Korištenje mlijeka kobile i magarice u proizvodnji fermentiranih mlijeka

Samaržija, Dubravka

Authored book / Autorska knjiga

Publication status / Verzija rada: **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Publication year / Godina izdavanja: **2016**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:018729

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb





Dubravka Samaržija

Korištenje mlijeka kobile i magarice u proizvodnji fermentiranih mlijeka



Korištenje mlijeka kobile i magarice u proizvodnji fermentiranih mlijeka

Dubravka Samaržija
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
2016.

Priručnici/nastavni tekst Agronomskog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Recenzenti Prof.dr.sc. Rajka Božanić
redovita profesorica u trajnom zvanju
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Prof.dr.sc. Ante Ivanković
redoviti profesor
Agronomski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu

Izdavač Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Odluka Klasa: 602-09/16-02/02
Fakultetsko vijeće Zagreb, 5.7.2016.
Naklada web stranica Agronomskog fakulteta, 3.primjerka Centralna agronomska knjižnica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 9 primjeraka Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu
ISBN 978-953-7878-64-1
ISBN 978-953-7878-66-5 (WEB)

Sadržaj

Uvod ... 1
1. Mlijeko, sastav, osobine i svojstva ... 3
1. Definicija ... 3
1.1. Glavne komponente ... 3
1.2. Kemijski sastav ... 4
1.2.1. Voda ... 4
1.2.2. Mliječna mast ... 5
1.2.3. Proteini ... 6
1.2.4. Laktoza ... 9
1.2.5. Soli ... 11
1.2.6. Sporedne komponente i mikronutrijenti ... 12
1.3. Fizikalna svojstva ... 14
1.3.1. Kiselost mlijeka ... 15
1.3.2. Puferni kapacitet ... 16
1.4. Varijabilnost ... 16
1.5. Vrsta ... 18
1.5.1. Pasmina i indvidualnost jedinke ... 20
1.5.2. Period laktacije ... 21
1.5.3. Hranidba ... 21
1.5.4. Okolišni uvjeti i mužnja ... 21
1.6. Promjene mlijeka ... 22
2. Specifičnosti mlijeka kobile i magarice za humane potrebe ... 24
2.1. Opće specifičnosti ... 24
2.2. Sastav i fizikalna svojstva ... 24
2.2.1. Kazein ... 26
2.2.2. Proteini sirutke 29
2.2.3. Laktoferin ... 30
2.2.4. Lizozim ... 31
2.2.5. Imunoglobulini ... 32
2.2.6. Neproteinski dušik ... 33
2.2.7. Lipidi ... 33
2.2.8. Laktoza i drugi ugljikohidrati ... 36
2.2.9. Minerali i vitamini ... 37
3. Mlijeko kobile i magarice u humanoj prehrani ... 44
3.1. Funkcionalna hrana ... 44
3.1.1. Bioaktivni sastojci ... 47
3.2. Standardi i kontrola kvalitete ... 48
4. Fermentirana mlijeka ... 50
4.1. Kumis ... 50
4.1.1. Mikrobna populacija kumisa ... 52
4.2. Tehnologija proizvodnje kumisa ... 54
4.2.1. Tradicionalni način proizvodnje ... 54
4.2.2. Industrijski način proizvodnje ... 55
4.3. Kvalitativne karakteristike i nutritivna svojstva ... 59
4.4. Ostala fermentirana mlijeka ... 61

4.4.1. Fermentirano mlijeko s udjelom mlijeka kobile 61
4.4.2. Jogurt od mlijeka magarice..... 64
4.4.3. Probiotička fermentirana mlijeka od mlijeka magarice 65
4.5. Elementi za priznavanje prehrambenih i zdravstvenih tvrdnji.....69
5. Literatura..... 72

Uvod

U svijetu, približno 30 milijuna ljudi svakodnevno konzumira mlijeko kobile kao naviku koji su naslijedili od svojih predaka. Na temelju je znanstvenih spoznaja utvrđeno da mlijeko kobile kemijskim sastavom, svojstvima i osobinama pripada vrsti mlijeka koje je uz mlijeko magarice najsličnije humanom mlijeku. Zbog toga se danas osobito mlijeko kobile u značajnijim količinama proizvodi i prodaje kao luksuzni proizvod u ekonomski najrazvijenijim zemljama.

U ljudskoj prehrani, osim humanog, mlijeko kobile i magarice se smatraju najlakše probavljivim mlijekom. Osim dobre probavljivosti, za humani organizam ona su bogat izvor esencijalnih nutrijenata i imaju optimalan omjer između kazeina i proteina sirutke. Zbog toga te su vrste mlijeka posebno prikladne u pedijatrijskim dijetama. Također, otkrivena su važna biološka i funkcionalna svojstva specifičnih proteina sadržanih u mlijeku kobile i magarice koji osim prehrambenog mogu imati i alergološko značenje.

Tehnološki, od mlijeka kobile se zbog slabe sposobnost zgrušavanja ne proizvodi sir ali se ono koristi za proizvodnju fermentiranog mlijeka. Tako se kobilje mlijeko već stoljećima koristi za proizvodnju kumisa.

Mlijeko magarice se danas u Europi prvenstveno koristi u zamjenu za humano mlijeko. Ono se smatra i vrijednom zamjenom u prehrani djece koja su alergična na kravlje mlijeko. Istraživanja su potvrdila da korištenje mlijeka magarice poput mlijeka kobile može biti korisno i u liječenju humanih bolesti povezanih s imunosnim sustavom i u prevenciji arterioskleroze.

Enzimi sadržani u mlijeku kobile i magarice u usporedbi s drugim komercijalnim vrstama mlijeka imaju značajna baktericidna svojstva. S drugim sastojcima poput imunoglobulina, lizozima i laktoferina, vjeruje se, ti enzimi mogu biti funkcionalni u regulaciji probavnog sustava u djece i starijih osoba.

