

Važnost dokazivanja prisutnosti antibiotičkih ostataka u mlijeku

Dubravka Samaržija, Neven Antunac

Stručni rad – Professional paper

UDK: 637.058

Sažetak

Antibiotički ostatci najčešće su prisutne inhibitorne tvari u mlijeku koje nepovoljno djeluju na ljudsko zdravlje, tehnološka svojstva i kakvoću mlijeka i mliječnih proizvoda. Zbog zaštite potrošača i osiguranja proizvodnje visoko kvalitetnog mlijeka Europska unija (EU) je propisom 2377/90. utvrdila gornju dopuštenu granicu za antibiotičke ostatke u mlijeku. Premda ostatci antibiotika u mlijeku mogu biti posljedica liječenja od bilo koje bolesti, oni su kod muznih životinja najčešće prisutni u mlijeku nakon liječenja upale vimena.

Cilj ovog rada bio je upozoriti na obvezu sustavne kontrole prisutnosti antibiotičkih ostataka u mlijeku budući da su mlijeko i mliječni proizvodi značajni u prehrani ljudi. U radu su opisane različite skupine antibiotika, mehanizam njihova djelovanja, pogreške koje nastaju u proizvodnji mliječnih proizvoda i metode za njihovo dokazivanje.

Ključne riječi: mlijeko, antibiotički ostatci, metode, testovi

Uvod

Mlijeko i mliječni proizvodi su izuzetno važne namirnice u prehrani ljudi zbog prehrambenih i terapijskih svojstava. Međutim, prisutnost antibiotičkih ostataka u mlijeku i mliječnim proizvodima bitno umanjuje njihovu kvalitetu. Upala mliječne žlijezde koju u 95% slučajeva uzrokuju bakterije najčešća je bolest muznih životinja u suvremenoj intenzivnoj proizvodnji mlijeka. Zbog toga je i primjena antibiotika u liječenju životinja vrlo česta. Nakon što je liječenje vimena završeno, antibiotici se još određeno vrijeme zadržavaju u vimenu i izlučuju mlijekom (Havranek i Rupić, 1996.). Antibiotici i antibiotički ostatci u mlijeku uvjetuju rezistentnost ljudskog organizma, preosjetljivost na određeni antibiotik i velike ekonomske gubitke u

mljekarskoj industriji. Utvrđivanje antibiotičkih ostataka u mlijeku i mliječnim proizvodima postaje stoga nužnost, a ne samo obvezom.

1. Antibiotici

Antibiotici su kemoterapeutici koji imaju široku primjenu u humanoj, veterinarskoj i stočarskoj praksi. Djelovanje antibiotika temelji se na prirodnoj osjetljivosti mikroorganizama prema njihovom djelovanju. Antibiotici mogu imati usko, prošireno ili široko antimikrobno djelovanje. Tako se antibiotici uskog spektra djelovanja primjenjuju za točno određene vrste Gram pozitivnih ili Gram negativnih bakterija. Antimikrobno djelovanje antibiotika proširenog spektra koristi se u suzbijanju Gram pozitivnih bakterija i točno određenih vrsta Gram negativnih bakterija. Antibiotici širokog spektra koriste se u suzbijanju i Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterijskih vrsta (Fališevac, 1971.). Prema kemijskoj strukturi antibiotike svrstavamo u: β -laktame, aminoglikozide, tetracikline, makrolide, poliene, peptide i ostale antibiotike. Antibiotici se i načinom djelovanja na bakterijsku stanicu međusobno razlikuju. Tako npr. β -laktamski antibiotici (penicilin, cefalosporin) zaustavljaju sintezu stanične stijenke; tetraciklin, kloramfenikol, streptomycin, puromicin zaustavljaju sintezu bjelančevina u stanici; polimiksin i polienski antibiotici oštećuju citoplazmatsku membranu, a sulfonamidi i nitrofurani onemogućuju metabolizam deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u bakterijskoj stanici (Dečić i Šuput, 1971.; Delak, 1985.). Poznavanje mehanizma djelovanja svake pojedine skupine antibiotika važno je zbog izbora najučinkovitijeg antibiotika i planiranja ispravne antibiotičke terapije. Jednako je tako i za prerađivače mlijeka važna informacija korištenog antibiotika u liječenju životinja, radi izbora najpogodnijeg testa za utvrđivanje eventualnih antibiotičkih ostataka u mlijeku.

