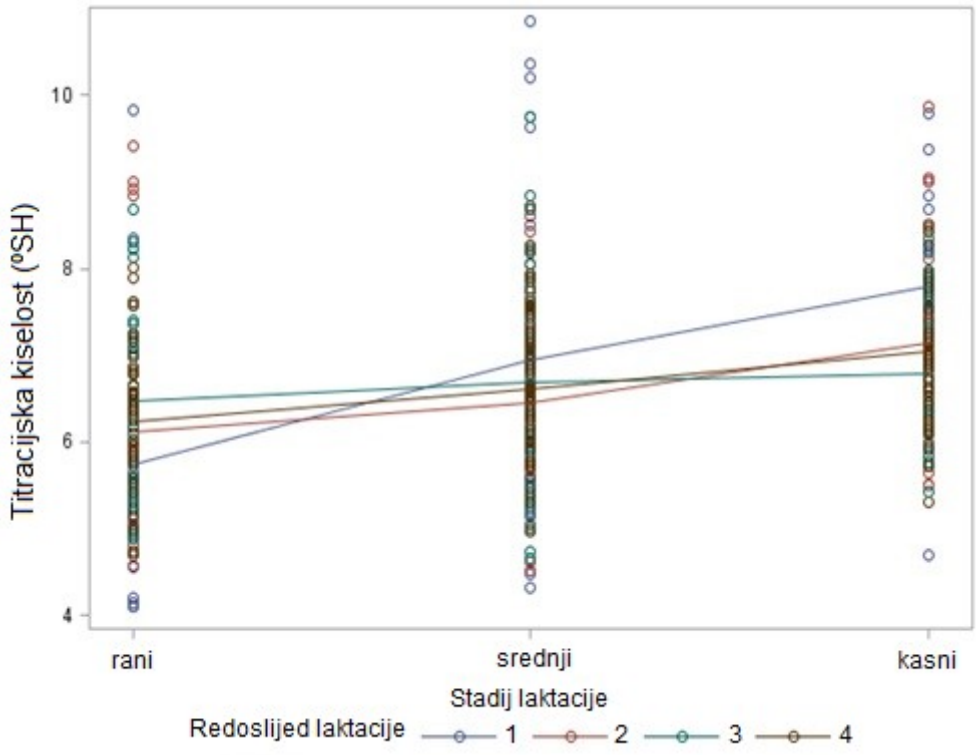
Slika 24. Interakcija između krmnih smjesa i vremena uzorkovanja na pH–vrijednost kozjeg mlijeka



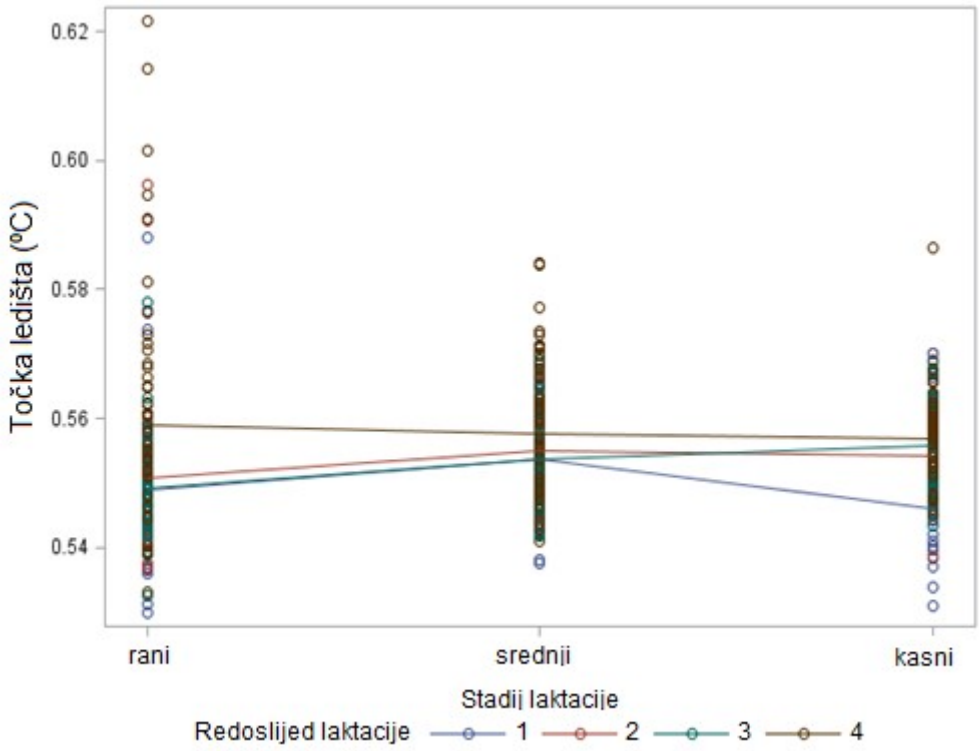
Slika 25. Interakcija između krmnih smjesa i vremena uzorkovanja na titracijsku kiselost kozjeg mlijeka

Najveće varijacije pH-vrijednosti kozjeg mlijeka tijekom laktacije utvrđene su u uzorcima mlijeka koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP, a najmanje oscilacije u mlijeku koza hranjenih sa 16% SP (slika 24). U pogledu titracijske kiselosti mlijeka, najmanje promjene zabilježene su u mlijeku koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP. Najviša kiselost mlijeka utvrđena je u kolovozu i rujnu, kada su koze bile hranjene krmnom smjesom sa 14% SP, odnosno 16% SP (slika 25).

Na slikama 26 i 27 prikazane su interakcije između stadija i redoslijeda laktacije na titracijsku kiselost ($p<0,001$) i točku ledišta ($p<0,05$) mlijeka alpina koza.



Slika 26. Interakcija između stadija i redoslijeda laktacije na titracijsku kiselost (°SH) kozjeg mlijeka



Slika 27. Interakcija između stadija i redoslijeda laktacije na točku ledišta kozjeg mlijeka

Statistički značajne promjene titracijske kiselosti mlijeka tijekom laktacije utvrđene su jedino u koza 4. laktacije (slika 26), u kojih se kiselost linearno povećavala od ranog prema kasnom stadiju laktacije. Najveća variranja točke ledišta mlijeka utvrđena su u mlijeku koza 1. laktacije (slika 27) kada je i točka ledišta mlijeka bila najviša. Najmanja variranja i najniža točka ledišta mlijeka utvrđena je u koza u 4. laktaciji.

4.3. Higijenska kvaliteta mlijeka

Pokazatelji higijenske kvalitete mlijeka određeni su ukupnim brojem aerobnih mezofilnih bakterija (UBB) i brojem somatskih stanica (BSS). U cilju postizanja normalne distribucije ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica izvršeno je logaritmiranje njihovih vrijednosti.

U tablici 21 prikazani su opisni statistički pokazatelji higijenske kvalitete mlijeka alpina koza.

Tablica 21. Parametri higijenske kvalitete mlijeka alpina koza

Svojstvo	$\overline{x}$	SD	SE	Min	Max	CV
UBB (log_{10})	4,47	0,70	0,03	3,30	6,41	15,68
BSS (log_{10})	5,70	0,42	0,02	4,41	6,77	7,35

UBB = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; $\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; Min = minimalna vrijednost; Max = maksimalna vrijednost; CV = koeficijent varijacije

Geometrijska srednja vrijednost UBB-a bila je $29,5x10^3$/mL (log_{10} 4,47), a broja somatskih stanica $501x10^3$/mL mlijeka (log_{10} 5,70). Koeficijenti varijacije ukupnog broja mikroorganizama odnosno broja somatskih stanica iznosili su 15,68% i 7,35%.

4.3.1. Zdravlje mliječne žlijezde

Na početku istraživanja, provedena je bakteriološka pretraga sekreta mliječne žlijezde (polovica vimena) svih istraživanih koza. Kao što je vidljivo iz podataka u tablici 22, u 16,67% istraživanih polovica vimena, odnosno 25% koza izolirani su patogeni mikroorganizmi. Ukupno je izolirano 7 različitih uzročnika supkliničkih upala mliječne žlijezde: *Staphylococcus aureus*, koagulaza-negativni stafilokoki (KNS), *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Shigella* spp. i *Klebsiella* spp.

Tablica 22. Prevalencija i učestalost pojedinih bakterija izoliranih iz mliječne žlijezde alpina koza

n (broj koza) = 72	Inficirano (n)	Inficirano (%)
Koza	18	25
Polovica vimena	24	16,67
Staphylococcus aureus	11	45,83
KNS	5	20,83
Corynebacterium spp.	3	12,5
Enterococcus spp.	2	8,33
Streptococcus spp.	1	4,17
Shigella spp.	1	4,17
Klebsiella spp.	1	4,17

Najčešći izolirani uzročnici supkliničkih upala mliječne žlijezde bili su *Staphylococcus aureus* (45,83%) i koagulaza-negativni stafilokoki *(*20,83%).

Tablica 23. Broj somatskih stanica (BSS) u bakteriološki negativnim i pozitivnim uzorcima mlijeka

	n uzoraka	$\log_{10}$BSS ± SE	BSS/mL
Negativno	120	$5,79^{a}$ ± 0,02	755 289
Pozitivno	24	$6,14^{b}$ ± 0,07	1 799 333

a,b = vrijednosti u istoj koloni označene različitim slovima značajno se razlikuju (p<0,001)

Utvrđen je značajan (p<0,001) utjecaj infekcije mliječne žlijezde na povećanje broja somatskih stanica u mlijeku (tablica 23). Naime, geometrijska srednja vrijednost broja somatskih stanica u mlijeku dobivena iz mliječne žlijezde koza inficiranih patogenim mikroorganizmima iznosila je $1799x10^{3}$/mL, dok je u mlijeku dobivenom iz neinficirane mliječne žlijezde bila $755x10^{3}$/mL, odnosno gotovo 2,5 puta manja.

4.3.2. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi

U tablici 24 prikazana je higijenska kvaliteta kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi.

Tablica 24. Prosječne vrijednosti broja aerobnih mezofilnih bakterija i broja somatskih stanica ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi

Svojstvo	Udio SP u krmnoj smjesi			Razina značajnosti
	KS-14 (n= 161) (LSM ± SE)	KS-16 (n= 182) (LSM ± SE)	KS-18 (n= 160) (LSM ± SE)	
UBB (log_{10})	4,49±0,06	4,42±0,05	4,48±0,06	NZ
BSS (log_{10})	5,72±0,03	5,71±0,03	5,63±0,03	NZ

UBB = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; NZ = nije značajno; KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi nije značajno utjecao na analizirane pokazatelje higijenske kvalitete mlijeka alpina koza (tablica 24).

4.3.3. Stadij laktacije

Prosječne vrijednosti broja aerobnih mezofilnih bakterija i broja somatskih stanica u pojedinim stadijima laktacije prikazane su u tablici 25.

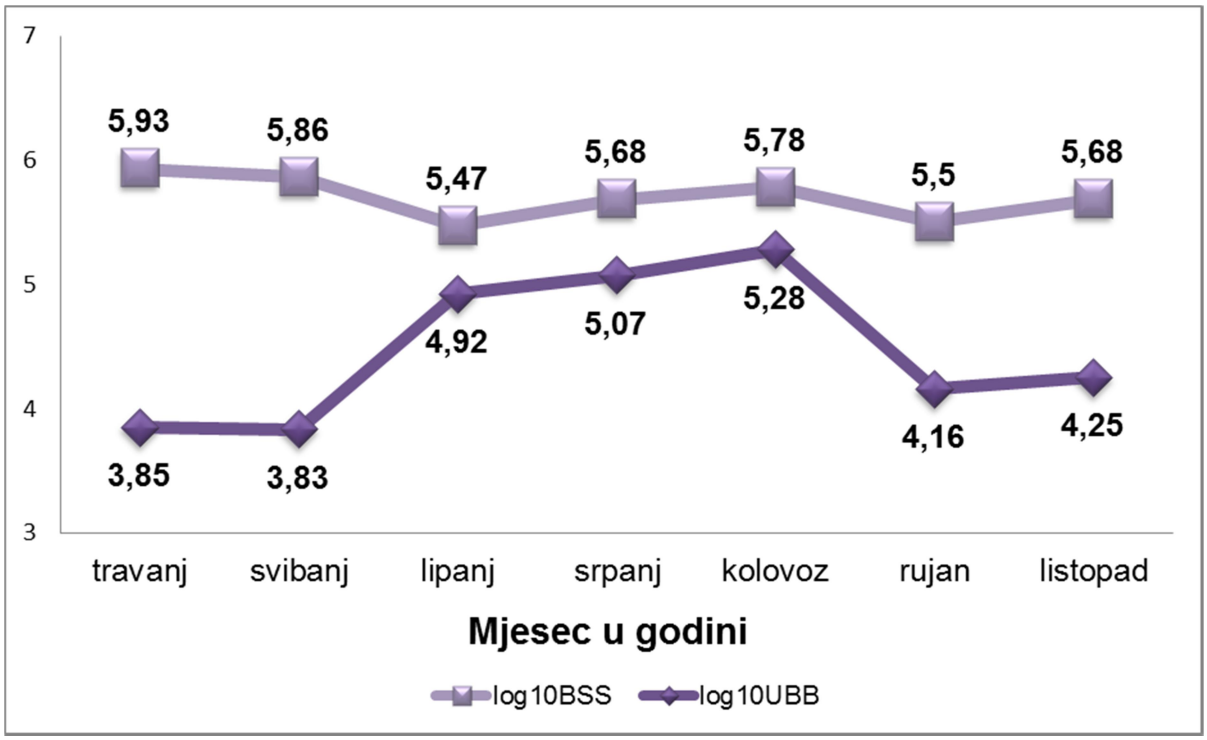
Tablica 25. Higijenska kvaliteta kozjeg mlijeka ovisno o stadiju laktacije

Svojstvo	Stadij laktacije			Razina značajnosti
	Rani (n= 155) (LSM ± SE)	Srednji (n= 188) (LSM ± SE)	Kasni (n= 160) (LSM ± SE)	
UBB (log_{10})	$3,89^{a}$±0,04	$5,02^{b}$±0,04	$4,36^{c}$±0,04	**
BSS (log_{10})	$5,86^{a}$±0,03	$5,60^{b}$±0,03	$5,63^{b}$±0,03	***

UBB = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b,c = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$)

Tijekom srednjeg stadija laktacije utvrđen je značajno (p<0,01) veći broj aerobnih mezofilnih bakterija u mlijeku (105x10^3/mL) u odnosu na mlijeko proizvedeno tijekom ranog i kasnog stadija laktacije. Najveća (p<0,001) geometrijska srednja vrijednost broja somatskih stanica u mlijeku utvrđena je u ranom stadiju laktacije (724x10^3/mL), dok je broj somatskih stanica u ostalom dijelu laktacije bio podjednak.

Na slici 28 prikazan je broj aerobnih mezofilnih bakterija i broj somatskih stanica u mlijeku tijekom laktacije.



Slika 28. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log_{10}UBB/mL) i broj somatskih stanica (log_{10}BSS/mL) u mlijeku alpina koza tijekom pojedinih mjeseci

Geometrijska srednja vrijednost ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija bila je veća tijekom ljeta (lipanj, srpanj, kolovoz) u odnosu na proljetno razdoblje (6,6x10^3/mL). Najveća geometrijska srednja vrijednost broja somatskih stanica (794x10^3/mL) utvrđena je u mlijeku proizvedenom u travnju, a najmanja (295x10^3/mL) u lipnju.

4.3.4. Redoslijed laktacije

U tablici 26 prikazan je utjecaj redoslijeda laktacije na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija i broj somatskih stanica u mlijeku alpina koza.

Tablica 26. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o redoslijedu laktacije

Svojstvo	Redoslijed laktacije				Razina značajnosti
	1. (n= 85) (LSM ± SE)	2. (n= 91) (LSM ± SE)	3. (n= 132) (LSM ± SE)	4. (n= 195) (LSM ± SE)	
UBB (log_{10})	$4,41^{ab}$±0,08	$4,29^{a}$±0,07	$4,47^{ab}$±0,06	$4,56^{b}$±0,05	*
BSS (log_{10})	$5,74^{ab}$±0,05	$5,51^{a}$±0,04	$5,67^{ab}$±0,04	$5,76^{b}$±0,03	***

UBB = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$)

Redoslijed laktacije značajno je utjecao na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ($p<0,05$) kao i na broj somatskih stanica ($p<0,001$) u mlijeku istraživanih alpina koza (tablica 26). U koza 4. laktacije utvrđena je najveća geometrijska srednja vrijednost ukupnog broja mikroorganizama ($36x10^3$/mL) i najveća geometrijska srednja vrijednost broja somatskih stanica u mlijeku ($575x10^3$/mL), a najmanja u koza u 2. laktaciji ($19,5x10^3$/mL; $324x10^3$/mL).

4.3.5. Veličina legla

U tablici 27 prikazane su prosječne vrijednosti ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija (UBB (log_{10})) i broja somatskih stanica (BSS (log_{10})) u mlijeku alpina koza.

Tablica 27. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o veličini legla

Svojstvo	Veličina legla			Razina značajnosti
	1 (LSM ± SE)	2 (LSM ± SE)	3 (LSM ± SE)	
UBB (log_{10})	4,45±0,06	4,48±0,04	4,42±0,11	NZ
BSS (log_{10})	5,67±0,03	5,69±0,02	5,78±0,07	NZ

UBM = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; NZ = nije značajno

Istraživanjem nije utvrđen značajan utjecaj veličine legla na analizirane pokazatelje higijenske kvalitete mlijeka, iako je najviša vrijednost UBM utvrđena u mlijeku koza koje su ojarile jedno jare, dok je ukupan broj somatski stanica najviši bio u mlijeku koza s troje jaradi u leglu (tablica 27).

4.3.6. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja

U tablici 28 prikazane su interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na pokazatelje higijenske kvalitete mlijeka alpina koza.

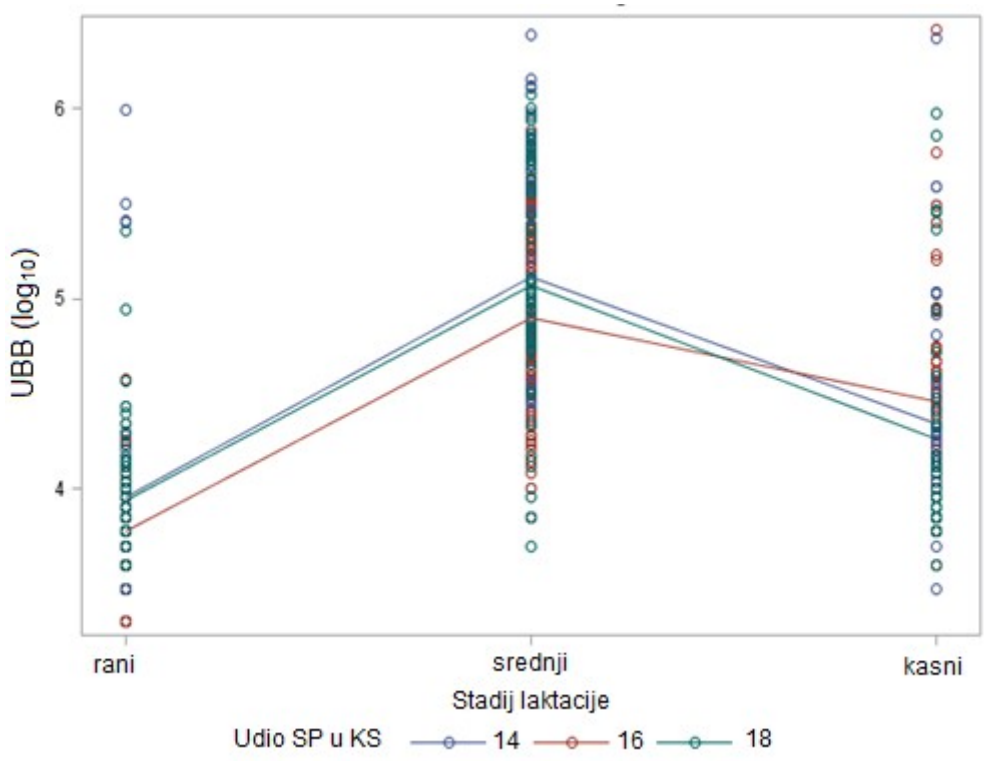
Tablica 28. Interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na pokazatelje higijenske kvalitete mlijeka alpina koza

Svojstvo	KS x SL	KS x K	KS x VL	SL x RL	SL x VL
UBB (log_{10})	*	*	NZ	NZ	***
BSS (log_{10})	NZ	NZ	NZ	***	NZ

UBM = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; KS = udio sirovih proteina u krmnoj smjesi; RL = redoslijed laktacije; SL = stadij laktacije; K = kontrola; VL = veličina legla; Razina značajnosti = * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$); NZ = nije značajno

Značajne interakcije između pojedinih fiksnih utjecaja na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija utvrđene su između udjela SP u krmnoj smjesi i stadija laktacije ($p<0,05$), udjela SP u krmnoj smjesi i mjeseca u godini ($p<0,05$) te stadija laktacije i veličine legla ($p<0,001$). U pogledu BSS u mlijeku utvrđena je značajna interakcija ($p<0,001$) između stadija i redoslijeda laktacije (tablica 28).