Upotreba mlijeka kobile i magarice u kozmetičke svrhe u Europi novijeg je datuma. Prvenstveno te se vrste mlijeka u kozmetici koriste zbog visoke koncentracije polinezasićenih masnih kiselina, a proteini mlijeka smatraju se aktivnim prirodnim sastojcima za hidratizaciju i prevenciju starenja kože.

Nastavni tekst obuhvaća opis specifičnih sastojaka mlijeka kobile i magarice koji se nutritivno i fiziološki razlikuju od ostalih vrsta mlijeka. U tekstu je opisana i tehnologija proizvodnje kumisa i drugih fermentiranih mlijeka koja se proizvode od mlijeka kobile ili magarice. Za bolje razumijevanje specifičnosti mlijeka kobile i magarice u usporedbi s ostalim vrstama mlijeka koje se komercijalno koriste u humanoj prehrani **prvi dio** nastavnog teksta ukratko opisuje sastav i osobine i tih vrsta mlijeka. Ipak, prvi dio teksta **primarno** je napisan zbog činjenice da osobine i sastav komercijalnih vrsta mlijeka određuju njihove tehnološke (preradbene) karakteristike. Zato ih je u proizvodnji fermentiranih mlijeka od mlijeka kobile i magarice, koja pripadaju albuminskoj vrsti mlijeka, važno poznavati u smislu optimiziranja temeljnih i specifičnih tehnoloških procesa.

1. Mlijeko, sastav, osobine i svojstva

1. Definicija

Prema opće prihvaćenoj definiciji **mlijeko** je prirodni sekret mliječne žlijezde, dobiveno redovnom i neprekinutom mužnjom jedne ili više zdravih muznih životinja, pravilno hranjenih i držanih, kojem nije ništa dodano niti oduzeto.

Mlijeko koje se stavlja u promet mora zadovoljiti i sljedeće kriterije kvalitete:

- da je proizvedeno nakon 8 dana od poroda
- da ima svojstven izgled, boju, miris i okus
- da ne sadrži nikakve kemijske i/ili fizikalne štetne tvari
- da nije kontaminirano mikrobnim vrstama u broju koji mijenja sastav i svojstva mlijeka ili ga čini škodljivim za ljudsko zdravlje.

Za razliku od vrsta mlijeka komercijalnog značenja na koja se odnose navedeni kriteriji **mlijeko kobile** i **magarice** radi fizioloških razlika u sekreciji mlijeka mogu se stavljati u promet nakon **24-36** sati. Ostali su definicijom propisani kriteriji za te vrste mlijeka isti.

1.1. Glavne komponente

Pojam **glavne komponente** mlijeka odnosi se na kemijske komponente ili skupinu kemijskih komponenti sadržanih u količini koja se može **mjeriti u gramima**. U tom smislu, proteini, laktoza, mliječna mast, soli i voda su glavne komponente mlijeka. Međutim, veća količina određene komponente u mlijeku ne predstavlja njeno veće značenje u svim segmentima procjene njene važnosti za humani organizam. Tako vitamini koje mlijeko sadrži u značajno nižim koncentracijama u usporedbi s proteinima ili mliječnom masti imaju za humani organizam posebno prehrambeno značenje. Istodobno prirodno prisutni enzimi mlijeka i neke druge minorne komponente doprinose okusu mlijeka koji je presudan za prihvaćanje mlijeka kao namirnice.

1.2. Kemijski sastav

U kemijskom smislu mlijeko je kompleksna fiziološka tekućina u kojoj se nalazi više od 100.000 zasebnih molekula i kemijskih spojeva kojih je koncentracija ovisna o vrsti mlijeka. Uobičajeno se termin **kemijski sastav** mlijeka odnosi na njegove komercijalno najvažnije sastojke: **mliječnu mast**, **protein**, **laktozu** i **pepeo**. Vrlo često, sastav mlijeka u praksi se izražava i udjelom **suhe tvari bez masti** (**Sbm**), ili **udjelom suhe tvari** (**ST**). Suhu tvar bez masti, koja se opisuje i kao suha tvar plazme, čine udjeli proteina, laktoze i pepela u mlijeku. Prosječni udjel suhe tvari u mlijeku različitih vrsta muznih životinja i za usporedbu kobila i magarica prikazan je u tablici 1.

Tablica 1: Prosječni udjel (%) suhe tvari u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Suha tvar (%)
Krava	12,2
Koza	12,3
Ovca	18,8
Bivolica	21,5
Zebu	14,7
Bizon	14,6
Jak	17,7
Deva	14,4
Kobila	10,8
Magarica	10,8

(Prilagođeno prema Walstra i sur. 1999., i Fox i sur. 2000.)

1.2.1. Voda

Voda u mlijeku je fiziološka tekućina u kojoj su sve komponente mlijeka (ukupna suha tvar) otopljene ili suspendirane. Udjel slobodne vode u mlijeku određen je vrstom i pasminom muzne životinje i prosječno je između **85,4 i 89,2%.** Neznatan udjel vode **(≤ 2 %**) u mlijeku čini vezana (hidratizirana) voda u sastavu proteina, soli i laktoze.

1.2.2. Mliječna mast

Mliječna se mast zbog svoje hranjive vrijednosti, fizikalnih i senzornih svojstava važnih za sve mliječne proizvode smatra najvažnijom komponentom mlijeka. Premda bez nekog određenog vlastita okusa, mliječna mast mliječnim proizvodima daje bogat okus i glatkoću strukture. Ona je izvor energije i vitamina topljivih u mastima (A, D, E i K) i esencijalnih masnih kiselina. **Arahidonska kiselina** (omega-6), koja ima četiri dvostruka veza, nalazi se u mliječnoj masti u tragovima, a njezin je prekursor linolna kiselina. Od omega-3 polinezasićenih masnih kiselina, u mliječnoj su masti u tragovima zastupljene **α-linolenska kiselina** (**ALA**; $C_{18:3}$) i njezini produkti, eikosapentaenska kiselina (**EPA**; $C_{20:3}$), i dokosaheksaenska kiselina (**DHA**; $C_{22:3}$) u znatnijoj koncentraciji.