2. Antibiotički ostaci u mlijeku

Zbog svoje široke primjene u liječenju životinja antibiotici, odnosno antibiotički ostaci najčešće su prisutne inhibitorne tvari u mlijeku. Nakon što je liječenje završeno, antibiotici se zadržavaju u vimenu i izlučuju mlijekom. Antibiotici u mlijeko najčešće dospijevaju nakon intramamarnе aplikacije tijekom liječenja mastitisa. Tkivo vimena resorbira jedan dio antibiotika, dok se određena količina izlučuje mlijekom. Antibiotici u mlijeko dospijevaju i

nakon parenteralnog, peroralnog, intrauterinog, intravenoznog i intramuskularnog davanja. Međutim, koncentracija izlučenih antibiotskih ostataka u mlijeku ovisi o individualnim osobinama grla, zdravstvenom stanju vimena, količini i vrsti primljenih antibiotika, količini proizvedenog mlijeka i načinu unošenja antibiotika u organizam (Todorčić, 1999.). Parenteralno uneseni antibiotici znatno se brže izlučuju mlijekom u usporedbi s antibioticima intramamarno apliciranim koji se izlučuju najduže i u najvećoj koncentraciji. Nakon intramuskularnog i intraperitonealnog davanja količine od 2,5-3,1 mg/kg tjelesne mase životinje uljnog prokain penicilina, u mlijeku se može prvog dana dokazati 0,02-0,05 g/ml, drugog 0,02 g/ml, a trećeg dana 0,005 do 0,001 g/ml nakon primjene (Baumgartner, cit. Miljković i Šipka, 1971.). Kod intravenoznog davanja penicilina u koncentraciji od 2,0-4,0 mg /kg tjelesne mase, najveća se koncentracija izluči nakon 6 sati, dok je nakon 48 sati od zadnje primjene koncentracija antibiotika samo u tragovima (Hogh, cit. Miljković i Šipka, 1971.). U pravilu, bez obzira na način davanja i vrstu primijenjenog antibiotika, veće količine unesenog antibiotika u organizam životinje rezultiraju većom koncentracijom antibiotika izlučenog mlijekom. Tako se dnevna doza od 88,9 mg penicilina uzeta hranom ne izlučuje mlijekom, ali povećanjem dnevne doze na 177,8 mg, količina izlučenog penicilina u mlijeku je 0,05 g/ml (Skaggs i sur., cit. Miljković i Šipka, 1971.). Važno je naglasiti, da je izlučivanje istog antibiotika mlijekom znatno duže u muznih životinja s opetovanim upalama vimena u odnosu na životinje kod kojih nije došlo do promjena u tkivu vimena. Naime, zdravo vime brže propušta veću količinu antibiotika, odnosno karenca je kraća. Tako su u 42% slučajeva od ukupno 313 ispitivanih životinja, Beukers i Gist-Brocades (1995.) utvrdili ostatke antibiotika u mlijeku nakon propisane karence. Zato, radi zaštite potrošača i smanjenja gubitaka prerađivačima mlijeka, veterinari i agronomi stočari moraju uvažavati spomenute činjenice i pouzdanim analitičkim metodama utvrditi kada je mlijeko pojedinih muznih životinja u potpunosti oslobođeno antibiotskih ostataka.

3. Utjecaj antibiotskih ostataka na mlijeko i mliječne proizvode

Sirovo mlijeko koje neposredno nakon mužnje sadrži antibiotike ili antibiotske ostatke, nije za ljudsku upotrebu niti za preradu u mljekarama. U prvom redu iz zdravstvenih razloga takvo mlijeko u ljudi izaziva preosjetljivost, probavne smetnje i rezistentnost organizma na antibiotike. U

tehnološkom smislu, takvo mlijeko ima smanjene preradbene osobine, budući se toplinskom obradom ostatci antibiotika u potpunosti ne uklanjaju iz mlijeka (Miljković, 1977.).