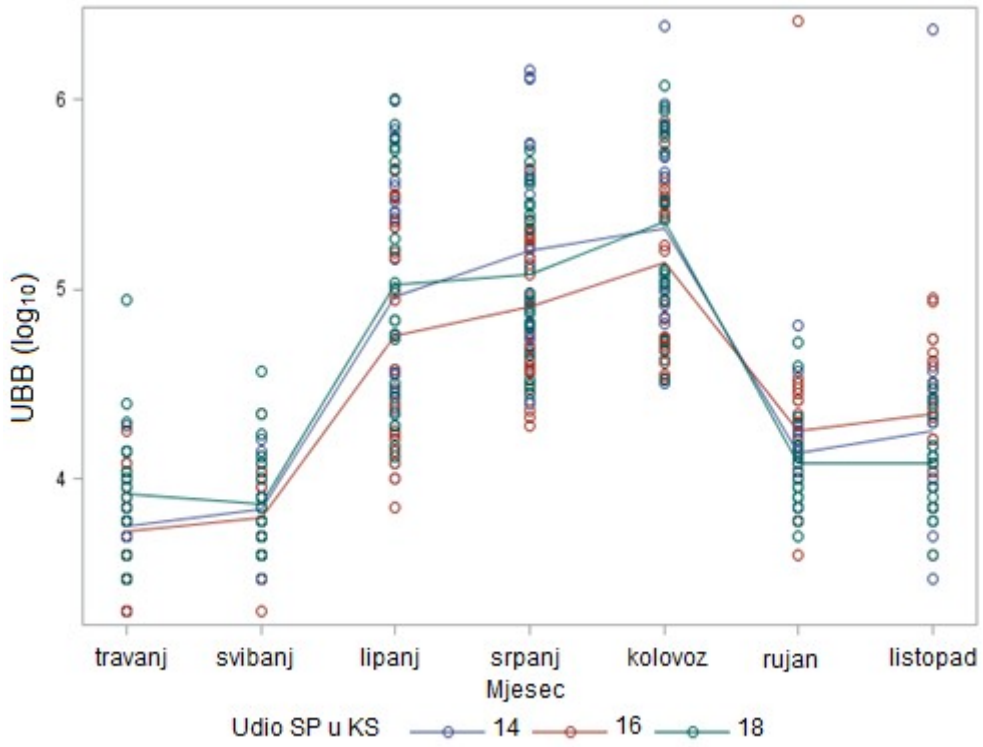
Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na stadij laktacije i udio SP u krmnoj smjesi, prikazan je na slici 29.



Slika 29. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ovisno o stadiju laktacije i udjelu SP u krmnoj smjesi

Najbolja higijenska kvaliteta utvrđena je u mlijeku koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP tijekom ranoga i srednjeg stadija, dok je u kasnom stadiju laktacije utvrđen značajan porast UBB u odnosu na koze hranjene krmnom smjesom sa 14% i 18% SP.

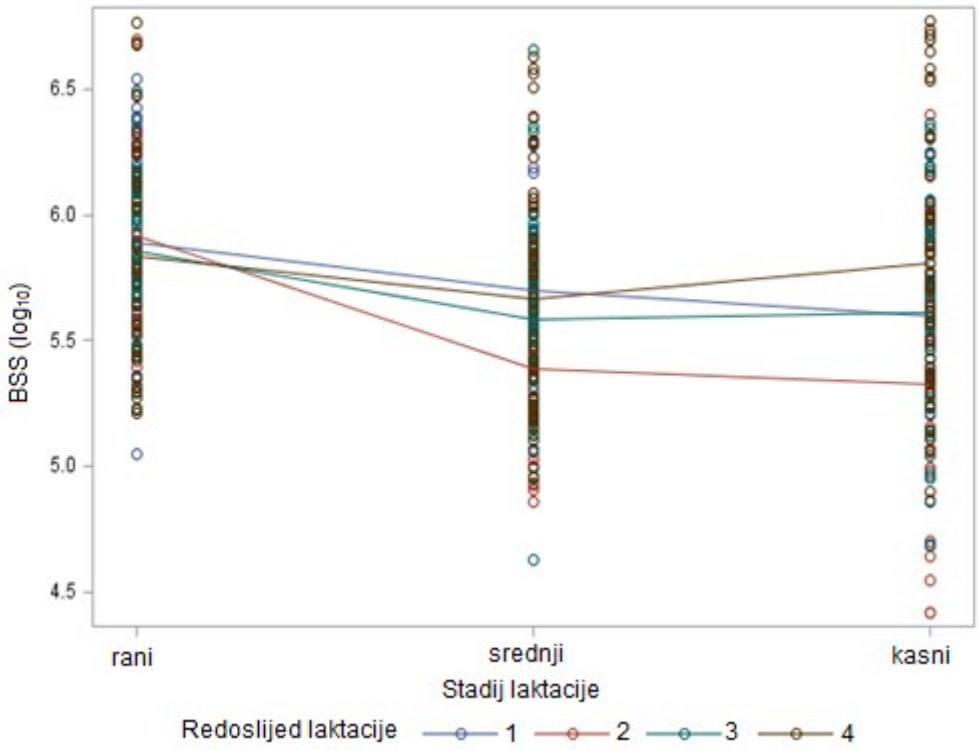
Na slici 30 prikazane su promjene ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u mlijeku izražen kaoUBB (log_{10}) ovisno o mjesecu uzorkovanja i udjelu SP u krmnoj smjesi (14%, 16% i 18%).



Slika 30. Interakcija između mjeseca u godini i udjela SP u krmnoj smjesi na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija

Najviši UBB utvrđen je u lipnju, srpnju i kolovozu u koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP, odnosno 18% SP. Koze hranjene krmnom smjesom sa 16% SP do kolovoza imale su najmanji UBB, koji u rujnu i listopadu postaje značajno veći u odnosu na koze hranjene krmnom smjesom sa 18% SP (slika 30).

Slika 31 prikazuje promjene broja somatskih stanica u mlijeku (BSS (log_{10})) ovisno o interakciji između stadija i redoslijeda laktacije.



Slika 31. Grafički prikaz interakcije između stadija i redoslijeda laktacije na broj somatskih stanica u kozjem mlijeku

Iz slike 31 vidljivo je smanjenje broja somatskih stanica u mlijeku alpina koza prema kraju laktacije, s iznimkom koza u 4. laktaciji kod kojih je najveći broj somatskih stanica utvrđen u mlijeku proizvedenom u kasnom stadiju laktacije.

4.4. Svojstva zgrušavanja mlijeka

U tablici 29 prikazani su opisni statistički pokazatelji svojstava zgrušavanja mlijeka alpina koza.

Tablica 29. Opisni statistički pokazatelji svojstava zgrušavanja kozjeg mlijeka

n=127	$\overline{x}$	SD	SE	Min	Max	CV
r (min)	7,97	3,21	0,28	1,40	12,42	32,73
k_{20} (min)	3,59	2,07	0,25	2,23	15,00	57,77
a_{30} (mm)	19,50	8,68	0,77	5,00	35,50	44,54

r = vrijeme zgrušavanja: k_{20} = brzina formiranja gruša; a_{30} = čvrstoća gruša; $\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; Min = minimalna vrijednost; Max = maksimalna vrijednost; CV = koeficijent varijacije

Iz prikazanih opisnih statističkih pokazatelja razvidna je velika varijabilnost vrijednosti svojstava zgrušavanja mlijeka. Prosječno vrijeme zgrušavanja mlijeka alpina koza iznosilo je 7,97 min., brzina formiranja gruša 3,59 min., prosječna čvrstoća gruša 19,50 mm (tablica 29).

4.4.1. Udio sirovih proteina u krmnoj smjesi

U tablici 30 prikazane su promjene vremena zgrušavanja, brzine formiranja gruša i čvrstoće gruša ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi.

Tablica 30. Svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka ovisno o udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi

Svojstvo	Udio SP u krmnoj smjesi			Razina značajnosti
	KS-14 (LSM ± SE)	KS-16 (LSM ± SE)	KS-18 (LSM ± SE)	
r (min)	8,53±0,50	7,85±0,50	7,57±0,48	NZ
k_{20} (min)	3,91±0,43	3,70±0,43	3,18±0,42	NZ
a_{30} (mm)	19,56 ±1,38	19,84 ±1,38	19,13 ±1,30	NZ

r = vrijeme zgrušavanja: k_{20} = brzina formiranja gruša; a_{30} = čvrstoća gruša; $\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; NZ = nije značajno; KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

Iako istraživanjem nije utvrđen statistički značajan utjecaj udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi na istraživana svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka, formagrafska mjerenja istaknula su bolje preradbene karakteristike mlijeka koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP u odnosu na skupinu koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% i 18% SP, što je vidljivo iz bolje čvrstoće gruša (19,84 mm) uz statistički neznačajno dulje vrijeme zgrušavanja i brzinu formiranja gruša od KS-18 skupine koza odnosno kraće u odnosu na KS-14 skupinu (tablica 30).

4.4.2. Stadij laktacije

Promjene pokazatelja svojstava zgrušavanja mlijeka alpina koza ovisno o stadiju laktacije prikazane su u tablici 31.

Tablica 31. Svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka ovisno o stadiju laktacije

Svojstvo	Stadij laktacije			Razina značajnosti
	Rani (n= 127) (LSM ± SE)	Srednji (n= 127) (LSM ± SE)	Kasni (n= 127) (LSM ± SE)	
r (min)	8,73±0,61	7,62±0,63	8,29±0,64	NZ
k_{20} (min)	3,51±0,18	3,14±0,20	3,10±0,25	NZ
a_{30} (mm)	$21,02^{a}$±1,41	$23,57^{a}$±2,15	$15,53^{b}$±2,34	*

r = vrijeme zgrušavanja: k_{20} = brzina formiranja gruša; a_{30} = čvrstoća gruša; $\overline{x}$ = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju; Razina značajnosti = * ($p<0,05$); NZ = nije značajno

Istraživanjem je utvrđen značajan ($p<0,05$) utjecaj stadija laktacije na čvrstoću gruša, dok se vrijeme zgrušavanja i brzina formiranja gruša nisu značajno razlikovali ovisno o stadiju laktacije. Stoga se na temelju podataka u tablici 31 može zaključiti da najbolja svojstva zgrušavanja mlijeka, odnosno najbolje preradbene odlike ima mlijeko proizvedeno u ranom stadiju laktacije, a najlošije mlijeko proizvedeno u kasnom stadiju laktacije. Pritom valja uzeti u obzir kako je iz mlijeka proizvedenog u ranom stadiju moguće dobiti gruš najbolje čvrstoće.

4.5. Koeficijenti korelacija

U tablici 32 prikazani su koeficijenti korelacija između dnevne količine mlijeka, pokazatelja fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka.

Dnevna količina mlijeka bila je u značajnoj ($p<0,001$) i negativnoj korelaciji s udjelom proteina ($r= -0,53$), kazeina ($r= -0,52$), suhe tvari ($r= -0,47$), suhe tvari bez masti ($r= -0,43$), mliječne masti ($r= -0,37$), a u pozitivnoj korelaciji ($p<0,001$) s koncentracijom uree u mlijeku ($r=0,34$). Također, utvrđena je negativna korelacija ($p<0,01$) između dnevne količine mlijeka i titracijske kiselosti mlijeka i broja somatskih stanica u mlijeku ($r= -0,16$; $r= -0,12$).

Značajna pozitivna korelacija ($p<0,001$) utvrđena je između udjela proteina u mlijeku i udjela suhe tvari bez masti ($r=0,87$), kazeina ($r=0,83$), suhe tvari ($r=0,69$) i mliječne masti ($r=0,36$), dok je između udjela proteina i koncentracije uree u mlijeku ($p<0,01$) i između udjela proteina i ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u mlijeku ($p<0,001$) korelacija bila negativna.

Koncentracija uree u mlijeku bila je u negativnoj korelaciji s udjelima gotovo svih analiziranih kemijskih sastojaka mlijeka, izuzev s udjelom laktoze. Za razliku od navedenog, između koncentracije uree i kiselosti mlijeka ($r=0,15$; $p<0,01$) te ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija ($r=0,28$; $p<0,001$) ustanovljena je pozitivna korelacija.

S povećanjem udjela NPN značajno ($p<0,01$; $p<0,001$) su se povećali udjeli laktoze, suhe tvari, suhe tvari bez masti i broj somatskih stanica u mlijeku, a smanjila koncentracija uree u mlijeku. Također, negativna korelacija utvrđena je i između NPN te pH-vrijednosti mlijeka ($r= -0,11$; $p<0,05$) i ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija ($r= -0,18$; $p<0,001$).

Broj somatskih stanica u mlijeku bio je u pozitivnoj korelaciji s udjelom proteina i udjelom kazeina u mlijeku.

Tablica 32. Koeficijenti korelacija između dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka

n=497	Mast	Protein	P(g)	M:P	M:K	Kazein	NPN	Laktoza	ST	Sbm	Urea	pH	°SH	TL	UBB	BSS	Smjesa
DKM	-0,37 ***	-0,53 ***	0,95 ***	-0,02	0,05	-0,52 ***	0,06	-0,03	-0,47 ***	-0,43 ***	0,34 ***	-0,03	-0,16 **	0,01	0,009	-0,12 **	0,41 ***
Mast	-	0,36 ***	-0,28 ***	0,77 ***	0,68 ***	0,34 ***	0,03	0,24 ***	0,88 ***	0,40 ***	-0,13 ***	-0,03	0,16 ***	-0,02	-0,28 ***	0,03	-0,23 ***
Protein	-	-		-0,31 ***	-0,30 ***	0,83 ***	0,15 **	0,05	0,69 ***	0,87 ***	-0,25 ***	0,02	0,14 **	-0,001	-0,11 *	0,16 **	-0,09 *
P(g)				-0,11 *	-0,31 ***	-0,29 ***	0,11 *	0,0003	-0,27 ***	-0,18 ***	0,30 ***	-0,03	-0,10 *	0,01	0,05	-0,05	0,42 ***
M:P	-	-		-	0,91 ***	-0,23 ***	-0,06	0,21 ***	0,42 ***	-0,18 **	-0,02	-0,06	0,07	-0,02	-0,21 ***	-0,06	-0,18 ***
M:K	-	-		-	-	-0,45 ***	0,13 **	0,22 ***	0,38 ***	-0,16 **	-0,02	-0,07	0,05	-0,03	-0,24 ***	0,02	-0,16 ***
Kazein	-	-		-	-	-	-0,08	-0,01	0,60 ***	0,71 ***	-0,18 ***	0,04	0,13 **	0,01	-0,04	0,03	-0,08
NPN	-	-		-	-	-	-	0,14 **	0,13 **	0,21 ***	-0,17 ***	-0,11 *	-0,003	0,001	-0,18 ***	0,17 ***	0,01
Laktoza	-	-		-	-	-	-	-	0,41 ***	0,49 ***	0,09 *	-0,11 *	-0,03	-0,06	-0,28 ***	0,02	0,01
ST	-	-		-	-	-	-	-	-	0,78 ***	-0,19 ***	-0,05	0,16 ***	-0,03	-0,32 ***	0,08	-0,20 ***
Sbm	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-0,18 ***	-0,04	0,10 *	-0,03	0,23 ***	0,10 *	-0,08
Urea	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	0,15 **	0,07	0,28 ***	-0,06	0,50 ***
pH	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,58 ***	-0,01	0,08	0,03	-0,04
°SH	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07-	-0,01	-0,03	-0,03
TL															-0,07	-0,003	0,21 ***
UBB	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-0,02	-0,003

DKM = dnevna količina mlijeka; P (g) = dnevna količina proizvedenoga proteina; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; ST = suha tvar; Sbm = suha tvar bez masti; UBB = logaritmirani broj aerobnih mezofilnih bakterija (log_{10}); BSS = logaritmirani broj somatskih stanica (log_{10}); Smjesa = udio SP u krmnoj smjesi; * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001)

Koeficijenti korelacija između analiziranih svojstava zgrušavanja mlijeka i pokazatelja fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete skupnih uzoraka kozjeg mlijeka prikazani su u tablici 33.

Tablica 33. Koeficijenti korelacija između svojstava zgrušavanja skupnih uzoraka mlijeka i fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete mlijeka

Svojstvo n= 127	r	k_{20}	a_{30}
k_{20}	0,25*	-	-
a_{30}	-0,02	-0,32**	-
Mast	0,15	-0,04	0,15
Protein	0,21*	-0,07	0,10
Kazein	0,10	-0,12	0,07
NPN	0,13	0,11	0,15
Urea	-0,14	-0,12	0,04
Laktoza	-0,06	-0,003	0,21*
ST	0,18*	-0,05	0,20*
Sbm	0,14	-0,07	0,18*
pH	0,41***	0,13	-0,03
SH	-0,34***	-0,11	-0,13
$\log_{10}$UBB	-0,18*	-0,01	-0,09
$\log_{10}$BSS	0,19*	0,05	-0,32***

r = vrijeme zgrušavanja: k_{20} = brzina formiranja gruša; a_{30} = čvrstoća gruša; NPN = neproteinska dušična frakcija; ST = suha tvar; Sbm = suha tvar bez masti; UBB = logaritmirani broj aerobnih mezofilnih bakterija ($\log_{10}$); BSS = logaritmirani broj somatskih stanica ($\log_{10}$); * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$)

Utvrđene su značajne pozitivne korelacije između vremena zgrušavanja i: udjela suhe tvari, udjela proteina, broja somatskih stanica i brzine formiranja gruša ($r= 0,18–0,25$; $p<0,05$) te pH-vrijednosti skupnih uzoraka mlijeka ($r= 0,41$; $p<0,001$). Između vremena zgrušavanja i kiselosti mlijeka ($r= -0,34$), odnosno UBB-a u mlijeku ($r= -0,18$) utvrđena je značajna negativna korelacija ($p<0,001$; $p<0,05$).

Između vremena formiranja gruša i čvrstoće gruša utvrđena je značajna ($p<0,01$) negativna korelacija ($r= -0,32$).

Značajna povezanost ($p<0,05$) utvrđena je između čvrstoće gruša (a_{30}) i udjela laktoze ($r= 0,21$), suhe tvari ($r= 0,20$) i suhe tvari bez masti ($r= 0,18$), a negativna ($p<0,001$) između čvrstoće gruša i broja somatskih stanica u skupnim uzorcima kozjeg mlijeka ($r= -0,32$).

4.6. Optimalna vrijednost koncentracije uree u mlijeku alpina koza

4.6.1. Povezanost koncentracije uree s proizvodnjom i kemijskim sastavom kozjeg mlijeka

U cilju utvrđivanja povezanosti između koncentracije uree i dnevne količine mlijeka te kemijskog sastava mlijeka, prikupljeni uzorci kozjeg mlijeka razvrstani su u 6 razreda s obzirom na utvrđenu koncentraciju uree u mlijeku, što je prikazano u tablici 34.

Utvrđena je značajna povezanost koncentracije uree u kozjem mlijeku i dnevne količine mlijeka te većine pokazatelja kemijskog sastava, izuzev udjela laktoze te omjera M:P i M:K (tablica 34). Značajno ($p<0,001$) povećanje dnevne količine mlijeka kao i dnevne količine proizvedenoga proteina utvrđeno je tek pri koncentraciji uree višoj od 40 mg/100 mL. Najniža dnevna količina mlijeka utvrđena je pri koncentraciji uree < 30,00 mg/100 mL. Udio proteina, pri višoj koncentraciji uree u mlijeku postupno se smanjivao, a značajno najniža vrijednost udjela proteina u mlijeku utvrđena je pri koncentraciji uree u mlijeku od 50 mg/100 mL. Značajno smanjenje udjela mliječne masti i kazeina utvrđeno je pri koncentraciji uree višoj od 40 mg/100 mL. Najviši udio NPN razvidan je pri najnižoj koncentracijii uree (<30,00 mg/100 mL), odnosno najniži udio NPN pri koncentraciji uree višoj od 50 mg/100 mL. Pri koncentraciji uree od < 30 mg/100 mL utvrđena je najniža dnevna količina mlijeka (2,82 kg) i dnevna količina proizvedenoga proteina (81,38 g), a najviši udio proteina i kazeina. Povećanjem koncentracije uree u mlijeku značajno ($p<0,001$) se povećao i udio suhe tvari u mlijeku.

U tablici 35 i na slici 32 prikazana je raspodjela uzoraka kozjeg mlijeka ovisno o udjelu proteina i koncentraciji uree u mlijeku.