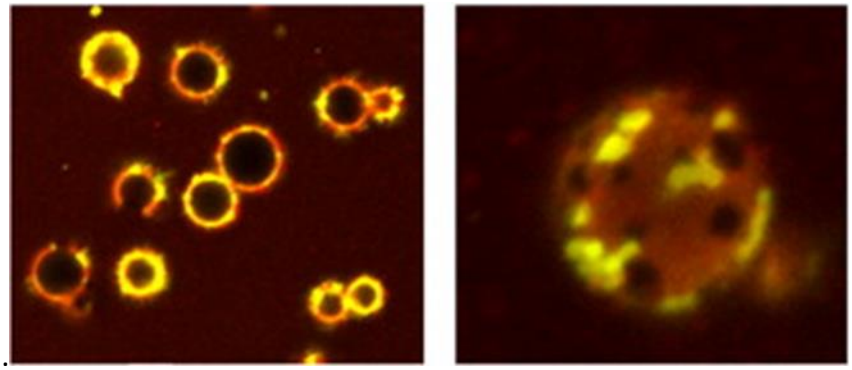
Prosječni udjel mliječne masti u mlijeku ekonomski važnih muznih životinja (krava, koza, ovaca, bivolica, deva, zebu, jak i bizon goveda i za usporedbu kobila i magarica) prikazan je u tablici 2. Varijacije u udjelu mliječne masti u mlijeku svake mliječne pasmine ovise o individualnim karakteristikama životinje, periodu i redoslijedu laktacije, hranidbi, okolišnim uvjetima i načinu mužnje.

Tablica 2.: Udjel (%) mliječne masti u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Mliječna mast (%)
Krava	3,3-4,7
Koza	4,1-4,5
Ovca	4,0-9,9
Bivolica	4,5-8,6
Zebu	4,7
Bizon	18,0
Jak	6,7
Deva	4,5
Kobila	1,7-1,9
Magarica	1,5

(Prilagođeno prema Walstra i sur. 1999., i Fox i sur., 2000.)

U svježe pomuzenom mlijeku mliječna mast je disperzirana emulziji mliječne plazme u formi globula mikroskopske veličine. Masne čestice okruglastog su oblika, obavijene biološkom membranom i nazivaju se masnim **globulama** ili **globulama mliječne masti** (slika 1.).



Slika 1.: Izgled globula mliječne masti obavijenih membranom.

(Lopez, 2011., s dopuštenjem Eseviera.)

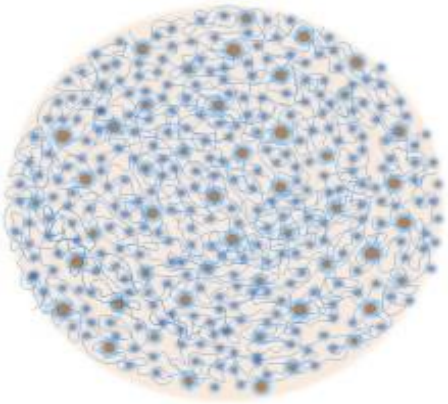
Masna je globula u mlijeku obavijena vrlo tankom biološkom membranom (5 - 10 nm) koja čini 2 - 6 % masne globule. **Membrana masne globule** (**MMG**) jedinstveni je biofiziološki koloidni sustav u prirodi. Jedinstvenost se toga koloidnog sustava ogleda u brojnosti bioaktivnih molekula, poput polarnih lipida, proteina, glikoproteina, kolesterola i enzima. Od ukupnih bioaktivnih molekula polarni lipidi i proteini zajedno čine više od 90% **MMG**. Globula mliječne masti sastavljena je od saturiranih lipida mlijeka u obliku triacilglicerola (estera masnih kiselina i alkohola glicerola). Od ukupnih lipida mlijeka triacilgliceroli čine **~ 98%**. Ostatak lipida u mlijeku čine minorni udjeli diacilglicerola, monoacilglicerola, slobodnih masnih kiselina, fosfolipida, kolesterola i polarnih lipida.

1.2.3. Proteini

Proteini mlijeka mogu se podijeliti u dvije odvojene skupine. Jednoj skupini proteina pripadaju **kazeini** koji se acidifikacijom mlijeka (**pH-4,6/20°C**) precipitiraju iz otopine. Proteini koji ostaju topljivi u tim uvjetima reakcije su skupina **proteina sirutke** ili **proteina seruma**.

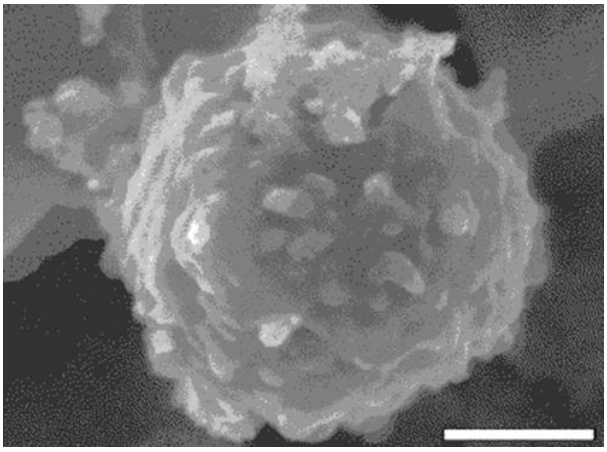
Proteini obiju skupina prema svojoj kemijskoj strukturi pripadaju **heterogenim proteinima**. U mlijeku **95%** nativnog kazeina egzistira u formi heterogenih koloidnih čestica koje se nazivaju **kazeinske micele.** Približno, one se sastoje od **93%** proteina a ostatak od **7%** uglavnom čine ioni kalcija, fosfata, magnezija i citrata koji se zajedničkim imenom nazivaju **koloidni kalcijev fosfat** (**KCP**).