Proizvodnja fermentiranih mlijeka, vrhnja, maslaca i gotovo svih vrsta sireva nezamisliva je bez upotrebe mljekarskih mikrobnih kultura. Sastav kultura uključuje bakterije mliječne kiseline, propionske bakterije, kvasce i plijesni. Kulture se dodaju mlijeku prvenstveno radi stvaranja mliječne kiseline, propionske kiseline i/ili alkohola te radi postizanja željene arome i konzistencije gotovih proizvoda (Stiles i Holzapfel, 1997.; Samaržija i sur., 2001.). Međutim, ovisno o koncentraciji antibiotskih ostataka u mlijeku, mijenja se simbiotski odnos između bakterijskih sojeva odabrane kulture, nastaje degeneracija sojeva i/ili se u potpunosti zaustavlja rast organizama. Posebno su na ostatke antibiotika osjetljivi sojevi iz sastava jogurtne kulture *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, i kultura za proizvodnju acidofilnog mlijeka *Lactobacillus acidophilus*, (Rašić i Kurmann, 1978.; Schiffmann i sur. 1992.). Mnogim je istraživanjima utvrđeno da koncentracija antibiotika već od 0,05 IU/ml mlijeka može u tehnološkom smislu izazvati čitav niz problema. Koagulacija mlijeka, ovisno o koncentraciji antibiotskih ostataka, produžuje se za 1 do 3 sata ili posve izostaje. Zrenje jogurta, proizvedenog od mlijeka koje sadrži 30 µg kloksacilina/ml produžuje se za 15 minuta, a ako sadrži 4 µg penicilina/ml za 30 minuta u odnosu na prirodno mlijeko. Koncentracija od 3 µg penicilina/kg mlijeka u proizvodnji ementalca uzrokuje netipičan okus i nepravilno formirane oči sira (Suhren i sur., 1996.). Negativan učinak očituje se u smanjenom ili potpunom nedostatku mliječne kiseline u određenim fermentacijama. Jednako tako, prisutnost antibiotskih ostataka u mlijeku narušava sastav mikrobne mljekarske kulture koja je odgovorna za okus, miris i konzistenciju fermentiranih mlijeka. Posebno je važno naglasiti da prisutnost antibiotskih ostataka u mlijeku probiotičkim fermentiranim proizvodima značajno umanjuje terapijsku vrijednost. Od antibiotskih ostataka nije oslobođeno ni pasterizirano ni sterilizirano mlijeko, bez obzira na količinu mliječne masti, zbog toga što su neki antibiotici toplivi u vodi, neki u mliječnoj masti, a određeni antibiotici vežu se na proteine (Honkanen-Buzalski i Suhren, 1999.).

U cilju osiguranja tehnološki visoko kvalitetnog mlijeka za preradu i zaštitu potrošača, Europska unija je Codex Alimentarius propisima: EEC 2377/90, EEC 675/92, EEC 3093/92 i EEC 23/96 odredila gornju dopuštenu

koncentraciju ostataka antibiotika u mlijeku (Tablica 1.) Maksimalno dopuštena koncentracija antibiotskih ostataka u mlijeku utvrđena je na osnovu farmakokinetičkih i toksikoloških svojstava lijekova i njihovih metabolita kao i prihvatljivog dnevnog unosa lijeka, bez štetnih posljedica na ljudsko zdravlje (Boisseau, 1995.; Honkanen-Buzalski i Suhren, 1999.). Također, treba spomenuti da se radi velikih gospodarskih gubitaka koji nastaju uslijed kontaminacije mlijeka antibioticima i posljedica za ljudsko zdravlje, novim saznanjima »lista« permanentno nadopunjuje i mijenja.

Tablica 1: Gornja dopuštena granica antibiotskih ostataka u mlijeku prema EU propisu 2377/90*

Table 1: Maximum permitted level of antibiotic residues presence in milk, according to EU regulation 2377/90*

Skupina antibiotika Group of antibiotics	Gornja granica ($\mu\text{g/ml}$) Maximum permitted level ($\mu\text{g/ml}$)	Skupina antibiotika Group of antibiotics	Gornja granica ($\mu\text{g/ml}$) Maximum permitted level ($\mu\text{g/ml}$)
β-laktamski antibiotik β-laktam		Makrolidi Macrolide antibiotics	
Penicilin Penicillin	4	Eritromicini Erytromycin	40
Ampicilin Ampicillin	4	Spiramicini Spiramycin	200
Amoksicilin Amoxicillin	4	Tilozin Tylosin	50
Kloksicilin Cloxacillin	30	Aminoglikozidni antibiotici Aminoglycosides	
Tetraciklinski antibiotici Tetracyclines antibiotics		Gentamicin Gentamycin	100
Klortetraciklini Chlortetracycline	100	Neomicin Neomycin	500
Doksiciklini Doxycycline	0	Spektinomycin Spectinomycin	200
Tetraciklini Tetracycline	100	Ostali	
Sulfonamidi Sulfonamides		Kloramfenikol Chloramphenicol	0
Sulfadimidin Sulphadimidine	25	Klavulinska kiselina Clavulanic acid	200
		Tiamfenikol Thiamphenicol	50