Tablica 34. Dnevna količina mlijeka i kemijski sastav mlijeka ovisno o koncentraciji uree u mlijeku alpina koza

Svojstvo	Urea u mlijeku (mg/100 mL)						Razina značajnosti
	<30,00 (n = 79) (LSM ± SE)	30,01-35,00 (n = 55) (LSM ± SE)	35,01-40,00 (n = 107) (LSM ± SE)	40,01-45,00 (n = 96) (LSM ± SE)	45,01-50,00 (n = 79) (LSM ± SE)	>50,00 (n = 87) (LSM ± SE)	
DKM (kg)	$2,82^{a}$±0,11	$3,07^{ab}$±0,12	$3,23^{ab}$±0,09	$3,49^{bc}$±0,09	$3,75^{bc}$±0,10	$3,92^{cd}$±0,10	***
Suha tvar (%)	$11,32^{a}$±0,08	$11,23^{ab}$±0,08	$11,04^{ab}$±0,06	$10,85^{b}$±0,07	$10,97^{ab}$±0,07	$10,84^{b}$±0,07	***
Mliječna mast (%)	$3,30^{a}$±0,05	$3,29^{a}$±0,06	$3,12^{ab}$±0,04	$3,04^{b}$±0,05	$3,10^{ab}$±0,05	$3,07^{b}$±0,05	*
Protein (%)	$2,94^{a}$±0,03	$2,88^{a}$±0,04	$2,86^{a}$±0,03	$2,77^{bc}$±0,03	$2,78^{c}$±0,03	$2,69^{c}$±0,03	**
Protein (g/dan)	$81,38^{a}$±2,77	$86,90^{a}$±2,88	$90,94^{ab}$±2,22	$95,45^{bc}$±2,35	$103,55^{c}$±2,59	$104,63^{c}$±2,47	***
M:P	1,13±0,02	1,15±0,02	1,10±0,01	1,10±0,02	1,12±0,02	1,14±0,02	NZ
Kazein (%)	$2,33^{a}$±0,03	$2,29^{ab}$±0,03	$2,27^{ab}$±0,03	$2,20^{ab}$±0,03	$2,20^{ab}$±0,03	$2,15^{b}$±0,03	***
M:K	1,45±0,03	1,45±0,03	1,39±0,02	1,40±0,02	1,42±0,02	1,43±0,02	NZ
NPN (%)	$0,17^{a}$±0,01	$0,13^{ab}$±0,01	$0,13^{ab}$±0,01	$0,14^{ab}$±0,01	$0,14^{ab}$±0,01	$0,11^{b}$±0,01	***
Laktoza (%)	4,08±0,02	4,09±0,02	4,08±0,01	4,07±0,01	4,12±0,01	4,11±0,01	NZ
Sbm (%)	$8,00^{a}$±0,04	$7,94^{ab}$±0,04	$7,91^{ab}$±0,03	$7,80^{ab}$±0,03	$7,86^{ab}$±0,04	$7,80^{b}$±0,04	***

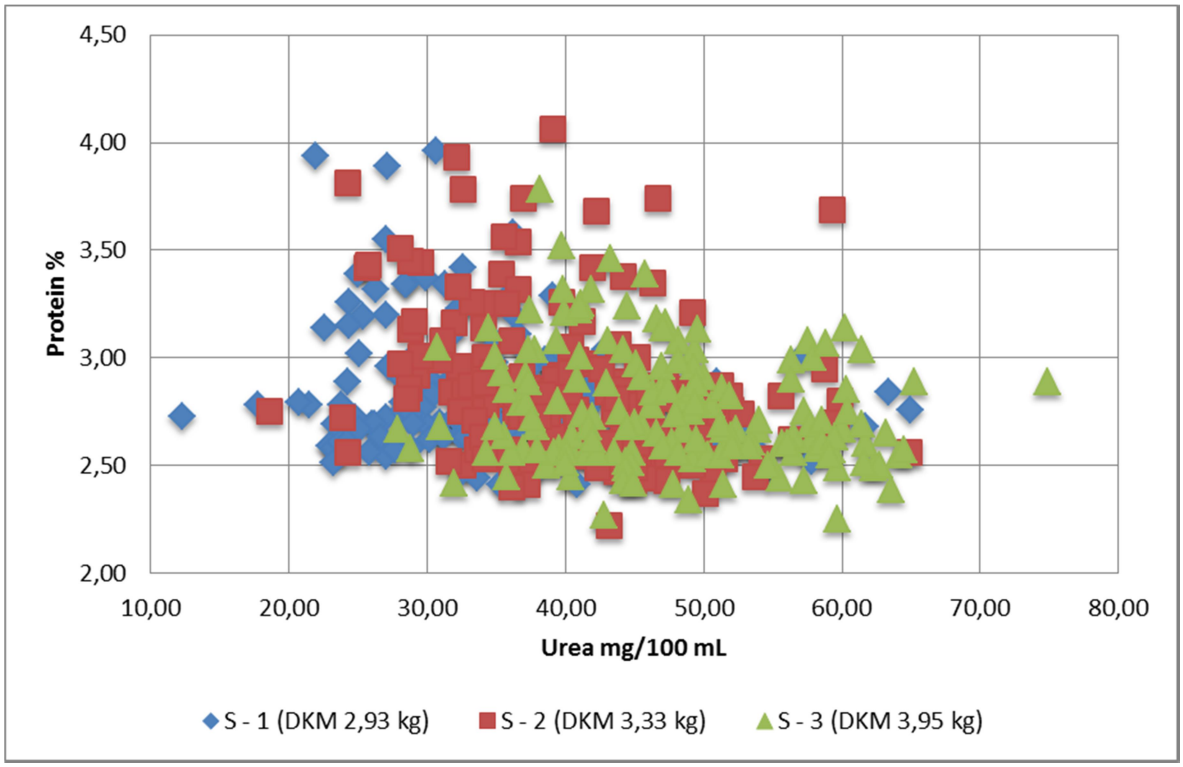
DKM = dnevna količina mlijeka; M:P = omjer mliječna mast i protein; M:K = omjer mliječna mast i kazein; NPN = neproteinska dušična frakcija; Sbm = suha tvar bez masti; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b,c,d = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$); NZ = nije značajno

Tablica 35. Raspodjela uzoraka mlijeka koza hranjenih s različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o udjelu proteina i koncentraciji uree u mlijeku

n = 502			Urea u mlijeku (mg/100 mL)											
			<30,00		30,01-35,00		35,01-40,00		40,01-45,00		45,01-50,00		>50,00	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Protein u mlijeku (%)	<2,50	KS-14	-	-	2	0,4	2	0,4	1	0,2	-	-	-	-
		KS-16	-	-	1	0,2	2	0,4	6	1,2	4	0,8	3	0,6
		KS-18	-	-	1	0,2	2	0,4	5	1,0	2	0,4	11	2,19
	2,51 – 3,00	KS-14	36	7,17	23	4,58	32	6,37	18	3,59	7	1,39	9	1,79
		KS-16	7	1,39	18	3,59	28	5,58	33	6,57	28	5,58	15	2,99
		KS-18	2	0,4	3	0,6	16	3,19	17	3,39	28	5,58	42	8,37
	>3,00	KS-14	15	2,99	5	1,0	8	1,59	1	0,2	-	-	1	0,2
		KS-16	9	1,79	8	1,59	9	1,79	6	1,2	3	0,6	2	0,4
		KS-18	-	-	3	0,6	8	1,59	9	1,79	7	1,39	4	0,8

KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

U 207 (41,24%) analiziranih uzoraka mlijeka utvrđena je koncentracija uree od 35 do 50 mg/100 mL, a udio je proteina od 2,5% do 3,0%. Od toga je 27,54% uzoraka potjecalo od koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP, 43,00% uzoraka od koza hranjenih smjesom sa 16% SP, odnosno 29,46% uzoraka mlijeka dobivenih od koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP.



Slika 32. Procjena izbalansiranosti obroka koza na osnovi koncentracije uree i udjela proteina u mlijeku

U tablici 36 prikazana je raspodjela uzoraka kozjeg mlijeka ovisno o udjelu proteina u mlijeku.

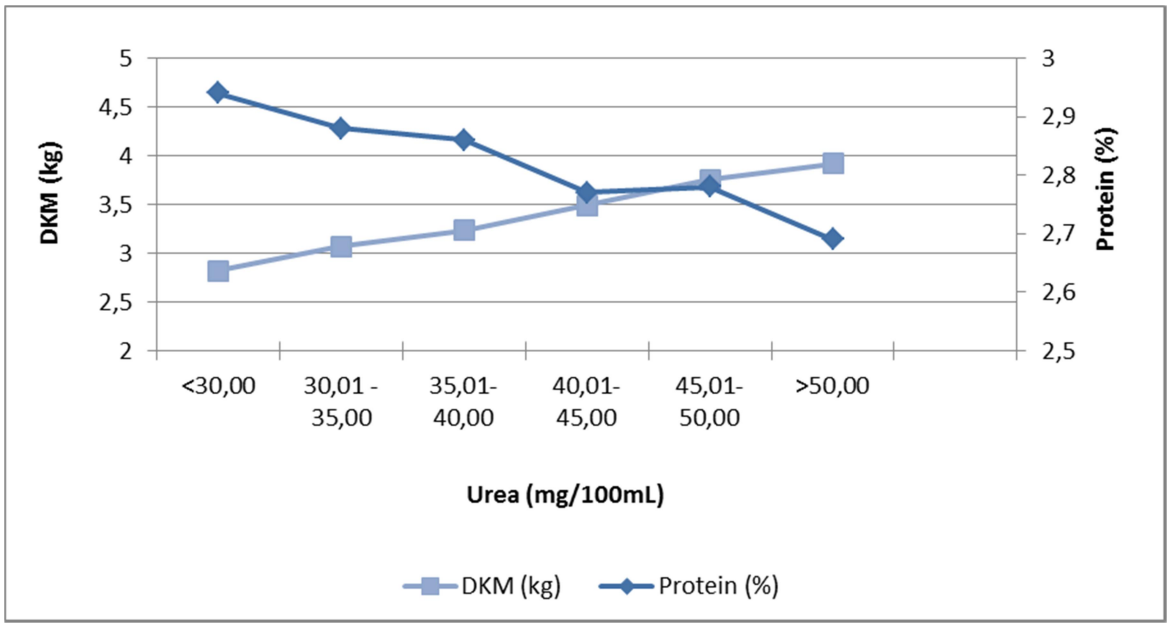
Tablica 36. Raspodjela uzoraka mlijeka koza hranjenih s različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o udjelu proteina u mlijeku

Protein (%)	Broj uzoraka				Udio %			
	n	KS-14	KS-16	KS-18	%	KS-14	KS-16	KS-18
< 2,5	42	5	16	21	8,37	11,94	38,06	50,0
2,5 - 3,0	362	125	129	108	72,11	34,72	35,64	29,84
> 3,0	98	30	37	31	19,52	30,61	37,76	31,36
Ukupno	502				100%			

KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

U 72,11% analiziranih uzoraka kozjeg mlijeka utvrđen je udio proteina od 2,5% do 3,0% koji su u podjednakom omjeru potjecali od koza hranjenih krmnom smjesom sa 14%, 16% i 18% SP što upućuje na činjenicu kako se hranidbom krmnom smjesom sa višim udjelom SP udio proteina neznačajno povećava već se očito višak pretvara u ureu.

Na slici 33 prikazane su promjene dnevne količine mlijeka i udjela proteina u mlijeku ovisno o koncentraciji uree u mlijeku.



Slika 33. Povezanost koncentracije uree u kozjem mlijeku s dnevnom količinom mlijeka i udjelom proteina u mlijeku

Iz slike 33 razvidno je smanjenje udjela proteina u mlijeku do koncentracije uree 40,00 mg/100 mL, a čija se vrijednost značajno ne snižava do 50,00 mg/100 mL uree u mlijeku. Istovremeno, značajan ($p<0,001$) je porast dnevne količine mlijeka tek kada je u mlijeku utvrđeno 45,01-50,00 mg/100 mL uree. Točka je sjecišta krivulja dnevne količine mlijeka i udjela proteina u mlijeku pri koncentraciji uree u mlijeku od 45,01 do 50,00 mg/100 mL, nakon koje se krivulje ponovo razilaze.

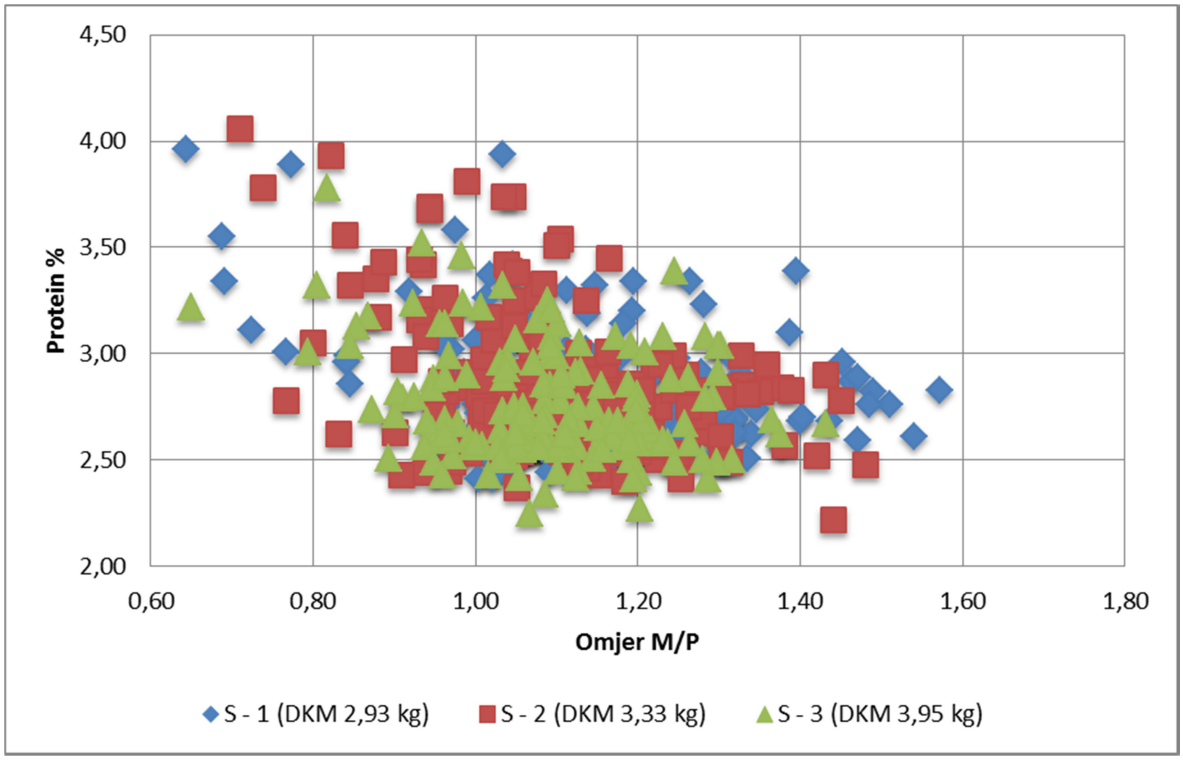
U tablici 37 i na slici 34 prikazana je raspodjela uzoraka mlijeka ovisno o omjeru M:P u mlijeku koza tijekom laktacije.

Tablica 37. Raspodjela uzoraka mlijeka tijekom laktacije u koza hranjenih s različitim udjelom proteina u krmnoj smjesi ovisno o omjeru M:P u mlijeku

Omjer	Broj uzoraka				Udio %			
M:P	Tretman	KS-14	KS-16	KS-18	Tretman	KS-14	KS-16	KS-18
< 0,9	33	10	12	11	6,6	30,31	36,36	33,33
0,9-1,1	208	49	79	80	41,6	23,56	37,98	38,46
1,11-1,3	211	73	74	64	42,2	34,60	35,07	30,33
> 1,3	48	27	17	4	9,6	56,25	35,42	8,33
Ukupno	500				100%			

KS-14 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP; KS-16 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 16% SP; KS-18 = skupina koza hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP

U 42,2% analiziranih uzoraka mlijeka utvrđen je omjer M:P od 1,11 do 1,3 pri čemu je utvrđena podjednaka zastupljenost uzoraka koji potječu od koza hranjenih krmnom smjesom sa 14%, 16% i 18 % SP (slika 34). U manje od 10% uzoraka mlijeka utvrđen je omjer M:P>1,3, a u svega 6,6% uzoraka omjer M:P<0,9.



Slika 34. Procjena izbalansiranosti obroka alpina koza na osnovi omjera M:P i udjela proteina u mlijeku

4.6.2. Povezanost koncentracije uree s fizikalnim svojstvima kozjeg mlijeka

Promjene pojedinih fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza ovisno o različitim koncentracijama uree u mlijeku prikazane su u tablici 38.

Tablica 38. Fizikalna svojstva mlijeka alpina koza ovisno o različitim koncentracijama uree u mlijeku

		Fizikalno svojstvo		
		pH–vrijednost (LSM ± SE)	Titracijska kiselost (ºSH) (LSM ± SE)	Točka ledišta (ºC) (LSM ± SE)
Urea u mlijeku (mg/100 mL)	<30,00	6,53±0,02	6,62±0,14	-0,5509^{a}±0,001
	30,01-35,00	6,53±0,01	6,84±0,14	-0,5529^{ab}±0,001
	35,01-40,00	6,54±0,01	6,78±0,11	-0,5535^{ab}±0,001
	40,01-45,00	6,54±0,01	6,54±0,12	-0,5536^{ab}±0,001
	45,01-50,00	6,54±0,01	6,57±0,13	-0,5557^{ab}±0,001
	>50,00	6,54±0,01	6,61±0,12	-0,5592^{b}±0,001
	Razina značajnosti	NZ	NZ	***

LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istoj koloni označene različitim slovima značajno se razlikuju ** (p<0,01); NZ = nije značajno

Statistički značajne (p<0,001) promjene ovisno o koncentraciji uree u kozjem mlijeku utvrđene su za točku ledišta, pri čemu se s porastom koncentracije uree u mlijeku snižavala točka ledišta mlijeka. Najviša točka ledišta (-0,5509ºC) utvrđena je u uzorcima mlijeka čija je koncentracija uree u mlijeku bila niža od 30 mg/100 mL, dok je najniža točka ledišta (-0,5592ºC) u mlijeku pri koncentraciji uree višoj od 50 mg/100 mL.

4.6.3. Povezanost koncentracije uree s higijenskom kvalitetom kozjeg mlijeka

Promjene higijenskih pokazatelja kvalitete mlijeka alpina koza ovisno o različitim koncentracijama uree u mlijeku prikazane su u tablici 39.

Tablica 39. Higijenska kvaliteta mlijeka alpina koza ovisno o koncentraciji uree u mlijeku

		Higijenska kvaliteta mlijeka	
		UBB (log_{10}) (LSM ± SE)	BSS (log_{10}) (LSM ± SE)
Urea u mlijeku (mg/100 mL)	<30,00	$4,16^{a}$±0,08	$5,85^{a}$±0,05
	30,01-35,00	$4,30^{a}$±0,08	$5,65^{ab}$±0,05
	35,01-40,00	$4,40^{a}$±0,07	$5,69^{ab}$±0,04
	40,01-45,00	$4,47^{ab}$±0,07	$5,63^{b}$±0,04
	45,01-50,00	$4,57^{ab}$±0,08	$5,69^{ab}$±0,05
	>50,00	$4,79^{b}$±0,07	$5,66^{b}$±0,05
	Razina značajnosti	***	*

UBB = ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; BSS = broj somatskih stanica; LSM = korigirana srednja vrijednost; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istoj koloni označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$), *** ($p<0,001$)

Statistički značajne promjene ovisno o koncentraciji uree u kozjem mlijeku utvrđene su za ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ($p<0,001$) i broj somatskih stanica u mlijeku ($p<0,05$). S povećanjem koncentracije uree u mlijeku povećavao se i broj mikroorganizama u mlijeku (od $14,5x10^3$/mL pri koncentraciji uree <30,00 mg/100 mL uree do $61,7x10^3$/mL pri koncentraciji uree višoj od 50 mg/100 mL mlijeka). Promjene broja somatskih stanica u mlijeku u ovisnosti o koncentraciji uree u mlijeku obrnute su onim utvrđenim za ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija. Naime, najviši BSS ($708x\ 0^3$/mL) utvrđen je u uzorcima mlijeka pri koncentraciji uree nižoj od 30,00 mg/100 mL, a najniži ($457x10^3$/mL) pri koncentraciji uree višoj od 50,00 mg/100 mL (tablica 39).

4.6.4. Povezanost koncentracije uree sa svojstvima zgrušavanja kozjeg mlijeka

U tablici 40 prikazane su promjene svojstava zgrušavanja mlijeka (vrijeme zgrušavanja, brzina formiranja gruša i čvrstoća gruša) ovisno o koncentraciji uree u skupnim uzorcima mlijeka alpina koza.

Tablica 40. Svojstva zgrušavanja skupnih uzoraka mlijeka alpina koza ovisno o koncentraciji uree u mlijeku

		Svojstva zgrušavanja mlijeka		
		r (min) (LSM ± SE)	k_{20} (min) (LSM ± SE)	a_{30} (mm) (LSM ± SE)
Urea u mlijeku (mg/100 mL)	<30,00	8,53±0,86	$3,14^{a}$±0,30	21,96±1,20
	30,01-35,00	7,22±0,89	$3,18^{ab}$±0,75	18,25±2,52
	35,01-40,00	7,84±0,80	$5,65^{b}$±0,66	23,62±2,42
	40,01-45,00	7,64±0,93	$3,21^{ab}$±0,89	17,73±2,63
	45,01-50,00	6,96±0,06	$3,04^{a}$±0,60	18,18±1,86
	>50,00	7,93±0,46	$3,29^{a}$±0,40	19,50±1,30
	Razina značajnosti	NZ	*	NZ

r = vrijeme zgrušavanja: k_{20} = brzina formiranja gruša; a_{30} = čvrstoća gruša; LSM = korigirana srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; SE = standardna greška; a,b = vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju * ($p<0,05$); NZ = nije značajno

Značajne ($p<0,05$) razlike u svojstvima zgrušavanja mlijeka ovisno o različitoj koncentraciji uree u mlijeku utvrđene su jedino za brzinu formiranja gruša (k_{20}). Najkraće vrijeme zgrušavanja utvrđeno je u mlijeku s koncentracijom uree od 45,01 do 50 mg/100 mL, dok se mlijeko najsporije zgrušava kada je koncentracija uree u mlijeku niža od 30 mg/100 mL (tablica 40). Mlijeko s koncentracijom uree u rasponu od 35 do 40 mg/100 mL najsporije se gruša, a ono je ujedno i najbolje čvrstoće.

U tablici 41 prikazani su koeficijenti determinacije za pojedine izvore varijabilnosti koncentracije uree u kozjem mlijeku.

Tablica 41. Koeficijenti determinacije pojedinih izvora varijabilnosti koncentracije uree u mlijeku alpina koza

Izvor varijabilnosti	R^2
Udio SP u krmnoj smjesi	0,2509
Redoslijed laktacije	0,1265
Veličina legla	0,0192
Stadij laktacije	0,0012

Hranidbenim tretmanom, odnosno različitim udjelom sirovih proteina u krmnoj smjesi, objašnjeno je 25,09% ukupne varijance koncentracije uree u mlijeku, redoslijedom laktacije 12,65%, a veličinom legla (broj jaradi u leglu) 1,92%. Linearnom regresijom nije utvrđen značajan koeficijent determinacije za stadij laktacije (tablica 41).

5. RASPRAVA

5.1. Dnevna količina mlijeka, kemijski sastav, higijenska kvaliteta i svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka

Intenzivna proizvodnja kozjeg mlijeka u Hrvatskoj najvećim je dijelom organizirana na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Ta su gospodarstva uglavnom smještena u sjeverozapadnoj Hrvatskoj na području Međimurske i Varaždinske županije. Proteklih godina, poluintenzivnim i ekstenzivnim sustavom proizvodnje kozjeg mlijeka počela su se baviti i poljoprivredna gospodarstva smještena na području Dalmacije, Istre i Primorja. Proizvodnja kozjeg mlijeka temelji se na uzgoju visokomliječnih pasmina koza: alpina, sanske i njemačke srnaste. U želji za većom proizvodnjom mlijeka, uzgajivači iz drugih područja Hrvatske kupuju koze za rasplod u intenzivnim uzgojima, a zatim ih drže poluintenzivno ili ekstenzivno što često rezultira lošim proizvodnim rezultatima zbog specifičnih uzgojno-tehnoloških postupaka ponajviše hranidbe i smještaja. Koze će svoj nasljedni potencijal za proizvodnju mlijeka ostvariti, samo ako su sve potrebne hranjive tvari dobile u potrebnim količinama i omjerima. Potencijal koza za proizvodnju mlijeka primarno je određen njihovim genotipom (Antunac i Samaržija, 2000.). Genetski je potencijal najvažniji čimbenik količine, kemijskog sastava i fizikalnih svojstava kozjeg mlijeka. Zbog toga, količinom i kemijskim sastavom mlijeka pasmine koza međusobno značajno se razlikuju.

Alpina je visokomliječna pasmina i ujedno čini najbrojniju mliječnu pasminu koza u Hrvatskoj (≈68% uzgojno valjane populacije koza u Republici Hrvatskoj). Prema podacima Hrvatske poljoprivredne agencije, u 2016. godini alpina koze su u prosječnoj laktaciji od 265 dana (dojno razdoblje 237 dana) prosječno proizvele 768 kg mlijeka s 3,3% mliječne masti i 3,02% proteina (HPA, 2017.).