Kazeinsku micelu tvore četiri različita proteina: αs_1-kazein (**αs_1-CN**), αs_2-kazein (**αs_2-CN**), β-kazein (**β-CN**) i κ-kazein (**κ-CN**), koji se vrlo često nazivaju i **kazeinske frakcije**. Shematski prikaz strukture kazeinske micele prikazan je slikom 2., a njena mikroskopska struktura slikom 3.



Slika 2.: Shematski prikaz strukture kazeinske micele.

Detalji: smeđe točke unutar kazeinske strukture predstavljaju koloidni kalcijev fosfat. (de Kruif i sur., 2012., s dopuštenjem Elseviera.)



Slika 3.: Mikroskopska struktura pojedinačne kazeinske micele dobivena elektronskim mikroskopom.

Detalji: male pridružene strukture koje čine prsten oko glavne micele vjerojatno predstavljaju njezine disocirane dijelove. (Dalgleish i sur., 2004., s dopuštenjem Elseviera.)

Proteine sirutke čine α-laktalbumin (**α-La**), β-laktoglobulin (**β-Lg**), serum albumini, imunoglobulini i proteoza-peptoni. Premda se u literaturi gotovo uvijek svrstavaju u skupinu proteina sirutke, za imunoglobuline, serum albumine, proteoza-peptone **nije dokazano** da se dodatkom **kimozina** iz mlijeka izlučuju sirutkom. U mlijeku su u malim količinama prisutni i topljivi proteini koji se svrstavaju u skupinu proteina sirutke β-mikroglobulin, lizozim, laktoferin i transferin [oba proteina u svojoj strukturi sadrže željezo (**Fe**)], feritin i kalmodulin [protein koji se vezuje za kalcij (**Ca**)], te skupina acilglikoproteina.

Prema udjelu kazeina i proteina sirutke u mlijeku ona se svrstava u skupinu **kazeinskih mlijeka** s približno **80% kazeina** (kravlje, kozje, ovčje mlijeko) ili u skupinu **albuminskih mlijeka** ako je udio **kazeina** približno **50%,** a **proteina sirutke** do **40%** (mlijeko kobile i magarice). Prosječni udjel ukupnog proteina, kazeina i proteina sirutke u mlijeku ekonomski važnih muznih životinja (krava, koza, ovaca, bivolica, deva, zebu, jak i bizon goveda i za usporedbu kobila i magarica) prikazan je u tablici 3.

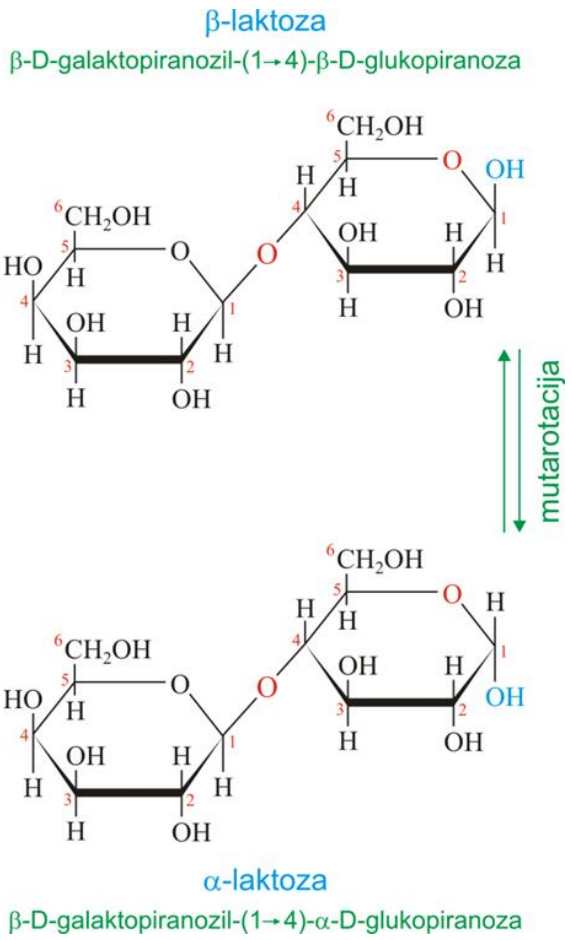
Tablica 3.: Udjel (%) proteina, kazeina i proteina sirutke u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Ukupni protein (%)	Kazein (%)	Proteini sirutke (%)
Krava	3,4	2,6-2,8	0,6
Koza	2,9	2,5-3,0	0,4-0,6
Ovca	5,5	4,6	0,9-1,0
Bivolica	4,3	3,6	0,7
Zebu	3,2	2,6	0,6
Bizon	4,5	3,7	0,8
Jak	5,5	-	-
Deva	3,8	2,7	0,9
Kobila	2,5	1,3	1,2
Magarica	2,0	1,0	1,0

(Prilagođeno prema Walstra i sur. 1999., i Fox i sur. 2000.)

1.2.4. Laktoza

Laktoza ili mliječni šećer glavni je disaharid mlijeka sastavljen od dvaju heksoznih šećera: **D-glukoze** i **D-galaktoze** (β-galaktozil-1,4-glukoza). Molarna masa laktoze je 342,3 g mol $^{-1}$. U određenoj ravnoteži, laktoza je u mlijeku prisutna u dva izomerna oblika (α-laktoza i β-laktoza). Međusobno ti se izomeri razlikuju prema položaju H^+ i OH^- skupine na prvom C-atomu glukozidnog dijela laktoze. Konfiguracija na prvom C-atomu glukozidnog dijela laktoze nije stabilna i dolazi do **mutarotacije** iz α-izomer u β-izomer i obrnuto (slika 4.).



Slika 4.: Mutarotacija laktoze u mlijeku.