(*Modificirana tablica prema Pedersen i Suhren, 2000)

4. Metode određivanja antibiotika u mlijeku

Za dokazivanje ostataka antibiotika u mlijeku postoje brojni testovi i metode različite osjetljivosti. U svijetu, u nacionalnoj kontroli hrane, kao službene metode vrlo često se koriste kemijsko-fizikalne metode: HPLC, GC s UV, fluorescentna metoda i amperometrijska detekcija kojima se pripisuje najveća osjetljivost (Zomer, 1995.; Pedersen i Suhren, 2000.). HPLC metodom, na primjer, mogu se utvrditi sulfonamidi u mlijeku u koncentraciji od 0,01 µg/ml (Roudaut i Moretain, 1995.). U rutinskoj kontroli najčešće se koriste mikrobiološki inhibitorni testovi, mikrobiološki receptor testovi, imuno receptor testovi i enzimski testovi. Mikrobiološki receptor testovi obično koriste sojeve *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *Streptococcus thermophilus* za test organizme (Carlsson i Bjorck, 1987.; Suhren i Heeschen, 1993.; Mcgrane i sur., 1996.). Tim testovima mogu se utvrditi ostatci β-laktama, sulfonamida, tetraciklina, makrolida i aminoglikozida u mlijeku. Pozitivna reakcija u tim testovima prosuđuje se promjenom boje ili zonom inhibicije. Komercijalno raspoloživi mikrobiološki inhibitor testovi su: četiri verzije Delvotesta (Delvotest P, Delvotest SP, Delvotest Cow Test, Delvotest MCS), Charm AIM-96 test, Charm Farm Test -Vial, Charm Farm Test Mini-Vial. Osim tih testova na tržištu postoji još nekoliko mikrobioloških inhibitor testova npr.: Brilliant Black Reduction Test, Valio T101, Copan microbial inhibitor test (Neaves, 1999.). Premda pouzdani i cijenom prihvatljivi, karakteristika tih testova je dugo vrijeme inkubacije (nekoliko sati) do dobivanja rezultata. Imuno receptorski rutinski testovi za laboratorijsko dokazivanje antibiotika su brzi (manje od 10 min.), ali i znatno skuplji u usporedbi s mikrobiološkim inhibitor testovima. Većina testova temelji se na kompetitivnom principu vezanja dodanog enzima i antibiotika za imuno receptor. Kompleks antitijelo-antibiotik se veže za enzim koji razgrađuje boju ili daje fluorescentnu reakciju. Usporedbom intenziteta reakcije s kontrolnim testom određuje se da li je uzorak pozitivan ili negativan na prisutnost antibiotičkih ostataka. (Suhren i sur., 1996.; Althaus i sur., 2001.). Komercijalno raspoloživi testovi su: LacTek za dokazivanje β-laktama ali test nije pogodan za dokazivanje cefalosporina), DelvoX-Press β-laktam II test, SNAPβ-L test, Beta Screen test (specifičan za dokazivanje penicilina, ali je nespecifičan za dokazivanje cefalosporina), βeta Star test, Charm MRL test i Penzym test. U ovu skupinu testova ubraja se i Charm II assay koji zapravo nije jedan test, već skupina odvojenih testova za kvalitativno i kvantitativno dokazivanje specifičnih

skupina antibiotika: β -laktama, sulfonamida, tetraciklina, novobiocina, aminoglikozida, makrolida, te kloramfenikola. Razinu osjetljivosti i specifičnosti nekih od komercijalno raspoloživih testova prikazuje tablica 2.