Na temelju rezultata dobivenih predmetnim istraživanjem, prikazanih u tablici 3, vidljivo je kako je prosječni kemijski sastav sirovog kozjeg mlijeka sukladan pravilnikom propisanim vrijednostima. Alpina koze su tijekom laktacije, koja je u prosjeku trajala 258 dana, prosječno dnevno proizvele 3,41 kg mlijeka sa 3,14% mliječne masti i 2,85% proteina (tablica 9). Nižu prosječnu dnevnu količinu mlijeka alpina pasmine koza utvrdili su Mioč i sur., (2008.), Memiši i sur., (2014.), Vissoh i sur., (2015.) te Antolić i sur., (2016.). Udio mliječne masti i proteina niži je od vrijednosti koje su u mlijeku alpina, sanskih i girgentana koza utvrdili Todaro i sur., (2005.), Mioč i sur., (2008.), Marenjak i sur., (2009.) te Memiši i Stanišić, (2014.). Bolja kvaliteta mlijeka u pogledu udjela mliječne masti i proteina povezana je s nižom proizvodnjom mlijeka, što potvrđuju Todaro i sur., (2005.). Prema istraživanju Bonanno i sur., (2008.) girgentana koze koje su boravile na

pašnjacima prosječno su proizvele 1160 g mlijeka što je znatno manje od dnevne proizvodnje mlijeka utvrđene ovim istraživanjem, dok je udio mliječne masti (3,8%) i proteina (3,9%) znatno viši. Naime, iz navedenih podataka kemijskog sastava mlijeka te omjera mliječna mast:protein koje navode Bonanno i sur., (2008.) vidljivo je kako obrok nije dobro izbalansiran budući da je utvrđen viši udio proteina nego mliječne masti.

Prosječna koncentracija uree u mlijeku bila je 41,43 mg/100 mL, što je više od vrijednosti koje za kozje mlijeko navode Kuchtík i Sedláčková, (2003.), Min i sur., (2005.), Bonanno i sur., (2008.), Rapetti i sur., (2009.), Laudadio i Trufarelli, (2010.) te Rapetti i sur., (2014.). Nasuprot tome, Suprechi i sur., (2007.) u mlijeku sanskih koza utvrdili su višu koncentraciju uree. Visoko mliječne koze imaju veću sposobnost recikliranja uree i dušika u odnosu na pasmine koza slabije mliječnosti (Brun-Bellut, 1997.). Visoki koeficijenti varijabilnosti utvrđeni su za NPN (CV=61,59%) i koncentraciju uree u mlijeku (CV=29,02%). Razlog tome vjerojatno je hranidba koza krmnom smjesom s različitim udjelom sirovih proteina (Frand i sur., 2003.).

Prosječna pH-vrijednost mlijeka bila je 6,54 što je u skladu s rezultatima koje su za svježe kozje mlijeko utvrdili Morgan i sur., (2003.) i Todaro i sur., (2005.).

Sposobnost zgrušavanja mlijeka alpina koza vrednovana je kroz trima pokazateljima: vrijeme zgrušavanja (r) koje je prosječno iznosilo 7,97 min., brzinu formiranja gruša 3,59 min i čvrstoću gruša 19,50 mm (tablica 29). Više vrijednosti za svojstvo r i a_{30} te niže za svojstvo k_{20} u mlijeku girgentana koza utvrdili su Todaro i sur., (2005.). Naime, mlijeko koje se brže zgrušava i ima bolju čvrstoću gruša očekuje se da će rezultirati višim prinosom sira te da će sirutkom izgubiti manje sastojaka mlijeka u usporedbi s mlijekom koje se zgrušava sporije i ima lošiju čvrstoću gruša (Aleandri i sur., 1989.; Ng-Kwai-Hang i sur., 1989.; Lucey i Kelly, 1994.; Martin i sur., 1997.). Iako Ambrosoli i sur., (1988.) u sastavu mlijeka alpina i sanskih koza nisu utvrdili značajne razlike, autori navode bolja svojstva zgrušavanja (kraći r, viši k_{20} i a_{30}) mlijeka alpina koza.

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (UBB) i broj somatskih stanica (BSS) temeljni su pokazatelji higijenske kvalitete mlijeka koja je bila važna za odabir koza uključenih u istraživanje. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je $29,5x10^3$/ mL, a geometrijska srednja vrijednost BSS u mlijeku istraživanih koza bila je $501x10^3$/ mL (tablica 21). Navedene vrijednosti preduvjet su za donošenje znanstveno relevantnih zaključaka.

5.2. Hranidba kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka

Količina mlijeka i kemijski sastav primarno su određeni sastavom obroka i načinom hranidbe koza (Sanz Sampelayo i sur., 1999.; Schmidely i sur., 1999.; Bava i sur., 2001.). Mliječna mast, protein i urea tijekom laktacije značajno se mogu promijeniti ako se mijenja sastav obroka (Jenkins i McGuire, 2006.). Od svih sastojaka mlijeka promjenom obroka laktoza tijekom laktacije ostaje prilično ujednačena.

Dnevna količina mlijeka između skupina koza hranjenih krmnom smjesom koja je sadržavala 14% i 18% sirovih proteina (SP) bila je značajno ($p<0,001$) viša za skupinu koza hranjenih sa 18%. Tako je za skupinu koza hranjenih sa 4% više SP u KS dnevna količina mlijeka bila viša približno 1 kg (tablica 10). Povećanjem udjela proteina u krmnoj smjesi značajno se povećala i dnevna količina mlijeka, sa 2,93 kg u skupini koza hranjenih sa 14% proteina na 3,96 kg u koza hranjenih sa 18% proteina (tablica 10). Najmanja razlika u dnevnoj količini mlijeka (≈400 g) utvrđena je između koza skupina KS-14 i KS-16. Slične rezultate za povećanje dnevne količine mlijeka u koza povećanjem udjela SP u KS utvrdili su Meng i sur., (2016.).

Povećanjem udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi, značajno ($p<0,05$) se smanjivao udio suhe tvari u mlijeku. Dnevna količina proizvedenoga proteina, udjeli mliječne masti, proteina, kao i omjer M:P i M:K bili su značajno viši ($p<0,01$) u mlijeku koza hranjenih najnižim udjelom SP (14%). Međutim, za razliku od mliječne masti koja se povećanjem udjela SP u KS snizila, udio proteina u mlijeku nije se značajno promijenio. Ipak, značajno se povećava udio kazeina u mlijeku, a osobito u skupini koza hranjenih sa 16% SP u KS. Podatak za utvrđeno povećanje kazeina osobito je značajan za proizvodnju sira. Istovremeno, udio NPN nije se značajno mijenjao. Za usporedbu, Feldhofer i Vašarević, (1998.) navode kako hranidba krava proteinima sadržanim u kukuruznoj silaži, suncokretovoj sačmi, uljanoj repici, sušenom sijenu i sojinim ljuskama, uz proteine lako razgradive u buragu, povećava količinu proteina u mlijeku. Ako obrok obiluje krmnom smjesom, može doći do zakiseljavanja buragova sadržaja, slabije probavljivosti voluminozne hrane te manje sinteze mikrobnih proteina. Posljedično tome, mlijeko tih koza sadržava niži udio proteina (Babnik i sur., 2004.). Zbog toga udio proteina uz podatak za koncentraciju uree u mlijeku može općenito biti dobar pokazatelj izbalansiranosti obroka za mliječna grla. Za razliku od koza, u mliječnih krava dobro

opskrbljenih energijom i proteinima omjer M:P je poznat i u pravilu varira između 1,1 i 1,5 (Richardt, 2004.; Čejna i Chládek, 2005.). Nedostatak sirovih vlakana i energije u obroku potencijalni je uzrok M:P omjera nižeg od 1,1 a višeg od 1,5 što se eventualno može pripisati hranidbi krava obrokom s većim udjelom sirovih vlakana i manjim udjelom energije (Babnik i sur., 2004.; Čejna i Chládek, 2005.). Primjerice, povećanjem udjela škroba i šećera u obroku uz neograničen unos proteina, povećava se udio proteina, a snižava udio mliječne masti u mlijeku (Bargo i sur., 2003; Roche i sur., 2006). Stoga se u slučaju hranidbe krava krepkim krmivima na bazi cjelovitih žitarica omjer M:P općenito smanjuje. Suprotno tome, kada krave dobivaju fermentabilni vlaknasti koncentrat, omjer M:P se povećava (Higgs i sur., 2013.). Promjene u sastavu mlijeka i omjera M:P s promjenama u sastavu obroka, posljedica su nastanka produkata buraga fermentacijom pojedinih sastojaka hrane. Zbog toga, ako obrok obiluje škrobom u buragu nastaje više propionata, a konzumacijom vlakana formira se više acetata. Apsorpcijom propionata u krv povećava se razina inzulina koji stimulira mliječnu žlijezdu na sintezu proteina (Rius i sur., 2010.). Stoga se omjer M:P smanjuje hranidbom preživača krepkim krmivima na bazi cjelovitih žitarica. Kako je acetat prekursor za sintezu mliječne masti, hranidbom preživača obrokom na bazi vlakana povećat će se udio mliječne masti.

Urea je prirodni sastojak krvi i drugih tjelesnih tekućina kao što su mlijeko, slina, mokraća, želučani i crijevni sok. Nastaje u jetri kao konačni metabolit ranije mikrobne razgradnje proteina u buragu. Određivanje koncentracije uree u mlijeku koristi se za kontrolu hranidbe i dostatnosti proteinskog dijela obroka (Kampl i Stolla, 1995.). Nadalje, koncentracija uree u mlijeku može poslužiti i za praćenje izlučivanja dušika iz organizma. Naime, sintezom uree organizam nastoji ukloniti suvišan dušik. Utvrđena visoka korelacija između koncentracije uree u mlijeku i krvi dobar je pokazatelj učinkovitosti iskorištenja proteina iz obroka (Broderick i Clayton, 1997., Jonker i sur., 1998.; Nousiainen i sur., 2004.). Također, taj je podatak osobito značajan i za kontrolu izbalansiranog udjela proteina i energije u obroku životinja (Hristov i sur., 2011.; 2015.). Koncentracija uree u mlijeku znatno ovisi o sljedećim čimbenicima: udjelu SP u obroku, omjeru energije i proteina u obroku te omjeru razgradivih i nerazgradivih proteina u buragu (Marenjak i sur., 2004.; Bonanno i sur., 2008.). Visoka korelacija između koncentracije uree u mlijeku i krvi mliječnih krava (r= 0,84) temelj su za korištenje koncentracije uree u mlijeku u procjeni izlučivanja dušika i njegove učinkovitosti iskorištenja (Broderick i Clayton, 1997., Jonker i sur., 1998.; Nousiainen i sur., 2004.) kao i emisije amonijaka iz gnoja u tlo (Burgos i sur., 2010.; van Duinkerken i sur., 2011.; Powell i sur., 2014.). Također, taj je podatak osobito značajan za kontrolu udjela proteina u obroku životinja (Hristov i sur., 2011.; 2015.).

Međutim, smanjeni unos proteina hranom može rezultirati promjenama udjela pojedinačnih sastojaka mlijeka (Lee i sur., 2012.; Giallongo i sur., 2015.). Tako se hranidbom s višim udjelom SP u krmnoj smjesi značajno povisila i koncentracija uree u mlijeku. U sve tri skupine koza hranjenih sa 14%, 16% i 18% SP u KS utvrđena koncentracija uree bila je 35,01 mg/100 mL, 41,24 mg/100 mL, 48,11 mg/100 mL). Naime, niska koncentracija uree u mlijeku može nepovoljno utjecati na uvjete potrebne za rast mikroorganizama u buragu. Posljedično tome, probava je u buragu otežana, a sinteza mikrobnih proteina smanjena (Marenjak i sur., 2004.). Prema podacima iz literature, koncentracije uree u mlijeku niže od 20 mg/100 mL posljedično uzrokuju nisku koncentraciju amonijaka u buragu (Marenjak i sur., 2004.; Min i sur., 2005.; Laudadio i Trufarelli, 2010.). Posljedično tome stvaraju se nepovoljni uvjeti potrebni za rast mikroorganizama u buragu, a sinteza mikrobnih proteina je smanjena. Slično istraživanje, ali provedeno na sanskim kozama u Italiji gdje su koze hranjene sa 11,4% SP i 17,8% SP u obroku, utvrđena prosječna koncentracija uree u mlijeku bila je 42,12 mg/100 mL odnosno 49,61 mg/100 mL (Superchi i sur., 2007.). Istraživanjem o utjecaju udjela u buragu razgradivih i nerazgradivih proteina obroka, Laudadio i Tufarelli, (2010.) u kozjem mlijeku utvrdili su značajno višu koncentraciju uree u koza hranjenih obrokom sa 17,5% SP, ali s većim udjelom razgradivih proteina u buragu. Suprotno tome, u ekstenzivnom načinu držanja povećanje udjela sirovih proteina u dopunskom dijelu obroka nema utjecaj na povećanje koncentracije uree u mlijeku (Cabiddu i sur., 1999.; Bava i sur., 2001.; Todaro i sur., 2005.; Bonanno i sur., 2008.).

U predmetnom istraživanju utjecaja povećanog udjela SP u KS na svojstva zgrušavanja kozjeg mlijeka utvrđeni su visoki koeficijenti varijabilnosti (32,73–57,77%). Uzrok utvrđene visoke varijabilnosti ostao je ne objašnjen, odnosno ne može se pripisati niti jednom istraživanom pokazatelju. Najbolji formagrafski parametri (r, k_{20}, a_{30}) utvrđeni su za mlijeko skupine koza hranjenih sa 16% SP u KS. Prosječno vrijeme zgrušavanja bilo je 7,85 min, k_{20} 3,70 min i a_{30} 19,84 mm (tablica 30). Premda, nije utvrđena statistički značajna razlika niti za jedan istraživani pokazatelj. Sličnim istraživanjima Superchi i sur., (2007) povećanjem udjela SP u ST obroka sa 11,4% na 17,8% utvrdili su statistički značajnu razliku jedino za svojstvo zgrušavanja mlijeka (r). Za preradbena svojstva mlijeka u proizvodnji sira pH-vrijednost i udio kazeina u mlijeku smatraju se najznačajnijim pokazateljima. U tom je smislu važno istaknuti podatak da je udio SP u KS od 16% imao statistički značajan utjecaj na udio kazeina u mlijeku, ali ne i na njegovu pH-vrijednost (6,56).

5.3. Stadij laktacije kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka

Varijabilnost proizvodnje i kemijskog sastava kozjeg mlijeka rezultat je genetskih i okolišnih (negenetskih) čimbenika. Genetski utjecaj odnosi se na razlike u proizvodnji i kemijskom sastavu mlijeka između pojedinih pasmina, kao i između jedinki unutar iste pasmine. Važan dio navedene varijabilnosti pod znatnim je utjecajem negenetskih čimbenika, a stadij laktacije jedan je od najznačajnijih (Boayzoglu i Morand-Fehr, 2001.; Park i sur., 2007.).

Predmetnim istraživanjima utvrđen je statistički značajan utjecaj ($p<0,001$) stadija laktacije na sve analizirane pokazatelje proizvodnje i kvalitete kozjeg mlijeka (tablice 11, 17 i 25). Prosječna DKM u svih skupina koza očekivano se smanjivala prema kraju laktacije. Tako su koze u kasnom stadiju laktacije (od 181. dana do zasušenja) proizvele prosječno dnevno 2,67 kg mlijeka. Alpina koze postignule su vrh laktacijske proizvodnje 120. dana. U tom razdoblju prosječno su proizvele 4,27 kg mlijeka. Slične rezultate za vrh laktacijske proizvodnje za ostale pasmine koza između 120. i 150. dana utvrdili su i Kuchtík i Sedláčková, (2003.) i Strzałkowska i sur., (2009.).

Najviše vrijednosti suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina utvrđene su u mlijeku proizvedenom u kasnom stadiju laktacije (od 181. dana do zasušenja), a najniže u srednjem stadiju laktacije (od 91. do 180. dana). Rezultat je očekivan budući da su ti kemijski sastojci u obrnuto proporcionalnom odnosu s visinom dnevne proizvodnje mlijeka. Naime, u mliječnih koza, i to zbog sezonske poliestričnosti, viši je udio suhe tvari, mliječne masti i proteina u mlijeku uobičajen za rani i kasni stadij laktacije (Zeng i sur., 1997.; Guo i sur., 2001.; Fekadu i sur., 2005.; Soryal i sur., 2005.; Strzałkowska i sur., 2009.; Mestawet i sur., 2012.). Suprotno utvrđenim rezultatima ovog istraživanja u kozjem su mlijeku Aganga i sur., (2002.) utvrdili najviše udjele suhe tvari, proteina i kazeina u srednjem stadiju laktacije.

Udio laktoze u istraživanom razdoblju za alpina koze bio je najviši u ranom stadiju (do 90. dana), a najniži u kasnom stadiju laktacije (181. dana do zasušenja). Najviši udio laktoze u kozjem mlijeku u ranom stadiju, a najniži u kasnom stadiju laktacije utvrdili su i Prasad i sur., (2005.), Mioč i sur., (2008.), Vacca i sur., (2010.) i Mestawet i sur., (2012.). U usporedbi s ostalim istraživanim sastojcima mlijeka, laktoza čija je fiziološka funkcija

između ostalog i osmotskog regulatora između krvi i mlijeka u vimenu, očekivano je tijekom cijele laktacije ostala prilično ujednačena.

Omjer M:P uz koncentraciju uree u kozjem mlijeku pouzdan je pokazatelj i izbalansiranosti obroka mliječnih koza. Smanjenjem ili povećanjem proteinskog i/ili energetskog udjela u obroku taj se omjer u kozjem mlijeku može značajno promijeniti. Primjerice, nedostatan unos energije obrokom umanjuje učinkovitost mikroorganizama buraga za razgradnju biljnih i sintezu životinjskih proteina. Posljedično tome, sinteza proteina mlijeka se smanjuje. Nadalje, mobilizacijom i razgradnjom masnog tkiva povećava se sinteza neesterificiranih masnih kiselina u jetri, a posljedično tome smanjuje se i udio masti u mlijeku. Zbog te sinteze u mlijeku, povećava se udio mliječne masti, a smanjuje udio proteina u mlijeku te se omjer M:P mijenja (Zurek i sur., 1995.; Knop i Cernescu, 2009.). Uz navedeno, omjer M:P može biti i koristan pokazatelj u otkrivanju metaboličkih i drugih poremećaja te negativne energetske ravnoteže neposredno nakon partusa (Buttchereit i sur., 2012.). U tim slučajevima dolazi do trošenja tjelesnih pričuva masti i proteina, što u konačnici posljedično uzrokuje smanjenje proizvodnog kapaciteta životinje. Najviši omjer M:P u mlijeku alpina koza od 1,18 utvrđen je u ranom stadiju laktacije. U srednjem stadiju laktacije taj je omjer bio 1,11, a na kraju laktacije 1,07 (tablica 11). Slične rezultate za omjer M:P, ali za kravlje mlijeko navode Buttchereit i sur., (2010.).

Podataka iz literature o koncentracijama uree u kozjem mlijeku vezane na promjene kao posljedice hranidbe, stadija i redoslijeda laktacije i veličine legla relativno je malo. Većina podataka o koncentraciji uree u kozjem mlijeku vezana je na njezino praćenje kroz 30-dnevne intervale. Primjerice, Kuchtík i Sedláčková (2003.) u mlijeku lokalne češke pasmine koza, utvrdili su najvišu koncentraciju uree od 30,92 mg/100 mL 135. dana laktacije dok je 258. dana laktacije bila 19,16 mg/100 mL.

Utvrđena koncentracija uree u mlijeku alpina koza prema 30-dnevnom intervalu bila je izrazito varijabilna i nije slijedila laktacijsku krivulju. Tako je koncentracija uree bila između 18,59–48,55 mg/100 mL neovisno o dnevnoj količini mlijeka i udjelu sirovih proteina u krmnoj smjesi kojom su koze hranjene. Ovi rezultati suprotni su rezultatima drugih autora koji su utvrdili usku povezanost između koncentracije uree u kozjem mlijeku i laktacijske krivulje (Carlsson i sur., 1995.; Godden i sur., 2001b; Arunvipas i sur., 2003.; Wattiaux i sur., 2005.; Giaccone i sur., 2007.). Ipak, ovim istraživanjima utvrđene su najviše koncentracije uree u ljetnim mjesecima (41,94–48,55 mg/100 mL). Navedeno se može pripisati vjerojatnom utjecaju sezonske poliestričnosti koza koja se zapravo preklapa sa stadijem laktacije.

Oscilacije u koncentraciji uree u mlijeku utvrđene od svibnja do kolovoza mogu se pripisati AT metodi uzimanja uzoraka (naizmjenično uzorci mlijeka jutarnje i večernje mužnje). Naime, prema istraživanjima drugih autora (Miettinen i Juvonen, 1990.; Carlson i Bergstrom, 1994.; Broderick i Clayton, 1997.; Godden i sur., 2001b.; Geerts i sur., 2004.) koncentracija uree u mlijeku večernje mužnje značajno je viša u odnosu na mlijeko jutarnje mužnje. Objašnjenje je kraći vremenski interval između hranidbe i večernje mužnje.

Predmetnim istraživanjem utvrđen je statistički značajan ($p<0,001$) utjecaj stadija laktacije na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza. Koncentracija uree u mlijeku od 39,31 mg/100 mL utvrđena je u ranom (do 90. dana), od 45,72 mg/100 mL u srednjem (od 91. do 180. dana) i od 38,46 mg/100 mL u kasnom stadiju (od 181. do zasušenja) laktacije. Niža koncentracija uree u mlijeku u ranom, u usporedbi sa srednjim stadijem laktacije smatra se posljedicom smanjene mogućnosti konzumacije suhe tvari neposredno nakon partusa i u fazi naglog porasta mliječnosti (Moore i Varga, 1996.; Godden i sur., 2001b; Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Suprotno tim rezultatima, Pazzola i sur., (2011.) u mlijeku sardaških koza nisu utvrdili statički značajan utjecaj stadija laktacije na koncentraciju uree neovisno o dnevnoj količini mlijeka. Također, rezultati ovih istraživanja suprotni su i rezultatima Czarniawska-Zajec i sur., (2006.) koji su u zimskim mjesecima utvrdili značajno višu koncentraciju uree u mlijeku (45,43 mg/100 mL) u odnosu na ljetni period (38,53 mg/100 mL).