(Generalić,2013.,http://glossary.periodni.com/preuzimanje_slike.php?name=laktoza.png&source=laktoza)

Laktoza je od njezinih sastavnih šećera glukoze i galaktoze manje slatka, zbog čega mlijeko nema izražen sladak okus. U odnosu na ostale sastojke mlijeka, laktoza ima najveći udjel (~ 50 %) u regulaciji osmotskog tlaka u vimenu i utjecaju na vrijednost točke ledišta i točke ključanja mlijeka. Laktoza je u odnosu na mnoge druge šećere relativno slabo topljiva u vodi. Međutim, veličina udjela jedne ili druge forme (α-izomera i β-izomera) i stupnja topljivosti primarno ovise o temperaturi medija. Tako je topljivost α-laktoze na temperaturi od 20 °C približno 7,5 g, a β-laktoze približno 48 g u 100 mL vode.

Laktoza je za humani organizam lako probavljivi šećer, a njen je udio u humanom mlijeku relativno visok (**6 - 7%**). Za usporedbu kravlje mlijeko sadrži **4,6 - 4,8 %** laktoze, ovčje **4,6 - 4,8 %** a kozje mlijeko **4,3- 4,7%.**

Za mljekarsku je industriju od velike važnosti **hidroliza laktoze** koja se događa u procesu fermentacije mlijeka djelovanjem mikroorganizmima. Fermentacijom mlijeka približno **23 - 30 %** laktoze prelazi u mliječnu kiselinu (**50 - 95 %**), koja je temeljna organska kiselina u proizvodnji svih fermentiranih mliječnih proizvoda.

Prosječni udjel laktoze u mlijeku ekonomski važnih muznih životinja (krava, koza, ovaca, bivolica, deva, zebu, jak i bizon goveda i za usporedbu kobila i magarica) prikazan je u tablici 4.

Tablica 4: Prosječan udjel (%) laktoze u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Laktoza (%)
Krava	4,6-4,8
Koza	4,3-4,7
Ovca	4,6-4,8
Bivolica	4,8
Zebu	4,9
Bizon	5,7
Jak	4,6
Deva	5,1
Kobila	6,2
Magarica	7,4

(Prilagođeno prema Walstra i sur. 1999., i Fox i sur. 2000.)

1.2.5. Soli

Soli ili **pepeo** mlijeka čini ostatak od približno **0,7%** mase mlijeka nakon što se mlijeko podvrgne spaljivanju na približno 550°C/5 h. Osim anorganskih soli pepeo mlijeka sadrži i druge elemente poput fosfora koji su originalno u mlijeku prisutni u organskim molekulama osobito u proteinima, fosfolipidima i u manjoj mjeri u fosfatima. Drugim riječima, pojam **soli mlijeka** ne predstavlja njihov originalni oblik u mlijeku već njihovu **oksidiranu** ili **karbonatnu** formu.

Na primjer, organske soli, od kojih je najvažniji **citrat**, gube se spaljivanjem. Međutim, soli prisutne i u relativno malim količinama imaju veliko značenje za tehnološke karakteristike mlijeka.

Prosječni udjel pepela u mlijeku ekonomski važnih muznih životinja (krava, koza, ovaca, bivolica, deva, zebu, jak i bizon goveda i za usporedbu kobila i magarica) prikazan je u tablici 5.

Tablica 5.: Prosječni udio pepela(%) u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Pepeo (%)
Krava	0,7
Koza	0,8
Ovca	1,0
Bivolica	0,8
Zebu	0,8
Bizon	0,96
Jak	0,9
Deva	0,8
Kobila	0,5
Magarica	0,5

(Prilagođeno prema Walstra i sur. 1999., i Fox i sur. 2000.)

1.2.6. Sporedne komponente i mikronutrijenti

Mlijeko kao kompleksa biološka tekućina sadrži veliki broj **minornih** ili **sporednih komponenti** od kojih su neke biološki ili kemijski aktivne. Jedna od tih komponenti je **urea** koja je gotovo uvijek uzrok sezonskih varijacija mlijeka i koja je odgovorna za njegovu toplinsku stabilnost. Minorne komponente mlijeka čini i oko **60** različitih **nativnih enzima**, ali ih je samo mali broj koji prema današnjim saznanjima imaju praktično značenje.

Prirodna **lipaza** mlijeka je **lipoproteinski enzim** koji katalizira hidrolizu triacilglicerola do slobodnih masnih kiselina. U svježe pomuzenom mlijeku nativna lipaza prisutna je u visokoj koncentraciji koja je dovoljna da unutar nekoliko minuta postane uzrokom kvarenja

mlijeka. Okus mlijeka se mijenja u gorak, nečist ili užegnut i posljedično tome takvo mlijeko se ne može koristiti za preradu u mliječne proizvode. Međutim, zbog membrane masne globule koja je fizička barijera za djelovanje nativne lipaze, u mlijeku se lipoliza uglavnom ne događa. Odnosno, spontana lipoliza mlijeka je rijetka a može biti uzrokovana stadijem laktacije, sezonom ili hranidbom.

Glavna **proteinaza** mlijeka je **plazmin-serinska proteinaza** čija je aktivnost slična djelovanju tripsina. Smatra se da je plazmin mlijeka identičan enzimu plazminu iz krvi i zbog toga je njegova koncentracija u mlijeku usko povezana s fiziološkim statusom muzne životinje. Tako je u kravljem mlijeku visoka koncentracija plazmina utvrđena u ranom i kasnom stadiju laktacije i u slučajevima upalnih bolesti vimena. Plazmin mlijeka je **termostabilan** enzim koji svoju aktivnost zadržava i nakon toplinske obrade mlijeka. Primjerice, mlijeko s visokom razinom plazmina nije pogodno za konzumno mlijeko s produženim vijekom održivosti.