Tablica 2: Osjetljivost i specifičnost pojedinih testova za dokazivanje antibiotičkih ostataka u $\mu\text{g}/\text{kg}$

Table 2: Sensitivity of the tests for antibiotic residues determination, in $\mu\text{g}/\text{kg}$

	Penicilin G Penicilin G	Amoksilin Amoxicillin	Ampicilin Ampicillin	Kloranfenikol Cloxacillin	Dikloksacilin Dicloxacillin	Oksacilin Oxacillin
Mikrobiološki inhibitor test						
DelvotestP (2, 1/2 h)	3 ^a	5-6	5	25	20	10-15
Delvotest SP (2, 3/4 h)	2,5 ^{aa}	3-4	3-4	15-25	10-15	10
Delvotest MCS	2-4					
AIM-96	3-5					
Charm Farm V/MV	3-4	4	4			
Imuno receptor test						
LacTek β -L	$\leq 4,8$			≤ 7		
Delvo X-Press	2-4	4-8	4-8	30-40		
SNAP β -L	≤ 4					
Beta Screen	1	10	3	20	30	20
Charm II β -L*	2	5	4	30	20	30
β STAR**	2-4	2-4	2-5	5-10	5-10	5-10
Charm MRL	3	4	4	30		50
Penzym	4-6	4-6	4-7	60-100		30-50

*MRL-verzija

**25 i 100 test kitova

^a $3\mu\text{g}/\text{kg} = 0,005 \text{ IU}/\text{ml}$

^{aa} $2,5\mu\text{g}/\text{kg} = 0,004 \text{ IU}/\text{ml}$

(Tablica modificirana prema Neaves, 1999.)

Republika Hrvatska nema u svojoj legislativi propisanu službenu metodu i/ili test za dokazivanje antibiotičkih ostataka u mlijeku. Stoga se može reći, da je u analizi dopušteno korištenje svih na tržištu raspoloživih testova. Međutim, pri izboru testa mora se prvenstveno voditi računa o njegovoj osjetljivosti, a zatim o cijeni, načinu (jednostavnosti) izvođenja, obučenosti djelatnika i tehničkoj opremljenosti svakog pojedinog laboratorija. U bliskoj budućnosti radi, usporedivosti rezultata, mislimo da bi broj dopuštenih testova trebalo limitirati.

THE IMPORTANCE OF ANTIBIOTIC RESIDUES PRESENCE DETECTION IN MILK

Summary

Antibiotic residues are the most present inhibitory substances in milk having undesirable effect on human health, technological characteristics and the quality of milk and dairy products. In order to protect consumer's health and to ensure high quality milk production, European Union (EU) regulation 2377/90 sets a maximum permitted levels for antibiotic residues in milk. Although the presence of antibiotic residues in milk can be due to animal diseases treatment, and in the case of milking animals, they are mostly present after mastitis treatment. The aim of this work is to stress the importance of the continuous control on antibiotic residues presence in milk, due to the role that milk and dairy products have in human nutrition. In this paper, different groups of antibiotics, mechanisms of theirs action, mistakes occurring in dairy products manufacture as well as the methods for theirs detection are described.

Key words: milk, residues of antibicrobical, methods, confirmations test

Literatura:

- ALTHAUS, R., MOLINA, P., RODRIQUEZ, M., FERNANDEZ, N. (2001.): Evaluation of the BRT^R Method for Detection of β -lactam Antibiotics in Ewe Milk. *Milkwissenschaft*, 56 568-572.
- BEUKERS, R., GIST-BROCADES, B.V. (1995.): The value of withdrawal times. IDF symposium on Residues of Antimicrobial Drugs and Other Inhibitors in Milk, Kiel, 28-31 kolovoz, Proceedings, 54-58.
- BOISSEAU, J. (1995.): Safety Evaluation and Legals Situation in The European Union. IDF Symposium on Residues of Antimicrobial Drugs and Other Inhibitors in Milk, Kiel, 28-31 kolovoz, Proceedings, 115-122.
- CARLSSON, A., BJORCK, L. (1987.): The Effect of Some Indigenous Antibacterial Factors in Milk on the Growth of *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. *Milkwissenschaft*, 27 282-285.
- DELAK, M. (1985.): Kemoterapeutici, Veterinarska farmakologija, "Stvarnost", Zagreb, 28-39.

DELIĆ, V., ŠUPUT, J. (1971.): Mehanizam djelovanja antibiotika na stanicu mikroorganizma. Antibiotici i antibiotska terapija. Udruženje infektologa Hrvatske, Zagreb, 57-77.