Od fizikalnih svojstava mlijeka alpina koza uspoređivani su pH-vrijednost, titracijska kiselost i točka ledišta tijekom laktacije. Stadij laktacije imao je statistički značajan ($p<0,05$) utjecaj na pH-vrijednost. Tako je u ranom stadiju pH-vrijednost bila 6,52, u srednjem 6,56, a u kasnom stadiju laktacije 6,53. Iako je utvrđena statistički značajna razlika, rezultat je očekivan budući da je pH-vrijednost najvećim djelom određena udjelom kazeina koji se tijekom laktacije u mlijeku mijenjao.

Prosječna titracijska kiselost (°SH) utvrđena tijekom laktacije bila je 6,24°SH u ranom, 6,60°SH u srednjem i 7,15°SH u kasnom stadiju laktacije. Utvrđena statistički značajna razlika SH-vrijednosti mlijeka fiziološka su posljedica tijeka laktacije. Naime, titracijska kiselost poput pH-vrijednosti primarno je određena pufernim kapacitetom mlijeka. Sve vrste mlijeka sadržavaju niz pufernih sustava, ali za dobar puferni kapacitet ključni su kazeini koji u njegovoj stabilnosti sudjeluju sa 35%, topljive soli sa 40%, koloidni kalcijev fosfat u sastavu kazeina sa 20%, a proteini sirutke sa tek 5% (Samaržija, 2015.). Primjerice, niža SH vrijednost svojstvena je životinjama višeg reda laktacije, a može biti i

posljedica upale vimena. Suprotno, u ovim istraživanjima utvrđena SH-vrijednost u kasnom stadiju laktacije izravno je vezana na više udjele kazeina u mlijeku u odnosu na rani i srednji stadij laktacije. Rezultati za utvrđenu SH-vrijednost prema stadijima laktacije u mlijeku alpina koza sukladni su rezultatima Antunac i sur., (2001b.).

Statistički značajna razlika zavisno o stadiju laktacije nije utvrđena za točku ledišta mlijeka alpina koza. Njezina prosječna vrijednost u ranom stadiju bila je -0,5536ºC, u srednjem -0,5496ºC te -0,5547ºC u kasnom stadiju laktacije. Ti rezultati mogu potvrditi da su koze tijekom cijeloga istraživanog razdoblja imale dobar zdravstveni status. Fiziološku točku ledišta mlijeka određuju samo laktoza i soli koje tijekom laktacije imaju prilično ujednačene vrijednosti. Laktoza i soli mlijeka glavne su komponente osmotske regulacije tlaka između krvi i tlaka u vimenu. Zbog toga su promjene točke ledišta dobar fiziološki pokazatelj poremetnje u sekreciji mlijeka ili upalnih procesa u vimenu. Međutim, potrebno je istaknuti da je fiziološka vrijednost točke ledišta određena i pasminom (Pappas i sur., 1994.; Antunac i sur., 2001b., Park i sur., 2007., Strzałkowska i sur., 2009.).

Od higijenskih pokazatelja tijekom laktacije u mlijeku alpina koza utvrđen je fiziološki broj somatskih stanica (BSS) i ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (UBB). Stadij laktacije imao je statistički značajan utjecaj ($p<0,001$) na fiziološki broj somatskih stanica. Tako je, u ranom stadiju utvrđeno $724x10^3$/mL, u srednjem $398x10^3$/mL i u kasnom $427x10^3$/mL. Zbog toga se može spekulirati da je fiziološki broj somatskih stanica, ako je riječ o zdravom vimenu alpina koza uvijek $\leq 800x10^3$/mL. Tim više što je u ovim istraživanjima fiziološki BSS praćen u mlijeku koza od 1.do 4. laktacije. Podatak je tim značajniji što se o fiziološkom BSS-u u kozjem mlijeku nedovoljno zna i ne postoje standardi koliki je on u mlijeku zdravog vimena (Rota i sur., 1993.; Wilson i sur., 1995.; Galina i sur., 1996.; Zeng i sur., 1997.; Leitner i sur. 2004.). U mlijeku alpina koza tijekom istraživačkog razdoblja UBB je bio niži od $110x10^3$/mL. Rezultat je očekivan, budući da su tijekom cijeloga istraživačkog razdoblja bili osigurani visoki higijenski standardi kao preduvjet da se bilo koja promjena pojedinačnog sastojka mlijeka ne može pripisati mikrobnom metabolizmu.

5.4. Redoslijed laktacije kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka

Redoslijed laktacije fiziološki je čimbenik izravno povezan s količinom i kemijskim sastavom kozjeg mlijeka (Mioč i Pavić, 2002.). Koze neovisno o pasmini u svom proizvodnom ciklusu najnižu dnevnu količinu mlijeka proizvode u 1. laktaciji (Zeng i Escobar, 1995.; Crepaldi i sur., 1999.; Avondo i Lutni, 2004.; Ciappesoni i sur., 2004.; Carnicella i sur., 2008.). Naime, s povećanjem dobi probavni sustav koza u potpunosti je razvijen te koze vrh laktacijske proizvodnje dosežu između 3. i 4. laktacije (Zeng i Escobar, 1995.; Crepaldi i sur., 1999.; Carnicella i sur., 2008.).

Prema podacima Hrvatske poljoprivredne agencije, alpina koze najvišu dnevnu količinu mlijeka proizvode u 3. laktaciji. Alpina koze obuhvaćene ovim istraživanjima u 1. laktaciji prosječno su proizvele 2,84 kg mlijeka, u 2. laktaciji 3,29 kg, u 3. laktaciji 3,41 kg, a u 4. laktaciji 3,68 kg mlijeka dnevno.

Redoslijed laktacije nije imao statistički značajan utjecaj jedino na ukupni protein te udjele kazeina i NPN-a. Istovremeno, redoslijed laktacije statistički je značajno ($p<0,001$) utjecao na udio mliječne masti, omjer M:P i koncentraciju uree u mlijeku. Prosječan udio mliječne masti u mlijeku alpina koza u 1. laktaciji bio je 3,43%, u 2. laktaciji 3,21%, u 3. laktaciji 3,09%, a u 4. laktaciji 3,01%. Slične rezultate utjecaja redoslijeda laktacije na udio mliječne masti i proteina neovisno o pasmini utvrdili su Zeng i Escobar, (1995.); Ciappesoni i sur., (2004.); Carnicella i sur., (2008.). Omjer M:P u mlijeku alpina koza u 1. laktaciji bio je 1,22, u 2. laktaciji 1,14, u 3. laktaciji 1,09 te u 4. laktaciji 1,08. Najveća promjena u koncentraciji uree utvrđena je između 1. laktacije (34,00 mg/100 mL) i 2. laktacije (41,31 mg/100 mL). Obrazloženje niže koncentracije uree u mlijeku u 1. laktaciji leži u činjenici da su koze u toj laktaciji još uvijek manjih proizvodnih mogućnosti. Također, niža koncentracija uree u mlijeku karakteristična je za sve muzne životinje, budući da one u 1. laktaciji učinkovitije iskorištavaju aminokiseline iz obroka za vlastiti rast i razvoj te manje uree sintetiziraju u jetri i izlučuju mlijekom (Oltner i sur., 1985.). Slične rezultate povezanosti redoslijeda laktacije i koncentracije uree u kozjem mlijeku navode Giaccone i sur., (2007.). Međutim, zanemariv je broj istraživanja utjecaja redoslijeda laktacije na koncentraciju uree u kozjem mlijeku. Uglavnom, sva se ta istraživanja provode za kravlje mlijeko. Rezultati tih istraživanja također potvrđuju najnižu koncentracija uree u mlijeku u 1. laktaciji (Ng-Kwai-Hang i sur., 1985.; Carlsson i sur., 1995.; Arunvipas i sur., 2003.; Wood i sur., 2003.; Hojman i sur., 2004.; Konjačić i sur., 2010.).

Redoslijed laktacije prirodno povećava fiziološki broj somatskih stanica (BSS) u mlijeku (Salama i sur., 2003.; Paape i sur., 2007.; Zeng i sur., 2008.). Istraživani utjecaj redoslijeda laktacije na fiziološki broj somatskih stanica u mlijeku alpina koza bio je statistički značajan ($p<0,001$). Tako je, u mlijeku koza 1. laktacije utvrđeni BSS bio $550x10^3$/mL, u 2. laktaciji $324x10^3$/mL, u 3. laktaciji $486x10^3$/mL, dok je u 4. laktaciji bio 575 $x10^3$/mL. Suprutno drugim autorima, ovim je istraživanjima utvrđen neočekivano velik BSS u 1. laktaciji za koji nije utvrđen uzrok. U usporedbi sa 2. i 3. laktacijom BSS povećan za gotovo $200x10^3$/mL u mlijeku 4. laktacije posljedica je učestalog i dugotrajnoga mehaničkog trošenja mliječne žlijezde, a osobito u intenzivnoj proizvodnji mlijeka (Boscos i sur., 1996.).

5.5. Veličina legla kao izvor varijabilnosti dnevne količine mlijeka, fizikalno-kemijskog sastava i higijenske kvalitete kozjeg mlijeka

Proizvodnja kao i kemijski sastav mlijeka mogu biti i pod utjecjem veličine legla, odnosno broja jaradi u leglu u mliječnih pasmina koza (Browning i sur., 1995.; Carnicella i sur., 2008.; Delgado-Pertínez i sur., 2009.).

Predmetnim istraživanjem nije utvrđen značajan utjecaj veličine legla na prosječnu dnevnu količinu mlijeka, premda su koze s troje jaradi u leglu dnevno proizvele 5,7% više mlijeka u odnosu na one s jednim jaretom (tablica 13). Objašnjenje tih rezultata leži u činjenici da se kozama s više jaradi u leglu pripisuje učestalije pražnjenje vimena (Wilde i sur., 1987.). Ipak, utjecaj veličine legla na proizvodnju i kemijski sastav kozjeg mlijeka nije u potpunosti razjašnjen, a osobito se to odnosi na koncentraciju uree u mlijeku. Primjerice, istraživanja o povezanosti koncentracije uree u kozjem mlijeku i veličine legla proveli su jedino Giaccone i sur., (2007.). U tim istraživanjima nije potvrđena povezanost između koncentracije uree u mlijeku i veličine legla. Prema navodima većine autora (Herrera Garcia i sur., 1985.; Crepaldi i sur., 1999.; Zumbo i sur., 2004.; Carnicella i sur., 2008.), koze s više jaradi u leglu u pravilu imaju dulju laktaciju i proizvode više mlijeka. Pojedini autori smatraju da razvoj mliječne žlijezde tijekom gravidnosti koza (zbog djelovanja placentalnog laktogena na daljnju diferencijaciju stanica sekrecijskog epitela vimena) ima pozitivan učinak na proizvodnju mlijeka u laktaciji (Hayden i sur., 1979. cit. Goetsch i sur., 2011.; Delgao-Pertínêz i sur., 2009.).

Tako su u ovim istraživanjima utvrđeni značajno ($p<0,01$) viši udjeli proteina, kazeina i koncentracije uree u mlijeku koza s troje jaradi u leglu. Istodobno, za udjele suhe tvari, mliječne masti, laktoze i NPN nije utvrđena statistički značajna razlika. Primjerice, razlike u udjelu proteina i kazeina u mlijeku koza s troje jaradi bila je 2,89% i 2,27%, a u mlijeku koza s jednim jaretom 2,74% i 2,16%. U mlijeku koza s troje jaradi u leglu utvrđena je značajno viša koncentracija uree u odnosu na koze s jednim jaretom (tablica 13). Utvrđena razlika u koncentraciji uree u mlijeku koza s jednim i troje jaradi u leglu bila je gotovo 6 mg/100 mL. Povrh toga, ovim je istraživanjima glavni cilj bio utvrditi i interakcije između pojedinih izvora varijabilnosti na koncentraciju uree u mlijeku alpina koza. Tako je u mlijeku koza s troje jaradi u leglu, a hranjenih krmnom smjesom sa 14% SP, koncentracija uree bila dvostruko viša u odnosu na one s jednim jaretom (slika 21). Viša koncentracija uree u mlijeku koza s troje jaradi može se pripisati činjenici da koze s troje jaradi tijekom gravidnosti moraju mobilizirati tjelesne pričuve zbog većih potreba za hranjivim tvarima (Ryan, 1990.). Kako bi nadoknadile potrošene rezerve, stoga one unose više hrane i posljedično tome iz organizma se izlučuje i više uree. Slična istraživanja povezanosti veličine legla i koncentracije uree, ali u ovčjem mlijeku, proveli su Brzostowski i sur., (1995.), El-Sheriff i Assad, (2001.) i Sobiech i sur., (2008.). I tim je istraživanjima utvrđena viša koncentracija uree u mlijeku ovaca s dvoje janjadi u odnosu na mlijeko ovaca s jednim janjetom u leglu.

Zbog činjenice da istovremeno sisanje više jaradi može biti uzrok mikrobne infekcije i posljedično tome povećanja broja somatskih stanica u mlijeku i taj je izvor varijabilnosti uzet u razmatranje. Predmetnim istraživanjem utvrđen je najviši broj somatskih stanica u mlijeku koza s troje jaradi u leglu iako razlika nije bila statistički značajna. Obrazloženje tih rezultata može se pripisati razvijenijem žljezdanom parenhimu vimena u koza s troje sisajuće jaradi i zbog toga višem fiziološkom broju somatskih stanica u mlijeku (Fuertes i sur., 1998.).

5.6. Povezanost koncentracije uree s proizvodnjom, fizikalno-kemijskim sastavom, higijenskom kvalitetom i svojstvima zgrušavanja kozjeg mlijeka

Koncentracija uree u kozjem mlijeku jedan je od dokaza izbalansiranosti obroka osobito koza namijenjenih proizvodnji mlijeka. Naime, učinkovitost proizvodnje mlijeka, preradbena svojstva mlijeka i reprodukcijske sposobnosti koza izravno su povezani s povoljnim odnosom proteina i energije u obroku koza. Primjerice, niska koncentracija uree u mlijeku pokazatelj je niskog sadržaja amonijaka u buragovu soku. Nedostatna količina amonijaka mijenja uvjete rasta mikrobne populacije buraga. Zbog toga su probavljivost organske tvari, konzumacija krme i sinteza mikrobnih proteina u buragu smanjeni.

Zanemarivo je malo rezultata povezanosti sastava obroka i koncentracije uree u mlijeku alpina koza zanemarivo je malo. Zbog toga su za ovo istraživanje uzorci mlijeka razvrstani u 6 razreda, i to prema utvrđenim koncentracijama uree različitih pasmina koza. U prvi razred svrstani su uzorci mlijeka s koncentracijom uree nižom od 30 mg/100 mL, u drugi od 30,01 do 35,00 mg/100 mL, u treći od 35,01 do 40,00 mg/100 mL, u četvrti od 40,01 do 45,00 mg/100 mL, u peti od 45,01 do 50,00 mg/100 mL i u šesti s višom od 50,00 mg/100 mL. U četvrtom razredu, gdje je koncentracija uree u mlijeku bila od 40,01 do 45,00 mg/100 mL utvrđeno je statistički značajno povećanje dnevne količine mlijeka i ukupnog proteina. Međutim, u relativnom postotku udjeli mliječne masti i proteina bili su statistički značajno niži u odnosu na ostale razrede (slika 33). Na temelju izračunate točke infleksije dnevne količine mlijeka i udjela proteina u mlijeku, velika je vjerojatnost da je optimalna koncentracija uree u mlijeku alpina koza između 40,00 i 45,00 mg/100 mL i ne viša od 45,00 mg/100 mL.

Kako je hipoteza istraživanja bila da se na osnovi koncentracije uree u mlijeku može utvrditi optimalna količina proteina u krmnoj smjesi za koze, testiranje hipoteze provjereno je podjelom uzoraka mlijeka u 6 razreda i 9 podrazreda. Podjela u 6 razreda temeljila se na koncentracijama uree u mlijeku. Podrazredi su određeni na temelju udjela proteina u mlijeku i udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi. Koze u čijem je mlijeku utvrđena koncentracija uree viša d 40,00 mg/100 mL u najvećem su postotku (24,9%) bile hranjenje krmnom smjesom sa 16% SP. Neznatno manje (19,92%) u onih hranjenih krmnom smjesom sa 18% SP. Drugim riječima, to znači da svako povećanje udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi veće od 16% nije imalo značajniji učinak na povećanje proizvodnje i kemijski sastav mlijeka. Povrh toga, koncentracija uree u mlijeku viša od 45

mg/100 mL povećava troškove proizvodnje kozjeg mlijeka, smanjuje plodnost i narušava metaboličke procese u organizmu. Fiziološki, ne izbalansirani obrok energijom i proteinima uzrok je disbalansa prirodne mikrobne populacije buraga. Naime, za optimalno funkcioniranje mikroorganizama u buragu potrebna je količina dušika koja osigurava najmanje gubitke amonijaka i potrebnu sintezu aminokiselina za pravilno funkcioniranje organizma. Međutim, za sintezu mikrobnog proteina u hranidbi koza, uz proteinski dio nužan je i energetski. Primjerice, prekomjerna količina proteina i/ili nedostatak energije u obroku koza uzrok je prekomjernog izlučivanja dušika mlijekom ili urinom, a dnevna se proizvodnja mlijeka ne povećava (Wright i sur., 1998.; Olmos Colmenero i Broderick, 2006.).

Za utvrđivanje optimalnog udjela sirovih proteina u obroku koza Bonanno i sur., (2008.) predložili su sljedeću jednadžbu: udio SP u ST obroka = 6,91 + 0,61 x koncentracija uree u mlijeku. Projekciju optimalnog udjela SP u obroku dobili su uvrštavanjem koncentracije uree u mlijeku od 28 do 32 mg/100 mL preporučene od Brun-Bellut i sur., (1991.). Tako je prema tim autorima optimalna količina sirovih proteina u obroku koza od 18 do 19%. Međutim, Rapetti i sur., (2009.) smatraju da je koncentracija uree u kozjem mlijeku viša od one koju su prihvatili Bonanno i sur., (2008.), zbog čega su i predložili relativno visok udio SP u obroku. Zbog toga što je stvarna koncentracija uree u kozjem mlijeku viša, isti autori smatraju da tako visoki udjeli proteina u obroku ne povećavaju proizvodni kapacitet. Dodatno ističu kako u tim slučajevima neminovno dolazi i do prekomjernog izlučivanja dušika iz organizma koji onečišćuje okoliš.

Predmetnim istraživanjima potvrđen je pozitivan koeficijent korelacije (r=0,50) između koncentracije uree u mlijeku i udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi. Ipak, neovisno o utvrđenom visokom koeficijentu korelacije predmetnim je istraživanjem udjelom sirovih proteina u krmnoj smjesi objašnjeno svega 25,09% ukupne varijance (r=0,2509) koncentracije uree u mlijeku (tablica 41). Istovremeno, nehranidbenim je čimbenicima objašnjeno 14,6% ukupne varijabilnosti koncentracije uree u mlijeku alpina koza. Međutim, na temelju rezultata Cannas i sur., (1998.) i Bonanno i sur., (2008.) koji su udjelom SP u obroku objasnili 56–65% ukupne varijance koncentracije uree u kozjem mlijeku, s velikom vjerojatnošću može se tvrditi da je ona u mlijeku ipak najviše određena udjelom sirovih proteina u obroku.

Između koncentracije uree u mlijeku i dnevne količine mlijeka (r=0,34) te količine proizvedenih proteina (r=0,30) utvrđen je značajan ($p<0,001$) pozitivan koeficijent korelacije, što potvrđuju i rezultati istraživanja provedenih na kozjem mlijeku (Todaro i

sur., 2005.; Bonanno i sur., 2008.), odnosno kravljem mlijeku (Arunvipas i sur., 2003.; Johnson i Young, 2003.; Rajala-Schultz i Saville, 2003.; Jílek i sur., 2006.).

Negativni koeficijenti korelacije ($p<0,001$) utvrđeni su između koncentracije uree u mlijeku i: udjela proteina (r= -0,25), kazeina (r= -0,18), NPN (r= -0,17) te mliječne masti (r= -0,13). Između udjela SP u krmnoj smjesi i udjela proteina u mlijeku utvrđena je relativno slaba negativna povezanost (r= -0,09; $p<0,05$). Ti su rezultati sukladni rezultatima Bava i sur., (2001.), ali nisu sukladni rezultatima Soryal i sur., (2004.). Naime, Soryal i sur., (2004.) navode pozitivan učinak krepkih krmiva na udio proteina i kazeina u mlijeku koza. Međutim, ti se podaci odnose na ekstenzivan način uzgoja koza hranidbom na paši.

Ovim istraživanjem utvrđeni su statistički značajni negativni koeficijenti korelacija između dnevne količine mlijeka i udjela proteina (r= -0,53) i kazeina (r= -0,52). Ti rezultati mogu se objasniti „učinkom razrjeđenja“ u kojem se udio proteina povećava smanjenjem proizvodnje mlijeka (Todaro i sur., 2005).

Od istraživanih fizikalnih svojstava mlijeka, značajne ($p<0,001$) promjene ovisno o koncentraciji uree u kozjem mlijeku utvrđene su jedino za točku ledišta. Tako je u mlijeku alpina koza s koncentracijom uree nižom od 30 mg/100 mL bila -0,5509°C, a -0,5592°C s koncentracijom uree višom od 50 mg/100 mL. Naime, snižavanje vrijednosti točke ledišta pri nižim koncentracijama uree u mlijeku povezano je sa slabijom metaboličkom iskoristivošću proteina iz hrane (Henno i sur., 2008.; Kedzierska-Matysek i sur., 2011.; Hanuš i sur., 2011.).