Laktoperoksidaza je sljedeći enzim koji je u mlijeku prisutan u visokoj koncentraciji. Katalizira reakciju prijenosa kisika iz vodikovog peroksida na druge supstrate poput tiocijanata. Također, laktoperoksidaza ima potencijal za oksidaciju nezasićenih masnih kiselina koje je rezultat oksidirani okus mlijeka. Suprotno tome, ako se mlijeku dodaju tiocijanat i vodikov peroksid, laktoperoksidaza postaje glavnim enzimom s bakteriostatskim i baktericidnim učinkom prema mikrobnim uzročnicima kvarenja i patogenim bakterijama. U praksi, baktericidno se svojstvo enzima laktoperoksidaze koristi za **kratkotrajno konzerviranje** mlijeka u područjima gdje nakon mužnje nije moguće osigurati hlađenje mlijeka.

Alkalna fosfataza je također enzim koji je u relativno visokoj koncentraciji prisutan u mlijeku. U usporedbi s protezama ili lipazama u sirovom mlijeku ona ne sudjeluje u katalitičkim reakcijama. Njeno značenje u mljekarskoj industriji ogleda se u dokazivanju ispravnosti provedene pasterizacije. Naime, pasterizacijom mlijeka alkalna fosfataza se u potpunosti inaktivira, te predstavlja dobar indeks uspješnosti provedene toplinske obrade mlijeka.

Vitamini mlijeka pripadaju skupini nutrijenata koji su podložni promjenama, te njihova koncentracija u mlijeku nije konstantna i stalna.

Sezonske promjene za vitamine topljive u vodi su male, ali za neke vitamine topljive u mastima one su usko povezane s hranidbom a manje su ovise o vrsti i pasmini. Suprotno, na toplinsku obradu mlijeka od vitamina topljivih u mastima osjetljiviji su vitamini topljivi u vodi. Za ilustraciju, sterilizacijom (~140°C/2-4 s) ili UHT (engl. *Ultra Hight Temperature*) toplinskom obradom mlijeka gubi se **20-30%** vitamina topljivih u vodi.

1.3. Fizikalna svojstva

U fizikalnom smislu mlijeko je neprozirna, bijela heterogena tekućina u kojoj su različiti sastojci povezani u **multidisperzivni sustav** u formi emulzije, koloidne suspenzije, koloidne otopine i prave otopine. Multidisperzivni sustav mlijeka čini dobro definiranu ravnotežu između njegovih različitih sastojaka.

Lipidi su u mlijeku prisutni u **koloidnoj emulziji** (ulje-u-vodi) u obliku mikroskopskih globula promjera između 0,1 i 22 µm. **Kazeinske micele** u mlijeku su prisutne u **koloidnoj suspenziji**, a proteini sirutke u koloidnoj otopini. **Laktoza**, **vitamini**, **kiseline**, **enzimi** i **neke anorganske soli** prisutni su u **pravoj otopini**. Ovisno o veličini čestica otopljene tvari tablica 6. prikazuje njihove relativne odnose u mlijeku.

Tablica 6.: Fizikalni status, vrsta i veličina čestica raspoređenih u mlijeku

Otopina	Veličina čestica (nm)	Vrsta čestice
Koloidna emulzija	2000-6000	masne globule
Koloidna suspenzija	>200	kazein-kalcijev fosfat
Koloidna otopina	1-200	Proteini sirutke
Prava otopina	< 1	laktoza, soli i druge tvari

(Prilagođeno prema Chandenu, 2006.)

Strukturu mlijeka kao cjelinu određuju njegova **fizikalna-kemijska svojstva**. Drugim riječima, kemijsko-fizikalna svojstva mlijeka mogu se opisati fizikalnim uređenjem sustava koji sadrži njegove kemijske komponente.

Primjerice, kazeinske se micele sastoje od vode, proteina i soli. Kazein je protein koji je u mlijeku prisutan kao **kazeinat** što znači da je povezan s kationima a prvenstveno s kalcijem i magnezijem.

Druge soli u miceli kazeina nalaze se u formi kalcijevog fosfata i malih koncentracija citrata i nazivaju se **koloidnim kalcijevim fosfatom** (**KCP**). Same kazeinske micele u koloidno-kemijskom smislu nisu prave micele već su one međusobno povezane heterogene male čestice. Kazeinske micele imaju otvorenu strukturu i sadrže prilično veliku količinu vode (nekoliko grama po gramu kazeina) a ta im svojstva omogućuju dobru reaktivnost s drugim molekulama.

Supstancije topljive u vodi određuju mlijeku **osmotski tlak** i **vrijednost točke ledišta**, a **ioni** prisutni u mlijeku **električnu provodljivost**. Od ostalih fizikalnih svojstava mlijeka značajni su:

- aktivitet vode (a_W)
- oksidoredukcijski potencijal (E_h)
- gustoća
- specifična gustoća (20°C)
- viskozitet.

Informacija o fizikalno-kemijskim svojstvima mlijeka posebno je značajna u dizajnu procesnih postrojenja i posljedično tome za ukupnu kvalitetu mliječnih proizvoda.

1.3.1. Kiselost mlijeka

Svježe pomuzeno kravlje, ovčje i kozje mlijeko pokazuje određeni stupanj kiselosti koja je posljedica prisutnih kazeina, kiselih fosfata, citrata i plinova u mlijeku. Ta kiselost naziva se **prirodna** ili **prividna kiselost** i ima pH-vrijednost ~ **6,6 - 6,8**. Ovisno o količini bezmasne suhe tvari mlijeka (**Sbm**), prirodna kiselost mlijeka izmjerena metodom titracije prema Soxhlet-Henkelu je između **6,5 i 10 °SH**. Kiselosti mlijeka veća od prirodne posljedica je mikrobne razgradnje laktoze mlijeka u mliječnu kiselinu i naziva se **naknadna** ili **stečena kiselost**. Stečena kiselost obično se izražava kao postotak mliječne kiseline. Zbroj prirodne i naknadne kiselosti predstavlja **ukupnu kiselost** mlijeka.