FALIŠEVAC, J. (1971.): Utjecaj primjene antibiotika u stočarstvu na zdravlje čovjeka i na efikasnost antibiotske terapije. Antibiotici u stočarskoj proizvodnji, Poslovno udruženje proizvođača krmnih smjesa, Zagreb, 105-119.

HAVRANEK, J., RUPIC, V. (1996.): Neupotrebljivost mlijeka nakon primjene lijekova. Mlijeko-dobivanje, čuvanje i kontrola. Hrvatski poljoprivredni zadružni savez, Zagreb, 3-7.

HONKANEN-BUZALSKI, T., SUHREN, G. (1999.): Residues of Antimicrobial Agents in Milk and Their Significance to Public Health and Milk Processing. IDF Bulletin N°345, 11-12.

MCGRANE, P., ROWE, M.T., ANGER, S. (1996.): Evaluation of Delvotest SP and Charm AIM-96 for Detection of a Range of Antibiotics in Milk. Milkwissenschaft, 6 330-332.

MILJKOVIĆ, V. (1977.): Ostaci ili rezidue u mleku. Higijena i tehnologija mleka, Naučna knjiga, Beograd, 121-127.

MILJKOVIĆ, V., ŠIPKA, M. (1971.): Antibiotici u mleku. Antibiotici u stočarskoj proizvodnji, Poslovno udruženje proizvođača smjesa, Zagreb, 89-94.

NEAVES, P. (1999.): Monitoring Antibiotics in Milk- The Changing World of Test Methods. www.iah.bbsrc.ac.uk/bmc

PEDERSEN, M., SUHREN, G. (2000.): Chemical-Physical Confirmation Tests (Higher Validation Level) for the Detection of Residues of Antimicrobials in Milk. IDF Bulletin N°358, 29-35.

RAŠIĆ, J. LJ., KURMANN, A. J. (1978.): Microflora of Yogurt. In Yogurt vol. 1., Denmark, 17-45.

ROUDAUT, B., MORETAIN, J.P. (1995.): HPLC Determination of Sulphonamide Residues in Bovine Milk Following Intravenous or Intramammary Injection. IDF Symposium on Residues of Antimicrobial Drugs and Other Inhibitors in Milk, Kiel, 28-31 kolovoz, Proceedings, 77-83.

SAMARŽIJA, D., LUKAČ HAVRANEK, J., ANTUNAC, N., SIKORA, S. (2001.): Characteristics and Role of Mesophilic Lactic Cultures. Poljoprivredna znanstvena smotra, 66 113-120.

SCHIFFMANN, A.P., SCHUTS, M., WIESNER, H.U. (1992.): The Influence of Antibiotic Residues in Bulk Milk on Lactic Acid production of Starter Cultures. Milkwissenschaft 47 712-715.

STILES, M.E., HOLZAPFEL, W. H. (1997.): Lactic Acid Bacteria of Foods and their Current Taxonomy. International Journal of Food Microbiology, 36 1-29.

SUHREN, G., HEESCHEN, W. (1993.): Detection of Tetracyclines in Milk by A Bacillus cereus Microtitre Test with Indicator. Milkwissenschaft, 48 259-263.

SUHREN, G., REICHMUNTH, J., WALTE, H.G. (1996.): Detection of β -lactam Antibiotics in Milk by the Penzym-test. *Milchwissenschaft*, 51 269-273.

TODORIĆ, I. (1999.): Antibiotici i njihovo štetno djelovanje u mljekarstvu. *Agronomski fakultet, Zagreb, Diplomski rad*, 21-26.

ZOMER, E. (1995.): Incurred Studies with Veterinary Drugs, Pharmacokinetics, and Active Metabolites Using Charm II and HPLC Receptorgram. *IDF Symposium on Residues of Antimicrobial Drugs and Other Inhibitors in Milk, Kiel, 28-31 kolovoz, Proceedings*, 79-84.

Adrese autora-Author's addresses:

Doc. dr. Dubravka Samaržija
Doc. dr. Neven Antunac
Zavod za mljekarstvo
Agronomski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Svetošimunska 25
10 000 ZAGREB

Prispjelo-Received:

08.04.2002.

Prihvaćeno-Accepted:

06.05.2002.