Odnos između koncentracije uree u mlijeku i svojstava zgrušavanja kozjeg mlijeka (r, k_{20} i a_{30}) bio je statistički značajan ($p<0,05$) jedino za brzinu formiranja gruša (k_{20}). Ipak, zbog neutvrđene fenotipske korelacije između brzine formiranja gruša (k_{20}) i koncentracije uree u mlijeku ne može se sa sigurnošću potvrditi njihova uzročno posljedična povezanost. Također, te rezultate teško je usporediti s rezultatima drugih autora budući da je navedeni utjecaj u kozjem mlijeku slabo istražen. Suprotno navedenom, utjecaj proteina, kazeina, titracijske kiselosti mlijeka, udjela kalcijevih iona, pH-vrijednost i BSS-a uključivo i koncentraciju uree na preradbena svojstva mlijeka u proizvodnji sira dobro su istražena i opisana (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986.; Martin i sur., 1997.; Pretto i sur., 2013.; Bland i sur., 2015.). Tako su primjerice meta-analizom Bland i sur., (2015.) utvrdili značajan utjecaj koncentracije uree u kravljem mlijeku na brzinu formiranja gruša (k_{20}) i čvrstoću gruša (a_{30}). Neovisno o koncentraciji uree u mlijeku utvrđena je značajna povezanost između vremena zgrušavanja i: pH- vrijednosti (r= 0,41), titracijske kiselosti

(r= -0,34), udjela proteina (r= 0,21) te BSS-a (r= 0,18). Na čvrstoću gruša najviše su utjecali: BSS (r= -0,32) i udio laktoze (r= 0,21). Ti su rezultati sukladni rezultatima Bland i sur., (2015.).

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata o utjecaju udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi, stadija i redoslijeda laktacije i veličine legla na dnevnu proizvodnju mlijeka, promjene fizikalnih svojstava, kemijskog sastava i preradbenih svojstava mlijeka alpina koza moguće je donijeti sljedeće zaključke:

1. Udjelom sirovih proteina u krmnoj smjesi od 14%, 16% i 18% objašnjeno je 25,09% ukupne varijance koncentracije uree u mlijeku alpina koza, a utjecajem stadija i redoslijeda laktacije i veličine legla 14,6%.

2. Optimalnom količinom sirovih proteina u krmnoj smjesi može se smatrati udio od 16% pri kojem je koncentracija uree u mlijeku prosječno 40 mg/100 mL neovisno o redoslijedu laktacije (1. - 4. laktacija).

3. Koncentracija uree između 40 i 45 mg/100 mL dobar je pokazatelj izbalansiranog obroka za alpina koze i uravnoteženih metaboličkih mikrobnih procesa u buragu, posljedično tome najmanja su odstupanja u dnevnoj količini, kemijskom sastavu i preradbenim svojstvima mlijeka.

4. Povećanje udjela sirovih proteina u krmnoj smjesi više od 16% povećava koncentraciju uree u mlijeku na više od 45 mg/100 mL, a nema učinak na povećanje dnevne količine i kemijski sastav mlijeka.

5. Koncentracija uree u mlijeku viša od 45 mg/100 mL povećava troškove proizvodnje kozjeg mlijeka, a velika je vjerojatnost da se smanjuje plodnost i narušavaju metabolički procesi u buragu.

6. Praktično, koncentracija uree između 40 i 45 mg/100 mL može se iskoristiti za dodatni kvalitativni pokazatelj u kontroli mliječnosti alpina koza, koja se radi uzgojno-selekcijskog programa sustavno provodi u Republici Hrvatskoj.

7. POPIS LITERATURE

Abdouli H., Rekik B., Haddad-Boubaker A. (2008). Non-nutritional factors associated with milk urea concentrations under Mediterranean conditions. *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (2): 183-188.

Aganga A.A., Amarteifio J.O., Nkile N. (2002). Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 533–543.

Albenzio M, Caroprese M., Marino R., Muscio A., Santillo A., Sevi A. (2006). Characteristics of Garganica goat milk and Cacioricotta cheese. *Small Ruminant Research* 64: 35-44.

Alichanidis E, Polychroniadou A 1995: Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. U: Production and utilization of ewe and goat milk. Proceedings of the IDF/Greek National Committee of IDF/CIRVAL Seminar, Crete, 21-43.

Aleandri R., Schneider J.C., Buttazzoni L.G. (1989). Evaluation of milk for cheese production based on milk characteristics and formagraph measures. *Journal of Dairy Science* 72: 1967–1975.

Ambrosoli R., DiStasio L., Mazzocco P. (1988). Content of alpha$_{s1}$-casein and coagulation properties in goat milk. *Journal of Dairy Science* 71: 24-28.

Anifantakis E.M., Kandarakis J.G. (1980). Contribution to the study of the composition of goat's milk. *Milchwissenschaft* 35: 617-619.

Antolić M., Prpić Z., Vnučec I., Jurković D., Mioč B. (2016). Laktacijske promjene proizvodnje i kakvoće mlijeka alpina koza. 51st Croatian and 11th International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia: 351-355.

Antunac N. (1994). Povezanost sastava i količine mlijeka s redoslijedom laktacije alpina i sanskih koza u velikim stadima. Sveučilište u Zagrebu – Agronomski fakultet. Disertacija. Zagreb.

Antunac N., Havranek J., Samaržija D. (1997a). Somatske stanice u kozjem mlijeku. *Mljekarstvo* 47: 123-134.

Antunac N., Lukač-Havranek J., Samaržija D. (1997b). Somatske stanice i njihov utjecaj na kakvoću i preradu mlijeka. *Mljekarstvo* 47 (3): 183-193.

Antunac N., Samaržija D. (2000). Proizvodnja, sastav i osobine kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* 50 (1): 53-66.

Antunac N., Havranek J., Samaržija D. (2001a). Effect of breed on chemical composition of goat milk. *Czech Journal of Animal Science* 6: 268–274.

Antunac N., Havranek J., Samaržija D. (2001b). Freezing point of goat's milk. *Milchwissenschaft* 56: 14-16.

Antunac N., Samaržija D., Havranek J., Pavić V., Mioč B. (2001c). Effect of stage and number of lactation on the chemical composition of goat milk. *Czech Journal of Animal Science* 12: 548-553.

Arunvipas P., Dohoo I.R., VanLeeuwen J.A., Keefe G.P. (2003). The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. *Preventive Veterinary Medicine* 59: 83-93.

Auldist M., Mullins C., O'Brien B., O'Kennedy B.T., Guinee T. (2002). Effect of cow breed on milk coagulation properties. *Milchwissenschaft* 57: 140−143.

Avondo M., Lutni L. (2004). Feed intake. U: Dairy sheep nutrition. Pulina G. (Ed.), CABI Publishing, Cambridge, 65-77.

Babnik D., Verbič J., Podgoršek P., Jeretina J., Perpar T., Logar B., Sadar M., Ivanovič B. (2004). Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči rezultatov mlečne kontrole, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana.

Bargo F., Muller L.D., Kolver E.S., Delahoy J.E. (2003). Invited Review: Production and digestion supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science* 86:1-42.

Barłowska J., Szwajkowska M., Litwinczuk Z., Król J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Food Science and Food Safety* 10: 291-302.

Bava L., Rapetti L., Crovetto G.M., Tamburini A., Sandrucci A., Galassi G., Succi G. (2001). Effects of a nonforage diet on milk production, energy, and nitrogen metabolism in dairy goats throughout lactation. *Journal of Dairy Science* 84: 2450-2459.

Bed S., Nagy Z., Seregi J. (1997). Milk urea and lactose as indicators of the protein and energy status in lactating ewes and goats. Sheep and Goat Production in Central and Eastern European Countries. Proceedings of the Workshop. Budapest, Hungary, 1-8.

Bhandari V., Singh H. (2003). Physical Methods. U: Roginski H. (eds.): Encyclopedia of Dairy Sciences. Four Volume Set. Academic Press, London, 93-101.

Bhosale S.S., Kahate P.A., Kamble K., Thakare V.M., Gubbawar S.G. (2009). Effect of lactation on physico-chemical properties of local goat milk. *Veterinary World* 2 (1): 17-19.

Bijgaart, van den H. (2002). New applications of mid-infrared spectroscopy for the analysis of milk and milk products. Bulletin of the IDF, 383, 5-15.

Biswajit R., Brahma B., Ghosh S., Pankaj P.K., Mandal G. (2011). Evaluation of Milk Urea Concentration as Useful Indicator for Dairy Herd Management: A Review. *Asia Journal of Animal and Veterinay Advances* 6 (1): 1-19.

Bland J.H., Grandison A.S., Fagan C.C. (2015). Evaluation of milk compositional variables on coagulation properties using partial least squares. *Journal of Dairy Research* 82: 8-14.

Bonanno A., Todaro M., Di Grigoli A., Scatassa M.L., Tornambè G., Alicata M.L. (2008). Relationships between dietary factors and milk urea nitrogen level in goats grazing herbaceous pasture. *Italian Journal of Animal Science* 7: 219-235.

Boscos C., Stefanakis A., Alexopoulos C., Samartzi F. (1996). Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter counter counts and California mastitis testin the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. *Small Ruminant Research* 21: 139–147.

Božanić R., Tratnik Lj., Drgalić I. (2002). Kozje mlijeko: karakteristike i mogućnosti. *Mljekarstvo* 52: 207-237.

Boyazoglu J., Morand-Fehr P. (2001). Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review. *Small Ruminant Research* 40: 1–11.

Broderick G.A., Clayton M.K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 80: 2964-2971.

Browning M.L., Sahlu T. (1995). Factors affecting standardized milk and fat yields in Alpine goats. *Small Ruminant Research* 18 (2): 173–178.

Brzostowski H., Milewski S., Wasilewska A., Tański Z. (1995). The influence of the reproductive cycle on levels of some metabolism indices in eves. *Archivum Veterinarium Polonicum* 35: 53-62.

Brun-Bellut J., Kelly J.M., Mathison G.W., Christopherson R.J. (1991). Effect of rumen degraded protein and lactation on nitrogen metabolism in dairy goats. *Canadian Journal of Animal Science* 71: 1111–1124.

Burgos S.A., Embertson N.M., Zhao Y., Mitloehner F.M., DePeters E.J., Fadel J.G. (2010). Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to ammonia emissions. *Journal of Dairy Science* 93: 2377–2386.

Butler W.R., Calaman J.J., Beam S.W. (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* 74: 858–865.

Butler W.R. (2005). Relationships of dietary protein and fertility. *Advances in Dairy Technology* 17: 159-168.

Buttchereit N., Stamer E., Junge W., Thaller G. (2010). Evaluation of five lactation curve models fitted for fat:protein ratio of milk and daily energy balance. *Journal of Dairy Science* 93(4): 1702-1712.

Buttchereit N., Stamer E., Junge W., Thaller G. (2012). Genetic parameters for energy balance, fat/protein ratio, body condition score and disease traits in German Holstein cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 129: 280−288.

Cabiddu A., Branca A., Decandia M., Pes A., Santucci P.M., Masoero F., Calamari L. (1999). Relationship between body condition score, metabolic profile, milk yield and milk composition in goats browsing a Mediterranean shrubland. *Livestock Production Science* 61: 267-273.

Campanile G., De Filppo C., Di Pal R., Taccone W., Zicarelli L. (1998): Influence of dietary protein on urea levels in blood and milk of buffalo cows. *Livestock Production Science* 55, 135-143.

Cannas A., Pes A., Mancuso R., Vodret B., Nudda A. (1998). Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 81: 499-508.

Carnicella D., Dario M., Ayres M.C.C., Laudadio V., Dario C. (2008). The effect of diet, parity, year and number of kids on milk yield and milk composition in Maltese goat. *Small Ruminant Research* 77: 71-74.

Carlsson J., Bergstrom J. (1994). The diurnal variation of urea in cow´s milk and how milk fat content, storage and preservation affects analysis by a flow injection technique. *Acta Veterinaria Scandinavica* 35(1): 67-77.

Carlsson J., Bergstrom J., Pehrson B. (1995). Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation, and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow milk. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36: 245-254.

Ciappesoni G., Přibyl J., Milerski M., Mareš V. (2004). Factors affecting goat milk yield and its composition. *Czech Journal of Animal Science* 49 (11): 465-473.

Clark S., Sherbon J.W. (2000). Alpha$_{s1}$-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research* 38: 123-134.

Contreras A., Sierra D., Corrales J.C., Sanchez A., Marco J. (1996). Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. *Small Ruminant Research* 21: 259-264.

Crepaldi P., Corti M., Ciconga M. (1999). Factors affecting milk production and prolificacy of Alpine goats in Lombardy (Italy). *Small Ruminant Research* 32: 83-88.

Czarniawska-Zając S., Brzostowski H., Zielazny M. (2006). Effect of the feeding period on the chemical composition and fatty acid profile of milk from french Alpine dairy goats. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 15/56: 51-55.

Čejna V., Chládek G. (2005). The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. *Journal of Central European Agriculture* 6 (4): 539-546.

Delgado-Pertínẽz M., Guzmán-Guerrero J.L., Caravacaa F.P., Castel J.M., Ruiz F.A., González-Redondo P., Alcalde M.J. (2009). Effect of artificial vs. natural rearing on milk yield, kid growth and cost in Payoya autochthonous dairy goats. *Small Ruminant Research* 84: 108-115.

De Marchi M., Dal Zotto R., Cassandro M., Bittante G. (2007). Milk coagulation ability of five dairy cattle breeds. *Journal of Dairy Science* 90: 3986-3992.

Di Grigoli A., Todaro M., Di Miceli G., Alicata M.L., Cascone G, Bonanno A. (2009). Milk production and physiological traits of ewes and goats housed indoor or grazing at different daily timing in summer. *Italian Journal of Animal Science* 8 (Suppl. 2): 616-618.

Doska M.C., da Silva D.F.F., Horst J.A., Altair Antônio Valloto A.A., Rossi Junior P., de Almeida R. (2012). Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. *Revista Brasiliera de Zootecnica* 41 (3): 692-697.

Duffield T.F. (2004). Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, 2004.

Dulin A.M., Paape M.J., Wergin W.P. (1982). Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. *Journal of food protection* 45(5): 435-439.

Elrod C.C., Butler W.R. (1993). Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science* 71(3): 694-701.

El-Sherif M.M.A., Assad F. (2001). Changes in some blood constituents of Barki ewes during pregnancy and lactation under semi arid conditions. *Small Ruminant Resarch* 40: 269-277.

Fekadu B., Soryal K., Zeng S., Hekken D.V., Bah B., Villaquiran M. (2005). Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheeses. *Small Ruminant Research* 59: 55–63.

Feldhofer S. (1997): Hranidba goveda. Hrvatsko mljekarsko društvo, Zagreb.

Feldhofer S., Vašarević G. (1998). Suha tvar i bjelančevine mlijeka s obzirom na pasminsku pripadnost i hranidbu krava. *Mljekarstvo* 48: 131-143.

Flamant J.C., Morand-Fehr P. (1982). Milk production in sheep and goats. U: I.E. Coop (Editor), Sheep and Goat Production. Elsevier, Amsterdam, 275-295.

Fox P.F., Mcsweeney P.L.H. (1998). Dairy Chemistry and Biochemistry. Thomson Science, London, 443-447.

Frand X., Froidmont E., Barthiaux-Thill N., Decruyenaere V., Van Reusel A, Fabry L. (2003). Utilization of milk urea concentration as a tool to evaluate dairy herd management. *Animal Research* 52: 543–551.

Friggens N.C., Rasmussen M.D. (2001). Milk quality assessment in automatic milking systems: Accounting for the effects of variable intervals between milkings on milk composition. *Livestock Production Science* 73: 45-54.

Fuertes J.A., Gonzalo C., Carriedo J.A., San Primitivo F. (1998). Parameters of test day milk yield and milk components for dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 81: 1300-1307.

Galina M.A., Morales R., Lopez B., Carmona M.A. (1996). Effect of somatic cell count on lactation and soft cheese yield by dairy goats. *Small Ruminant Research* 21: 251–257.

Galina M.A., Osnaya F., Cuchillo H.M., Haenlein G.F.W. (2007). Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats. *Small Ruminant Research* 71: 264–272.

Garefa H.M., Blanco F., Macarra B.J., Subires J. (1985). Lactation curve and milk composition of Malaga goats. *Journal of Dairy Science* 81(6): 1492-1507.

Geerts N.E., De Brabander D.L., Vanacker J.M., De Boever J.L., Botterman S.M. (2004). Milk urea concentration as affected by complete diet feeding and protein balance in the rumen of dairy cattle. *Livestock Production Science* 85: 263-273.

Genzebu D., Tesfay G. (2015). The role of bacteria in nitrogen metabolism in the rumen with emphasis of cattle. *Research Journal of Agriculture and Environmental Management* 4(7): 282-290.

Giaccone P., Todaro M., Scatassa M.L. (2007). Factors associated with milk urea concentrations in Girgentana goats. *Italian Journal of Animal Science* 6 (suppl. 1): 622-624.

Giallongo F., Hristov A.N., Oh J., Frederick T., Weeks H., Werner J., Lapierre H., Patton R.A., Gehman A., Parys C. (2015). Effects of slow-release urea and rumen-protected methionine and histidine on performance of dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. *Journal of Dairy Science* 98: 3292–3308.

Godden S.M., Kelton D.F., Lissemore K.D., Walton J.S., Leslie K.E., Lumsden, J.H. (2001a). Milk urea testing as a tool to monitor reproductive performance in Ontario dairy herds. *Journal of Dairy Science* 84 (1): 1397-1426.

Godden S.M., Lissemore K.D., Kelton D, F., Leslie K.E., Walton J.S., Lumsden J.H. (2001b). Factors associatted with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84: 107-114.

Goetsch A.L., Zeng S.S., Gipson T.A. (2011). Factors affecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research* 101: 55-63.

Gomes V., Melville Paiva Della Libera A.M., Paiva M., Madureira K.M., Araujo W.P. (2006). Effect of the stage of lactation on somatic cell counts in healthy goats (Caprae hircus) breed in Brazil. *Small Ruminant Research* 64: 30-34.

Gonzalo C., Ariznabarreta A., Carriedo J.A., San Primitivo F. (2002). Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 85: 1460–1467.

Gonzalo C., Carriedo J.A., Blanco M.A., Beneitez E., Juárez M.T., De La Fuente L.F., San Primitivo F. (2005). Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 88: 969–974.

Grbeša D., Grbeša S., Homen B. (2005). Hranidba mliječnih koza. *Krmiva* 47: 25-51.

Guinee T.P., Mulholland E.O., O'Brien B., Murphy J.J. (2001). Effect of diet quality on the suitability of mid-lactation bovine milk for cheddar cheese manufacture. *The Australian Journal of Dairy Technology* 56: 3−8.

Guo M.R., Dixon P.H., Park Y.W., Gilmore J.A., Kindstedt P.S. (2001). Seasonal changes in the chemical composition of commingled goat milk. *Journal of Dairy Science* 84: 79-83.

Guo M. (2003). Goat's milk. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Academic Press, London, UK,. 2944-2949.

Guo M., Park Y.W., Dixon P.H., Gilmore J.A., Kindstedt P.S. (2004). Relationship between the yield of cheese (Chevre) and chemical composition of goat milk. *Small Ruminant Research* (1/2): 103-107.

Gustafsson A.H., Carlson J. (1993). Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. *Livestock Production Science* 37: 91-105.

Haenlein G.F.W. (1993). Producing quality goat milk. *International Journal of Animal Science* 8: 79-84.

Haenlein G.F.W. (1996). Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. Production and Utilization of Ewe and Goat Milk. International Dairy Federation, Brussels, 159-178.

Haenlein G.F.W. (2004). Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research* 51: 154-163.

Haenlein G.F.W., Wendorff W. (2006). Sheep milk. U Y.W.Park i Haenlein G.F.W. (Eds.), Handbook of milk of non-bovine mammals str 137-194. Oxford, UK: Blackwell Publishing Professional.

Hanuš O., Zhang Y., Bjelka M., Kučera J., Roubal P., Jedelská R. (2011). Chosen biotic factors influencing raw cow milk freezing point. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 59: 65-82.

Havranek J., Kalit S., Antunac N., Samaržija D. (2014). Osnovni tehnološki postupci u proizvodnji sira. Sirarstvo. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb 63-106.

Henderson G., Cox F., Ganesh S., Jonker A., Young W., Janssen P.H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports* 5, 14567.

Henno M., Ots M., Jõudu I., Kaart T., Kärt O. (2008). Factors affecting the freezing point stability of milk from individual cows. *International Dairy Journal* 18: 210-215.

Herbert S., Riaublanc A., Bouchet B., Gallant D.J., Dufour E. (1999). Fluorescence spectroscopy investigation of acid- or rennetinduced coagulation of milk. *Journal of Dairy Science* 82 (10): 2056-2062

Herrera Garcia M., Pena Blanca F., Aparicio Macarro J.B., Subires Antunez J. (1985). Lactation curve and milk composition of Malaga goats. *Malagnenas Avances en Alimentacion y Mejora Animal* 26 (4): 119-129.

Higgs R.J., Sheahan A.J., Mandok K., Van Amburgh M.E., Roche J.R. (2013). The effect of starch-, fiber, or sugar- based supplements on nitrogen utilization in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96: 3857-3866.

Hinckley L.S. (1990). Revision of the somatic cell count standard for goat milk. *Dairy food environmental* 10: 548-549.

Hojman D., Gips M., Ezra E. (2004). Relationships between milk urea production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science* 87: 1001-1011.

Hoxha M., Mara V. (2012). Impact of physical-chemical properties on milk coagulation ability for some albanian breeds of cow, sheep and goat. *International Journal of Latest Research in Science and Technology* 1 (3): 234-238.

HPA (2017). Godišnje izvješće za 2016.g. U: Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje, Zagreb. Hrvatska poljoprivredna agencija, Zagreb.

Hristov A.N., Hanigan M., Cole A., Todd R., McAllister T.A., Ndegwa P.M., Rotz A. (2011). Ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots: A review. *Canadian Journal of Animal Science* 91: 1–35.

Hristov A.N., Heyler K., Schurman E., Griswold K., Topper P., Hile M., Ishler V., Wheeler E., Dinh S. (2015). Reducing dietary protein decreased the ammonia emitting potential of manure from commercial dairy farms. *The Professional Animal Scientist* 31: 68–79.