1.3.2. Puferni kapacitet

Mlijeko prirodno sadrži više pufernih sustava, ali za njegovu stabilnost i dobar **puferni kapacitet** ključni su topljivi fosfati, koloidni kalcijev fosfat, citrati, bikarbonati, kazein i proteini sirutke. Kazeini u formiranju pufernog kapaciteta kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka prosječno sudjeluju s **35 %,** proteini sirutke s **5 %**, topljive soli s **40 %,** a koloidni kalcijev fosfat s **20 %.**

Puferni kapacitet izražava se brojem molova baze ili kiseline koji je potreban da se pH vrijednost mlijeka promijeni za jedinicu. Posljedično spojevima koji čine puferni sustav, promjene pH vrijednosti mlijeka nisu iste za jednaku količinu mlijeku dodane kiseline ili baze. Tako će se vrijednost pH-mlijeka veća od 6,6 brže povećati ako se mlijeku dodaju baze u odnosu na kiseline. Ili drugim riječima, puferni je kapacitet mlijeka oko dvaput veći prema kiselinama u odnosu na baze. Prema **kiselinama** puferni kapacitet mlijeka je između **2,4 i 2,6,** a prema **bazama** između **1,2 i 1,4 mL** molarne otopine kiseline, odnosno baze na **100 mL** mlijeka.

1.4. Varijabilnost

U fizikalno-kemijskom smislu važno je naglasiti da svježe pomuzeno mlijeko nije uvijek isto. Usprkos brojnim istraživanjima **varijabilnost** sastava i svojstava mlijeka nije u potpunosti poznata. Razlog tome su mnogobrojni čimbenici koji mogu imati određeni utjecaj na promjene u sastavu i svojstvima mlijeka i činjenica da je većina varijacija posljedica međusobno ovisnih naknadnih reakcija. Osim toga, značajne varijacije u kemijskom sastavu i fizikalno kemijskim svojstvima određene su klimom, menadžmentom na farmi, uzgojnim programom i slično. Iz čega proizlazi da se dobiveni rezultati za jednu zemlju ili regiju ne mogu primijeniti bilo gdje. Ipak, glavni čimbenici koji utječu na varijabilnost sastava i svojstava mlijeka su **genetski**, **fiziološki** i **okolišni**.

Između glavnih komponenti mlijeka najveće promjene događaju se s udjelom mliječne masti a osobito s njenim sastavom. Pojedinačni proteini mlijeka prilično su konstantna varijabla osim ako se radi o **genetskom polimorfizmu** proteina mlijeka. Međutim, omjer između proteina mlijeka može varirati u smislu da je udio kazeina konstantan, a manje je konstantan udio proteina sirutke.

Omjer između pojedinih minerala poput **Na : K** se također mijenja. Raspoređenost komponenti mlijeka unutar fizikalne frakcije, kao i veličina masnih globula i kazeinskih micela nije uvijek stalna. Sve te promjene imaju utjecaj na fizikalna svojstva mlijeka poput **gustoće**, **viskoznosti** ili **titracijske kiselosti** (°SH). Navedeni izvori varijabilnosti sastava mlijeka usko su povezani s vremenom poroda muznih životinja.

U određenim područjima i prema usvojenom menadžmentu ako se porod događa tijekom cijele godine promjene u sastavu mlijeka tijekom laktacije nemaju utjecaj na preradbenu kvalitetu skupnog mlijeka. Suprotno u uzgojnim uvjetima gdje je porod za sve životinje organiziran unutar nekoliko tjedana, varijacije u sastavu mlijeka kao posljedice utjecaja perioda laktacije su znatne i direktno utječu na preradbene sposobnosti mlijeka.

Korelacije između pojedinih varijabli često se događaju, a neke od njih moguće je kvalitativno objasniti. Mlijeko je u izotoničnom odnosu s krvi a osmotski tlak je uglavnom određen udjelom laktoze i otopljenih soli. Posljedično, ako je jedna od tih komponenti u relativno niskoj koncentraciji, druga će biti prisutna u višoj koncentraciji. U slučajevima ako životinja ima upalu vimena ili je njena laktacija pri kraju velika količina različitih komponenti iz krvi male molekularne mase prelazi u mlijeko. Negativna korelacija između koncentracije **Na : K** pripisuje se djelovanju Na-K pumpi u mliječnim alveolama vimena.

Koncentracija netopljivih soli i kazeina u pozitivnoj je korelaciji budući da kazeinska micela sadrži koloidni kalcijev fosfat (**KCP**) i bilo koja promjena odnosi se na cjelinu. Primjerice, promjena kazeinskog dušika s promjenom ukupnog dušika u mlijeku.

Sastav je mlijeka u korelaciji i s genetskom varijantom određenih proteina mlijeka. Za primjer može se uzeti genetska varijanta κ- kazeina **BB** u krava koje proizvode mlijeko s višim udjelom proteina, a osobito s višim udjelom kazeina. Istodobno genetska varijanta κ- kazeina **AA** u krava uzrok je proizvodnje mlijeka s višom pH vrijednosti i nižeg udjela Ca.

1.5. Vrsta

Mlijeko različitih vrsta sisavaca prema kemijskom sastavu međusobno se značajno razlikuje. Prema dostupnim podatcima za **150** vrsta, suha tvar mlijeka (**ST**) može biti od **8-65%**, mliječna mast od **0-53%**, protein od **1-19%**, laktoza od **0,1-10%** a pepeo od **0,1-2,3%**. Ostale razlike uključuju sastav mliječne masti i okus mlijeka.