HRN EN ISO (2001). Stočna hrana – Određivanje udjela sirovih vlakana – Metoda s intermedijarnom filtracijom. Metoda modificirana prema uputama FOS Fiber Cap manual. Broj 6865. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2007). Mlijeko – Brojanje somatskih stanica - 2. dio: Uputa za rad fluor-opto-elektroničkim brojačima. Broj 13366-3. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2007). Mlijeko – Brojanje somatskih stanica - 2. dio: Uputa za rad fluor-opto-elektroničkim brojačima. Broj 13366-3/isp.1. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2008). Mlijeko – Određivanje sadržaja uree – Enzimska metoda primjenom diferencijalne pH-metrije (Referentna metoda). Broj 14637. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2010). Mlijeko –Određivanje točke ledišta – termistorsko krioskopska metoda. (Referentna metoda). Broj 5764. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2010). Hrana za životinje – Određivanje količine dušika i izračunavanje količine sirovih proteina – 2.dio: Razaranje u bloku/metoda destilacije parom. Broj 5983-2. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2014). Mlijeko – Određivanje sadržaja dušika -1. Dio: Kjeldahlovo načelo i izračunavanje sirovih proteina. Broj 8968-1. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN EN ISO (2016). Mlijeko i mliječni proizvodi – Određivanje sadržaja dušika -4. dio: Određivanje sadržaja proteinskog i neproteinskog dušika i izračunavanje stvarnog sadržaja proteina (referentna metoda). Broj 8968-4. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN ISO (2001). Punomasno mlijeko – Određivanje udjela mliječne masti, bjelančevina i laktoze – Uputstva za rad mid-infrared instrumenata. Broj 9622. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN ISO (2001). Stočna hrana – Određivanje vode i udjela drugih hlapljivih tvari. Broj 6496. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN ISO (2001). Stočna hrana – Određivanje udjela masti. Metoda modificirana prema uputama sustava za ekstrakciju ANKOM XT 15. Broj 6492. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN ISO (2004). Stočna hrana – Određivanje pepela. Broj 5984. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

Hrvatska poljoprivredna agencija (2017). Godišnje izvješće za ovčarstvo i kozarstvo za 2016. godinu.

HRN ISO (2010). Određivanje udjela kazeina – metoda blok digestije (Direktna metoda). Broj 17997-2. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HSC (2004). Kontrola mliječnosti ovaca AT metodom. U: Procedure i postupci u provedbi kontrole proizvodnih svojstava domaćih životinja. Hrvatski stočarski centar, Zagreb 125-128.

Huntington G.B., Archibeque S.L. (1999). Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, 1-7.

ICAR Recording Guidelines (2016) International agreement of recording practices. International Committee for Animal Recording.

Ikonen T., Morri S., Tyrisevä A.M., Ruottinen O., Ojala M. (2004). Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and pH of milk. *Journal of Dairy Science* 87: 458-467.

Ikuta K., Sasakura K., Nishimori K., Hankanga C., Okada K., Yasuda J. (2005). Effects of supplement feeding order on lactation, diurnal variation of ruminal ammonia and urea in the blood and milk of dairy cows. *Animal Science Journal* 76: 29-36.

ISO (2004). Milk - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method and anchor method results. No. 21187. International Standard Organization. Geneva, Switzerland.

Jandal J.M. (1996). Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 22: 177–185.

Janštová B., Dračková M., Navrátilová P., Hadra L., Vorlová L. (2007). Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech Journal of Animal Science* 52: 394-398.

Jelinek P., Gajdusek S., Hampls A. (1996). Correlations between the somatis cell count and the composition and properties of goat milk. U: Somatic cells and milk of small ruminant. Proceedings of an International Symposium, Bella, Italy, EAAP, Publication 70, 291-293.

Jen J.J., Ashworth U.S. (1970). Factors infuencing the curd tension of rennet coagulated milk. Salt balance. *Journal of Dairy Science* 53: 1201-1206.

Jenkins T.C., McGuire M.A. (2006). Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science* 89: 1302–1310.

Jenness R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1986–1979. *Journal of Dairy Science* 63: 1605–1630.

Jílek F., Řehák D., Volek J., Štípková M., Němcová E., Fiedlerová R., Rajmon R., Švestková D. (2006). Effect of herd, stage of lactation and milk yield on urea concentration in milk. *Czech Journal of Animal Science* 51 (12): 510-517.

Johnson R.G., Young A.J. (2003). The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in western commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 86:3008–3015.

Jonker J.S., Kohn R.A., Erdman R.A. (1998). Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81: 2681-2692.

Jooyandeh H., Aberoumand A. (2010). Physicochemical, nutritional, heat treatments effects and dairy products aspects of goats and sheep milks. *World Applied Science Journal* 11 (11): 1322- 1376.

Juárez M., Ramos M. (1986). Physico-chemical characteristics of goat's milk as distinct from those of cow's milk. *Bulletin of the International Dairy Federation* 202: 175–187.

Kalit S., Lukač–Havranek J. (1998). Current status of somatic cell count (SCC) in the milk from individual farm in Croatia. *Milchwissenshaft* 53 (4): 183-184.

Kampl B., Stolla R. (1995). Pokazatelji energetskog deficita mliječnih krava u mlijeku i njihovo korištenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije. *Praxis Veterinaria* 42 (3): 189-197.

Kedzierska-Matysek M., Litwinczuk Z., Florek M., Barlowska J. (2011). The effects of breed and other factors on the compositionand freezing point of cow's milk in Poland. *International Journal of Dairy Technology* 64: 336-342.

Kedzierska-Matysek M., Barlowska J., Litwinczuk Z., Koperska N. (2013). Content of macro- and microelements in goat milk in relation to the lactation stage and region of production. *Journal of Elementology* 1: 107-114.

Keskin M., Avsar Y.K., Bicer O. (2004). A Comparative Study on the milk yield and milk composition of two different goat genotypes under the climate of the eastern mediterranean. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 28: 531-536.

Kim H.R., Jung J.Y., Cho I.Y., Yu D.H., Shin S.S., Son C.H, Ok K.S., Hur T.Y., Jung Y.H., Choi C.Y., Suh G.H. (2013). Seasonal variation of goat milk composition and somatic cell count in Jennam province. *Korean Journal of Veterinary Service* 36: 263-272.

Knop R., Cernescu H. (2009). Effects of negative energy balance on reproduction in dairy cows. Faculty of Veterinary Medicine Timisoara, Calea Aradului 119.

Kohn R. (2007). Use of milk blood urea nitrogen to identify feed management inefficiencies and estimate nitrogen excretion by dairy cattle and other animals. Florida Ruminant Nutrition Symposium, January 30-31. Best Western Gateway Grand, Gainesville, Florida.

Kondyli E., Svarnas C., Samelis J., Katsiari M.C. (2012). Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research* 103: 194-199.

Korolczuk J., Maubois J.L. (1988). Effect of pH, calcium concentration and temperature on the evolution of the refractometric signal produced during rennet coagulation of milk. *Journal of Dairy Research* 55: 81-88.

Králíčková Š., Kuchtík J., Filipčík R., Lužová T., Šustová K. (2013). Effect of chosen factors on milk yield, basic composition and somatic cell count of organic milk of brown short-haired goats. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 61 (12): 99-105.

Kuchtík J., Sedláčková H. (2003). Composition and properties of milk in White Short-haired goats on the third lactation. *Czech Journal od Animal Science* 48 (12): 540-550.

Laudadio V., Tufarelli V. (2010). Effects of pelleted total mixed rations with different rumen degradable protein on milk yield and composition of Jonica dairy goat. *Small Ruminant Research* 90: 47-52.

Lee S.S., Ha J.K., Cheng K.J. (2000). Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to in vitro degradation of orchard grass cell walls and their interactions. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3807-3813.

Lee C., Hristov A.N., Cassidy T.W., Heyler K.S., Lapierre H., Varga G.A., de Veth M.J., Patton R.A., Parys C. (2012). Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed metabolizable protein-deficient diet. *Journal of Dairy Science* 95: 6042–6056.

Leitner G., Merin U., Silanikove N., Ezra E., Chaffer M., Gollop N., Winkler M., Glickman A., Saran A. (2004). Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goat's milk. *Journal of Dairy Research* 71: 311–315.

Li X., Luo J., Zhu J.J. (2013). Effect of different energy and protein levels in diets on lactation performance of Xinong dairy goat. *Journal of Domestic Animal Ecology* 34: 30-35.

Lucey J., Kelly J. (1994). Cheese yield. *International Journal of Dairy Technology* 47: 1–14.

Macheboeuf D., Coulon J-B., D`Hour P. (1993). Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cow's milk coagulation properties. *Journal of Dairy Research* 60: 43−54.

Marenjak T., Poljičak-Milas N., Stojević Z. (2004). Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku. *Praxis veterinaria* 52 (3): 233-241.

Marenjak T.S., Poljičak-Milas N. (2007). Seasonal variations in raw milk quality and milk production on small-holder dairy farms in Croatia. *Milchwissenschaft* 62: 273-275.

Marenjak T.S., Poljičak-Milas N., Piršlin J., Beer LJubić B., Milinković Tur S. (2009). Oxidative stability and quality of raw Saanen and Alpine goats milk. *Archiv Tierzucht* 52 (6): 637-646.

Marshall R.J., Hatfield D.S., Green M.L. (1982). Assessment of two instruments for continuous measurement of the curd-firming of renneted milk. *Journal of Dairy Research* 49: 127-135.

Martin B., Chamba J.F., Coulon J.B., Perreard E. (1997). Effect of milk chemical composition and clotting characteristics on chemical and sensory properties of Reblochon de Savoie cheese. *Journal of Dairy Research* 64: 157–162.

Martini M., Mele, M., Scolozzi, C., Salari, F. (2008). Cheese making aptitude and the chemical and nutritional characteristics of milk from Massese ewes. *Italian Journal of Animal Science* 7: 419-437.

Marziali A.S., Ng-Kwai-Hang K.F. (1986). Effects of milk composition and genetic polymorphisms on coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science* 69: 1793-1798.

Mayer H.K., Fiechter G. (2012a). Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria–seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science and Technology* 92: 167-177.

Mayer H.K., Fiechter G. (2012b). Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. *International Dairy Journal* 24: 57-63.

Mellado M., Valdez, R., Lara, L.M., García, J.E. (2004). Risk factors involved in conception, abortion, and kidding rates of goats under extensive conditions. *Small Ruminant Research* 55: 191-198.

Melendez P., Donovan A., Hernandez J. (2000). Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 83 (3): 459-463.

Memiši N., Stanišić N. (2014). Influence of different growing conditions on production, milk composition and body condition score for alpina goat breed. *Biotechnology in Animal Husbandry* 30 (4): 635-646.

Meng F., Yuan C., Yu Z. (2016). Effects of dietary protein level on milk production performance and serum biochemical indicators of dairy goat. *Advances in Dairy Research* 4: 159.

Mestawet T.A., Girma A., Ådnøy T., Devold T.G., Narvhus J.A., Vegarud G.E. (2012). Milk production, composition and variation at different lactation stages of four goat breeds in Etiopia. *Small Ruminant Research* 105: 176–181.

Miettinen P.V.A., Juvonen R.O. (1990). Diurnal Variations of Serum and Milk Urea Levels in Dairy Cows. *Acta Agriculturae Scandinavica* 40 (3): 289-296.

Min B.R., Hart S.P., Sahlu T., Satter L.D. (2005). The effect of diets on milk production and composition, and on lacatation curves in pastured dairy goats. *Journal of Dairy Science* 88: 2604-2615.

Mioč B., Pavić V. (1993). Značaj koncentrata u hranidbi mliječnih pasmina koza. *Krmiva* 35 (5): 237-241.

Mioč B., Pavić V. (2002). Kozarstvo. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Mioč B., Prpić Z., Vnučec I., Barać Z., Sušić V., Samaržija D., Pavić V. (2008). Factors affecting goat milk yield and composition. *Mljekarstvo* 54 (4): 305-313.

Mitin V. (1974). Fiziologija I dio. Opća fiziologija, krv i tjelesne tekućine. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Moller S., Mattew C., Wilson G.F. (1993). Pasture protein and soluble carbohydrate levels in spring dairy pasture and associations with cow performance. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 54: 83-86.

Moore D.A., Varga G. (1996). BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. *Compendium Continuing Education Practice Veterinary* 18: 712-720.

Morgan F., Massouras T., Barbosa M, Roseiro L., Ravasco F., Kandarakis I., Bonnin V., Fistakoris M., Anifantakis E., Jaubert G., Raynal-Ljutovac K. (2003). Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small Ruminant Research* 47: 39–49.

National Mastitis Council (1999). Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. NMC Inc., Madison, WI.

Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley J.E., Monardes H.G. (1985). Percentages of protein and nonprotein nitrogen with varying fat and somatic cells in bovine milk. *Journal of Dairy Science* 68:1257-1262.

Ng-Kwai-Hang K.F., Politis I., Cue R.I., Marziali A.S. (1989). Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 22: 291–294.

Nielsen N.I., Larsen T., Bjerring M., Ingvartsen K.L. (2005). Quarter health, milking interval, and sampling time during milking affect the concentration of milk constituents. *Journal of Dairy Science* 88: 3186-3200.

Nourozi M., Moussavi A.H., Abazari M., Zadeh M.R. (2010). Milk Urea Nitrogen and Fertility in Dairy Farms. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9: 1519-1525.

Nousiainen J., Schingfield K.J., Huhtanen P. (2004). Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *Journal of Dairy Science* 87: 386-398.

NRC (2007). Nutrient requirements of small ruminant, sheep, goats, cervids, and new world camelids. Committee on Animal Nutrition. National Research Council, 271-299.

O'Callaghan D.J., O'Donnell C.P., Payne F.A. (2000). On-line sensing techniques for coagulum setting in renneted milks. *Journal of Food Engineering* 43 (3): 155-165.

Okigbo L.M., Richardson G.H., Brown R.J., Ernstrom C.A. (1985). Variation in coagulation properties of milk from individual cows. *Journal of Dairy Science* 68: 822-828.

Olmos Colmenero J.J., Broderick, G.A. (2006). Effect of amount and ruminal degradability of soybean meal protein on performance of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89: 1635-1643.

Ostersen S., Foldager J., Hermansen J.E. (1997). Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research* 64: 207−219.

Paape M.J., Wiggans G.R., Bannerman D.D., Thomas D.L., Sanders A.H., Contreras A., Moroni P, Miller R.H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research* 68: 114-125.

Pappas C.P, Voutsinas L.R, Kondyli E. (1994). Determination of added water in sheep milk by measurement's of the freezing point and acidity. *Milchwissenschaft* 49 (6): 309-312.

Park Y.W., Humphrey R.D. (1986). Bacterial cell counts in goat milk and their relationships with somatic cell counts, percent fat, protein. *Journal od Dairy Science* 69 (1): 32-37.

Park Y.W. (1994). Nutrient and mineral composition of commercial US goat milk yogurts. *Small Ruminant Research* 13: 63-70.

Park Y.W., Júarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68: 88–113.

Park Y.W. (2010). Goat milk: Composition, characteristics. U: *Encyclopedia of Animal Science, Second edition*. CRC Press.

Pazzola M., Dettori M.L., Carcangiu V., Luridiana S., Mura M.C., Vacca G.M. (2011). Relationship between milk urea, blood plasma urea and body condition score in primiparous browsing goats with different milk yield level*. Archiv Tierzucht* 54 (5): 546-556.

Politis I., Ng-Kwai-Hang K.F. (1988). Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk. *Journal of Dairy Science* 71: 1740-1746.

Powell J.M., Rotz C.A., Wattiaux M.A. (2014). Potential use of milk urea nitrogen to abate atmospheric nitrogen emissions from Wisconsin dairy farms. J*ournal of Environmental Quality* 43: 1169–1175.

Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017). Narodne novine. Broj 27 od 24. ožujka.

Pretto D., De Marchi M., Penasa M., Cassandro M. (2013). Effect of milk composition and coagulation traits on Grana Padano cheese yield under field conditions. *Journal of Dairy Research* 80: 1–5.

Prpić Z., M. Konjačić M., I. Vnučec I., Ramljak J., A. Ivanković A. (2005). Nehranidbeni čimbenici sadržaja ureje u mlijeku. *Stočarstvo* 59: 173-187.

Pryce J.E., Royal M.D., Garnsorty M.D., Mao I.L. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 86 (1): 125-135.

Puangdee S., Duangjinda M., Boonkum W., Buaban S., Katawatin S. (2016). Effect of milk fat to protein ratio on genetic variance for milk yield in Thai tropical Holstein cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 96: 410-415.

Pytel R., Šustová K., Kumbár V., Nedomová Š. (2016). A comparison of the determination of the rennet coagulation properties of bovine milk. *Potravinarstvo* 10 (1): 366-371.

Pulina G., Bencini R. (2004). Dairy sheep nutrition. CAB International, Camridge, USA.

Rajala-Schultz P.J., Frazer G.S. (2001). Reproductive performance in Ohio dairy herds in 1990s. *Animal Reproduction Science* 76 (3-4): 127-142.

Rajala-Schultz P.J., Saville W.J.A. (2003). Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science* 86: 1653-1661.

Rapetti L., Bruni G., Zanatta G., Colombini S. (2009). The milk urea content in dairy goat farms of Lombardy. *Italian Journal of Animal Science* 8 (suppl. 2): 356-356.

Rapetti L., Colombini S., Galassi G, Crovetto G.M., Malagutti L. (2014). Relationship between milk urea level, protein feeding and urinary nitrogen excretion in high producing dairy goats. *Small Ruminant Research* 121: 96-100.

Raynal-Ljutovac K., Lagriffoul G., Paccard P., Guillet I., Chilliard Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Ruminant Research* 79: 57–72.

Remeuf F., Lenoir J. (1986). Relationship between the physico-chemical characteristics of goat's milk and its rennetability. International Dairy Federation Bulletin 202: 68.

Richardt W. (2004). Milk composition as an indicator of nutrition and health. *The Breeding*, 26-27.

Rius A.G., McGilliard M.L., Umberger C.A., Hanigan M.D. (2010). Interaction of energy and predicted metabolizable protein in determining nitrogen efficiency in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science* 93: 2034–2043.

Roche J.R., Lee J.M., Aspin P.W., Sheahan A.J., Burke C.R., Kolver E.S., Sugar B., Napper A.R. (2006). Supplementation with concentrates either prepartum or postpartum does not affect milk production when diets are iso-energetic. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 66: 416-422.

Roseler D.K., Ferguson J.D., Sniffen C.J., Herrema J. (1993). Dietary protein degradability Effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 76: 525-534.

Rota A.M., Gonzalo C., Rodriguez P.L., Rojas A.I., Martin L., Tovar J.J. (1993). Effects of stage of lactation and parity on somatic cell counts in milk of Verata goats and algebraic models of their lactation curves. *Small Ruminant Research* 12: 211–219.

RU 4.2-1-FA-2 (2013). Određivanje titracijske kiselosti mlijeka Soxhlet-Henkel metodom. Radna uputa Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb.

RU 4.2-1-FA-3 (2015). Određivanje pH vrijednosti mlijeka i mliječnih proizvoda ionometrijskom metodom (pH metar MultiSeven, Mettler-Toledo). Radna uputa Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb.

Ryan W.J. (1990). Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutrition Abstracts and Reviews*. Series B, 60(9): 653-664.

Sahoo B., Walli T.K. (2008). Effect of feeding undegradable protein with energy on nutrient utilization, milk yield and milk composition of crossbred goats. *Small Ruminant Research* 75: 36-42.

Salama A.A.K., Such X., Caja G., Rovai M., Casals R., Albanell E., Marin M.P., Marti A. (2003). Effects of once versus twice daily milking throughout lactation on milk yield and milk composition in dairy goats. *Journal of Dairy Science* 86: 1673-1680.

Salari F., Altomonte I., Riberio N.L., Riberio M.N., Bozzi R., Martini M. (2016). Effects of season on the quality of Garfagnina goat milk. *Italian Journal of Animal Science* 15 (4): 568-575.

Samaržija D. (2015). Tehnologija proizvodnje fermentiranih mlijeka. Fermentirana mlijeka. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb 122-205.

Sanz Sampelayo M.R., Perez M.L., Gil Extremera F., Boza J.J., Boza J. (1999). Use of different dietary protein sources for lactating goats: Milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. *Journal of Dairy Science* 82: 555-565.

SAS (2015). SAS Studio University Edition, release: 3.4.

Schaar J. (1984). Effects of k-casein genetic variants and lactation number on the renneting properties of individual milks. *Journal of Dairy Research* 51 (3) 397-406.

Schepers A.J., Meijer R.G.M. (1998). Evaluation of the utilization od dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. *Journal of Dairy Science* 81: 579-584.

Schmidely P., Lloret-Pujol M., Bas P., Rouzeau A., Sauvant D. (1999). Influence of feed intake and source of dietry carbohydrate on milk yield and composition, nitrogen balance, and plasma constituents of lactating goats. *Journal of Dairy Science* 82: 747-755.

Sobiech P., Milewski S., Zduńczyk S. (2008). Yield and composition of milk and blood biochemical components of ewes nursing a single lamb or twins. Bulletin of the Veterinary Institut in Pulawy 52: 591-596.

Soryal K., Beyene F.A., Zeng S., Bah B., Tesfai K. (2005). Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. *Small Ruminant Research* 58: 275–281.

Storry J.E., Grandison A.S., Millard D., Owen A.J., Ford G.D. (1983). Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. *Journal of Dairy Research* 50: 215-229.

Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Horbańczuk J.O. (2009). Chemical composition, physical traits and fatty acid profile of goat milk as related to the stage of lactation. *Animal Science Papers and Reports* 27 (4): 311-320.

Superchi P., Summer A., Sabbioni A., Malacarne M., Franceschi P., Mariani P. (2007). Feeding management and production factors affecting goat milk composition and quality. I. Titratable acidity and rennet coagulation. U: Advanced nutrition and feeding strategies to improve sheep and goat. *Options Méditerranéennes Series A* 74: 219-225.

Sylvester J.T., Karnati S.K., Yu Z., Newbold C.J., Firkins J.L. (2005). Evaluation of a real-time PCR assay quantifying the ruminal pool size and duodenal flow of protozoal nitrogen. *Journal of Dairy Science* 88: 2083-2095.

Symonds H.W., Mather D.L., Collis K.A. (1981). The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolize ammonia. *British Journal of Nutrition* 46: 481–486.

Todaro M., Scatassa M.L., Giaccone P. (2005). Multivariate factor analysis of Girgentana goat milk composition. *Italian Journal of Animal Science* 4: 403-410.

Trancoso I.M., Trancoso M.A., Martins A.P.L., Roseiro L.B. (2010). Chemical composition and mineral content of goat milk from four indigenous Portuguese breeds in relation to one foreign breed. *International Journal of Dairy Technology* 63: 516–522.

Tratnik Lj., Božanić R. (2012). Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Tyrisevä A.M., Vahlsten T., Ruottinen O., Ojala M. (2004). Noncoagulation of milk in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herd on milk coagulation ability. *Journal of Dairy Science* 87: 3958−3966.

Vacca G.M., Dettori M.L., Carcangiu V., Rocchigiani A.M., Pazzola M. (2010). Relationships between milk characteristic and somatic cell score in milk from primiparous browsing goats. *Animal Science Journal* 81: 594–599.

van Duinkerken G., Smits M.C.J., André G., Šebek L.B.J., Dijkstra J. (2011). Milk urea concentration as an indicator of ammonia emission from dairy cow barn under restricted grazing. *Journal of Dairy Science* 94: 321–335.

Vissoh D., Gbangbochethe A.B., padonou S. (2015). Alpine goat's milk production and cheese yield in Benine. *International Journal of Current Research* 7 (11): 22108-22112.

Voutsinas L., Christophoros Pappas C., Katsiari M. (1990). The composition of Alpine goats' milk during lactation in Greece. *Journal of Dairy Research* 57 (1): 41-51.

Wattiaux M.A., Nordheim E.V., Crump P. (2005). Statistical evaluation of factors and interactions affecting dairy herd improvement milk urea nitrogen in commercial midwest dairy herds. *Journal of Dairy Science* 88: 3020-3035.

WHO (2005). WHO air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: Global update 2005, Summary of risk assessment, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Wilde C.J., Henderson A.J., Knight C.H., Blatchford D.R., Faulkner A., Vernon R.G. (1987). Effects of longterm thrice-daily milking on mammary enzyme activity, cell population and milk yield in the goat. *Journal of Animal Science* 64: 533-539.

Wilson D.J., Stewart K.N., Sears P.M. (1995). Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Ruminant Research* 16, 165-169.

Wittwer F.G., Gallardo P., Reyes J., Optiz H. (1999). Bulk milk urea concentrations and their relationship with cow fertility in grazing dairy herds in southern Chile. *Journal of Dairy Science* 38: 159-166.

Wolfschoon-Pombo A., Klostermeyer H. (1981). The NPN-fraction of cow milk. I. Amount and composition. *Milchwissenschaft* 36:598.

Wood G.M., Boettcher P.J., Jambrozik J., Jansen G.B., Kelton D.F. (2003). Estimation of genetic parameters for concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 86: 2462-2469.

Young A. (2001). Milk Urea Nitrogen Test (MUN). Archived USU Extension Publications. https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1034&context=extension_histall Pristupljeno dana 12/03/2018

Zeng S.S., Escobar E.N. (1995). Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Ruminant Research* 17: 269–274.

Zeng S.S., Escobar E.N., Popham T. (1997). Daily variations in somatic cell count, composition, and production of Alpine goat milk. *Small Ruminant Research* 26: 253-260.

Zeng S.S., Zhang L., Wiggans G.R., Clay J., LaCroix R., Wang J.Z., Gipson T. (2008). Current status of composition and somatic cell count in milk of goats enrolled in Dairy Herd Improvement Program in the United States. New Research on Livestock Science and Dairy Farming. Nova Science Publishers. Hauppauge, NY, USA, 129–144.

Zumbo A., Chiofalo B., Liotta L., Rundo Sotera A., Chiofalo V. (2004). Quantitative and qualitative milk characteristics of Nebrodi goats. *South African Journal of Animal Science* 34 (suppl.1): 155-157.

Zurek E., Foxcroft G.R., Kennelly J.J. (1995). Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78 (9): 1909-1920.

Žan M., Stibilj V., Rogelj I. (2006). Milk fatty acid composition of goats grazing on alpine pasture. *Small Ruminant Research* 64: 45-52.

8. ŽIVOTOPIS

Darija Bendelja Ljoljić rođena je 04.08.1985. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i opću gimnaziju. Diplomirala je 23.10.2009. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu obranom diplomskog naslova „Koncentracija uree u ovčjem i kravljem mlijeku“. Godine 2010. upisuje Poslijediplomski doktorski studij „Poljoprivredne znanosti“ te se zapošljava kao znanstveni novak u Zavodu za mljekarstvo. U proteklom razdoblju rada na Agronomskom fakultetu sudjeluje u izvođenju laboratorijskih i terenskih vježbi na jednom predmetu na preddiplomskom studiju (Mlijeko i mliječni proizvodi), te na dva predmeta na diplomskom studiju (Kemija i fizika mlijeka i Senzorno ocjenjivanje mlijeka i mliječnih proizvoda). Tijekom diplomskog studija nagrađena je Rektorovom nagradom za rad naslova „Karakterizacija i istraživanje kvalitete mlijeka u proizvodnji krčkog sira“ i Dekanovom nagradom za rad „Koncentracija uree u ovčjem mlijeku“. Dobitnica je jednokratne novčane potpore za dosadašnji trud i poticaj u daljnjem studiranju, na temelju prijave na natječaj Zaklade Agronomskog fakulteta. Od 2007. godine članica je Hrvatske mljekarske udruge. Bila je suradnica na međunarodnom FP7 projektu SEE-ERA.NET Plus Joint Call *Characterisation and tracking the origin of specific features of traditional cheeses in Western Balkans Region*, te jednom znanstvenom projektu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa „Elementi ekološke proizvodnje i analitičke metode za dokazivanje izvornosti sira“ i jednom VIP projektu „Unaprjeđenje tehnologije proizvodnje kozjeg mlijeka utvrđivanjem fiziološke granice koncentracije uree“ (2014.-2015.). Kao autorica ili koautorica objavila je 9 radova iz skupine a1 koji su navedeni u bazi *Web of knowledge*, 2 rada iz skupine a3, te sudjelovala na 5 znanstvenih skupova u Hrvatskoj i inozemstvu usmenim priopćenjima i poster prezentacijama.

Popis objavljenih znanstvenih radova:

Znanstveni radovi iz skupine a1:

1. Bendelja Ljoljić D., Antunac N., Mašek T., Kostelić A., Pintar J. (2016). Utjecaj sadržaja sirovih bjelančevina u obroku na količinu i sastav mlijeka alpina koza. *Mljekarstvo* 66 (2): 129-137.
2. Brezovečki A., Čagalj M., Filipović Dermit Z., Mikulec N., Bendelja Ljoljić, D., Antunac N. (2015). Camel Milk and Milk Products. *Mljekarstvo* 65 (2): 81-90.
3. Leskovec, P., Bendelja Ljoljić D., Benić M., Kostelić A., Cvetnić Ž., Antunac N. (2015). Osjetljivost izdvojenih uzročnika mastitisa prema antimikrobnim tvarima. *Mljekarstvo* 65 (3): 149-158.
4. Brezovečki A., Čagalj M., Antunac N., Mikulec N., Bendelja Ljoljić D. (2014). Proizvodnja, sastav i svojstva kobiljeg mlijeka. *Mljekarstvo* 64 (4): 217-227.
5. Filipović Dermit Z., Mikulec N., Bendelja Ljoljić D., Antunac N. (2014). Terapijska i zdravstvena svojstva kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* 64 (4): 280-286.

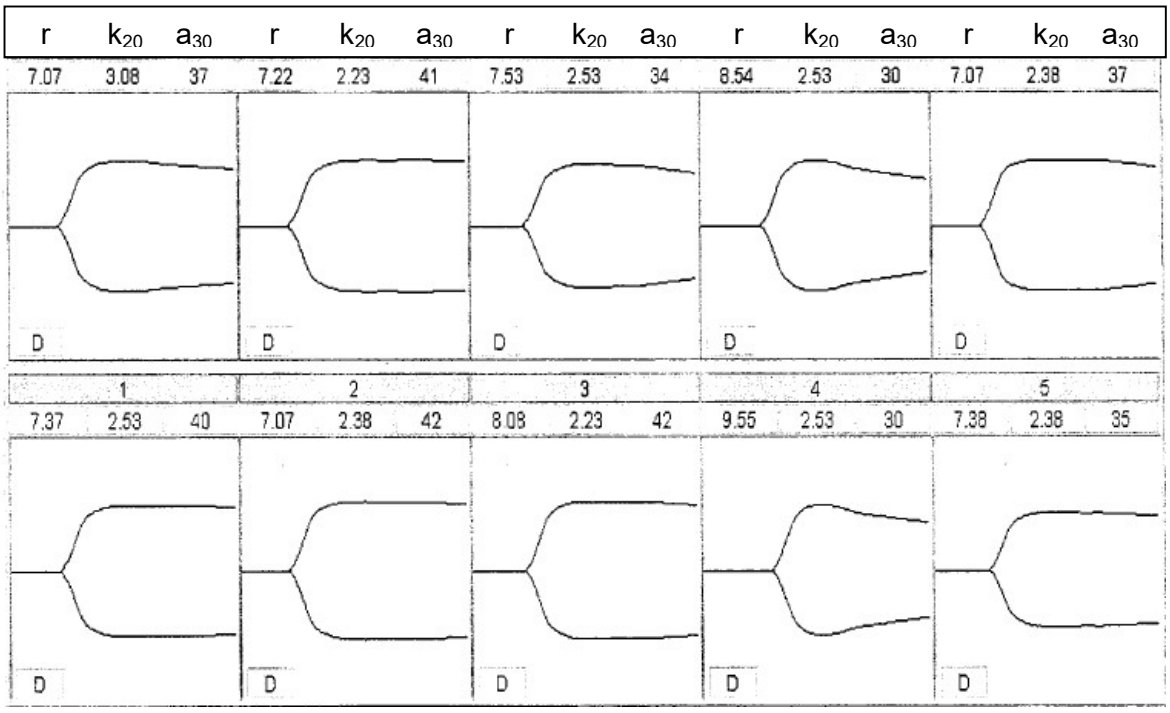
6. Antunac N., Samaržija D., Mioč B., Pecina M., Bendelja Ljoljić D., Barać Z. (2011). Utjecaj paragenetskih čimbenika na proizvodnju i kemijski sastav mlijeka paških ovaca. *Mljekarstvo* 61 (3): 226-233.
7. Bendelja D., Prpić Z., Mikulec N., Ivkić Z., Havranek J., Antunac, N. (2011). Milk urea concentration in Holstein and Simmental cows. *Mljekarstvo* 61 (1): 45-55.
8. Bendelja D., Antunac N., Mikulec N., Vnučec I., Mašek T., Mikulec Ž., Havranek J. (2009). Urea concentration in sheep' s milk. *Mljekarstvo* 59 (1): 3-10.
9. Antunac N., Mikulec N., Bendelja D., Prpić Z., Barać Z. (2008). Karakterizacija i istraživanje kvalitete mlijeka u proizvodnji krčkog sira. *Mljekarstvo* 58 (3): 203-222.

Znanstveni radovi iz skupine a3:

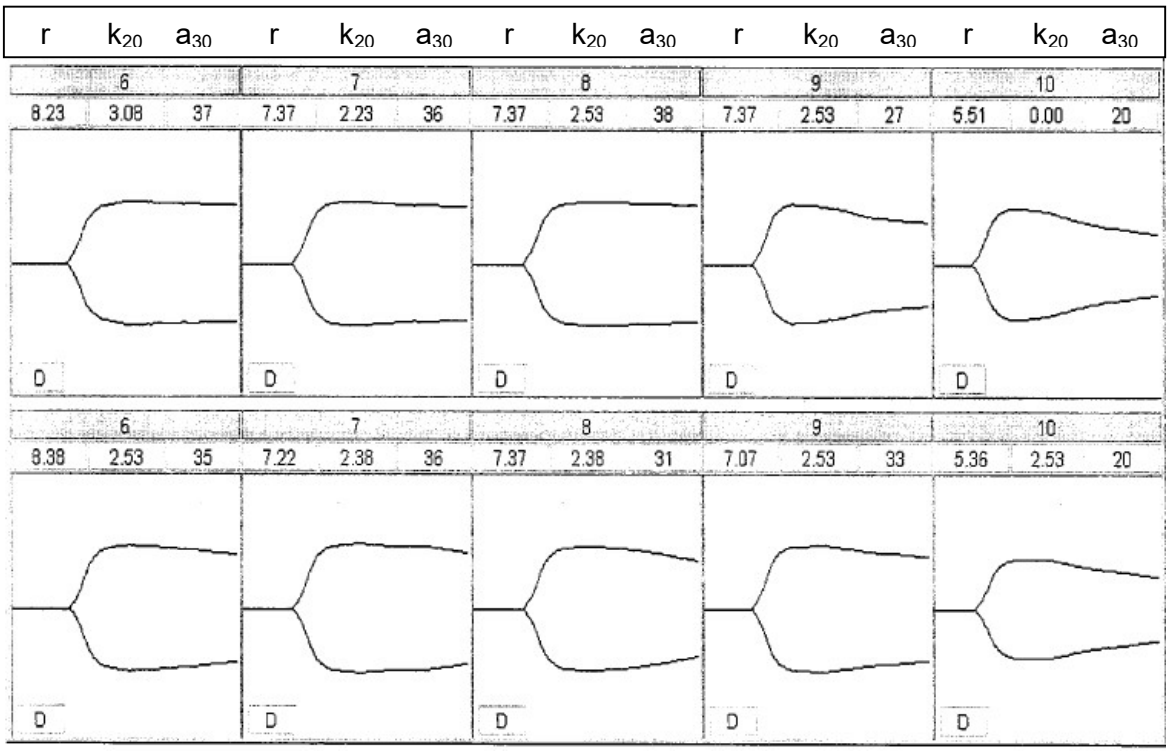
1. Bendelja Ljoljić D., Antunac N., Mašek T., Prpić Z., Kostelić Antun. (2016). Sezonske promjene koncentracije ureje u mlijeku alpina koza. 51. hrvatski i 11. međunarodni simpozij agronoma, Opatija, Hrvatska, 311-315.
2. Bendelja Ljoljić D., Antunac N., Mikulec N. (2014). Promjena koncentracije ureje u mlijeku ovisno o načinu konzerviranja i vremenu pohrane. 49. hrvatski i 9. međunarodni simpozij agronoma, Dubrovnik, Hrvatska, 542-545.

9. PRILOZI

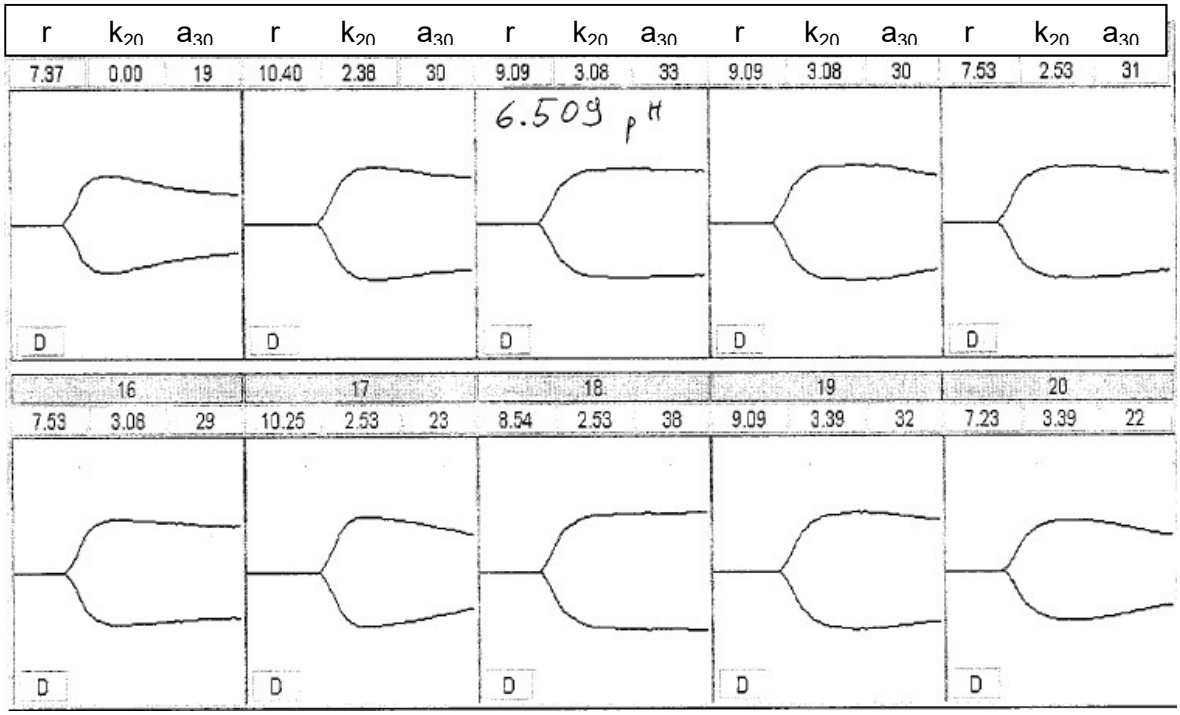
9.1. Formagrafski dijagrami skupnih uzoraka kozjeg mlijeka



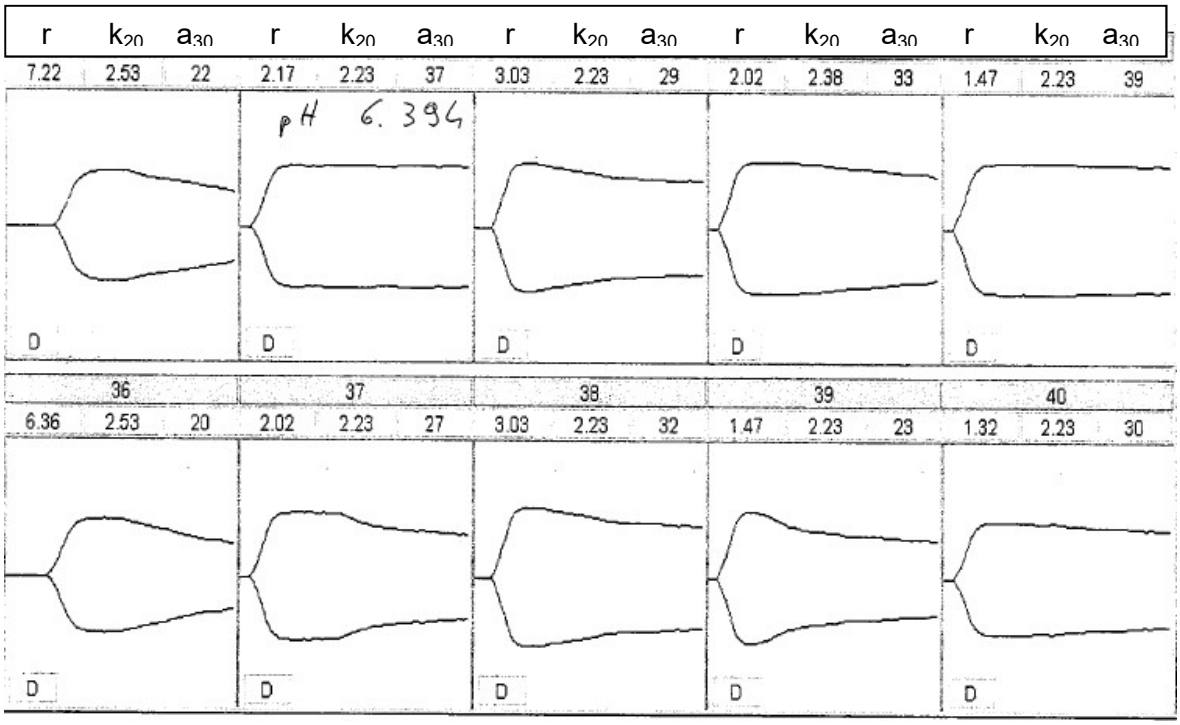
Slika P 1. Formagrafski dijagram uzoraka kozjeg mlijeka



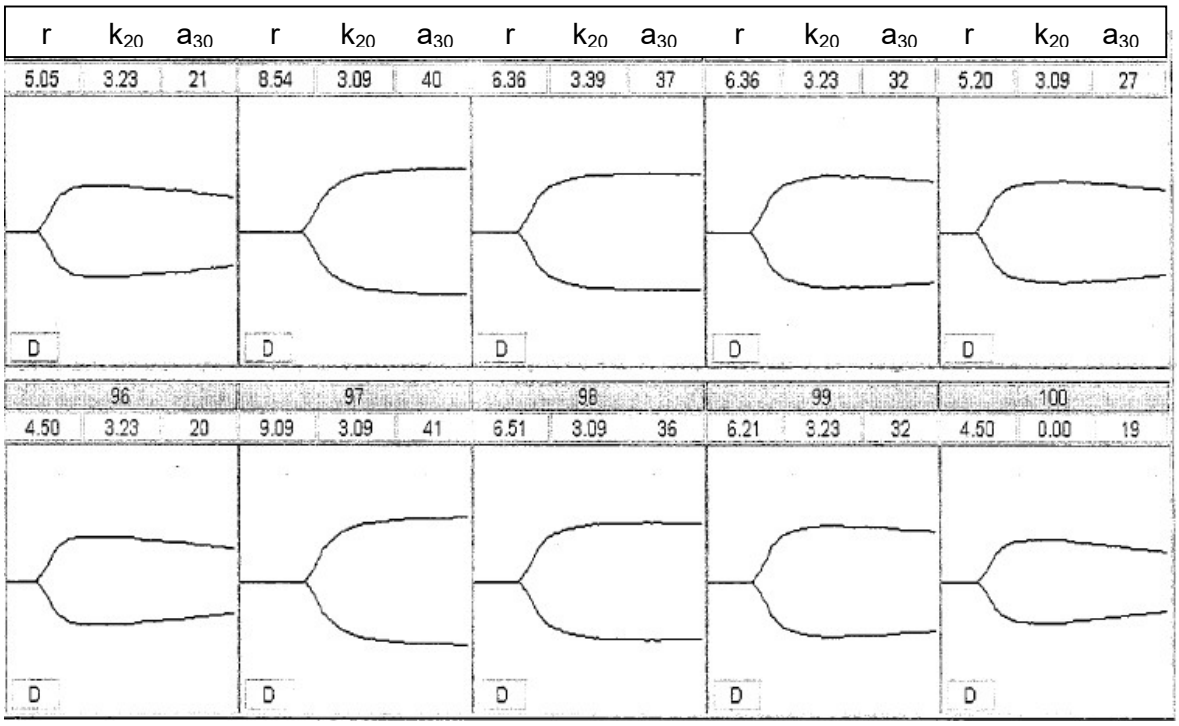
Slika P 2. Formagrafski dijagram uzoraka kozjeg mlijeka



Slika P 3. Formagrafski dijagram uzoraka kozjeg mlijeka



Slika P 4. Formagrafski dijagram uzoraka kozjeg mlijeka



Slika P 5. Formagrafski dijagram uzoraka kozjeg mlijeka