Na svjetskoj razini dominantna vrsta za proizvodnju mlijeka su **krave** koje proizvodu **83%** od ukupno proizvedenog mlijeka**.** U Europi i sjevernoj Americi udjel kravljeg mlijeka u ukupnoj proizvodnji mlijeka je viši i od **90%.** Prosječna proizvodnja mlijeka po kravi u standardnoj laktaciji (305 dana) je između 5000-7000 kg, a visoko mliječna grla u intenzivnom uzgoju proizvode i preko 12 000 kg.

Mlijeko ostalih vrsta muznih životinja u industrijski razvijenim zemljama Europe proizvodi se u statistički beznačajnim količinama. Ipak, unutar europskog prostora postoje mali ali značajni proizvođači kozjeg, ovčjeg, mlijeka bivolice, mlijeka kobile i mlijeka magarice dominantno orijentiranih na izbirljivo ili zdravstveno tržište.

Ovčje i **kozje mlijeko** na svjetskoj razini zajedno čine približno **3,5%** od ukupne proizvodnje mlijeka. Odnosno, proizvodnja **kozjeg mlijeka** na godišnjoj razini od ukupno proizvedenog mlijeka čini **2,21%,** a **ovčjeg 1,32%.** Obje vrste mlijeka prerađuju se u sir ili fermentirana mlijeka, a kozje se mlijeko stavlja na tržište i kao konzumno. Visoko mliječne pasmine koza poput Sanske i Alpina pasmine u intenzivnim uvjetima proizvodnje i dvokratne mužnje daju između 2500 i 3000 kg mlijeka u laktaciji. Za većinu ostalih pasmina proizvodnja mlijeka u laktaciji od prosječno 220 do 280 dana je između 160-1900 kg. Mliječne pasmine ovaca poput Istočno-frizijske ili izraelske Awassi ovce u laktaciji koja prosječno traje 200 dana mogu u intenzivnoj proizvodnji proizvesti i više od 1000 kg mlijeka. Za usporedbu, Paška ovca tijekom laktacije (120-250 dana) proizvede između 120 i 150 kg mlijeka.

Deve se za proizvodnju mlijeka koriste u područjima nepovoljnim za uzgoj krava (polu-sušna područja Arapskog poluotoka, sjeverne i sjeverno istočne Afrike, Indo-Pakistanskog potkontinenta). One se muzu u prisutnost mladunčeta, a laktacija započinje tri mjeseca nakon poroda i traje od 12-18 mjeseci. Zbog izrazito male veličine vimena potrebna je višekratna dnevna mužnja (3-4 x). Prosječno proizvedena količina mlijeka u 18 mjesečnoj laktaciji je između 174 i 576 kg.

Međutim, deva može doseći i dnevnu proizvodnju mlijeka od 15-20 kg u vrhu laktacije i 1000-1500 kg u 305 dana laktacije. Devino mlijeko koristi se za proizvodnju maslaca, sira i fermentiranih mlijeka. U ukupnoj proizvodnji mlijeka **devino mlijeko** je zastupljeno s **0,26%.**

U Italiji u intenzivnim uvjetima **bivolica** u 270 dana laktacije proizvede približno 5000 kg mlijeka s 4,6-10,3% mliječne masti. Gotovo sva količina mlijeko se preradi u mozzarella sir koji je od 1996. godine zaštićen oznakom kvalitete izvornosti na EU razini. Inače, zbog posebnog okusa i visokog udjela mliječne masti mlijeko bivolice je popularnije od kravljeg u Aziji, Indiji i Pakistanu. Radi mlijeka, bivoli se uzgajaju i u Egiptu, Latinskoj Americi, istočnoj Europi, Iranu, Iraku i Turskoj. Tijekom laktacije (270-350 dana), nakon koje slijedi period suhostaja, proizvodnja mlijeka bivolice je između 500 i 2700 kg. Proizvodnja **mlijeka bivolice** na svjetskoj razini relativno je visoka i čini **13,2%** od ukupno proizvedenog mlijeka.

Tradicionalno, **kobile** se radi mlijeka muzu u zemljama centralne Azije, Mongoliji, Kazahstanu, Kirgistanu i Bjelorusiji. U industrijski razvijenim zemljama kobile se za proizvodnju mlijeka prvenstveno drže i uzgajaju za plasman proizvoda na izbirljivo i/ili zdravstveno tržište. Gotovo sve pasmine kobila se mogu musti, ali u zapadnoj Europi preferiraju hladnokrvne kobile. Jedna od pasmina koje imaju dobre muzne karakteristike je i pasmina Haflinger (slika 5.).



Slika 5.: Halfinger pasmina konja

Kobile se muzu ručno ili strojno višekratnom dnevnom mužnjom. U prirodnom okruženju ždrijebe siše od 8-10 mjeseci, a mlijeko za mužnju koristi se posljednjih 6-8 mjeseci laktacije. Prosječna dnevna količina mlijeka je između 10-15 kg, a tijekom 8 mjeseci laktacije može biti između 1500-2500 kg. Mlijeko se uglavnom prerađuje u fermentirano mlijeko - **kumis**.

Proizvodnja **mlijeka magarice** u Europi u usporedbi s Kinom koja je njegov najveći proizvođač (11 milijuna jedinki) ima marginalno značenje. Međutim, zbog prednosti koje ima mlijeko magarice u usporedbi s drugim vrstama mlijeka proizvodnja je mlijeka magarice posljednjih godina u porastu. Uglavnom je organizirana na relativno malim farmama kojih je najviše u Turskoj, Španjolskoj, Grčkoj, Bugarskoj i Italiji gdje se mlijeko pretežno proizvodi za kozmetičke potrebe ili služi kao zamjena za humano mlijeko. Podatci o proizvodnji mlijeka magarice nisu evidentirani u evidenciji FAOSTATA.

U literaturi se obično proizvodnja mlijeka magarice izražavaju u **mL/mužnji**. Temeljeno na eksperimentalnim podacima tijekom sezone mužnje višekratnom mužnjom proizvede se između 100 i 1000 mL mlijeka/dan. Laktacija u magarica traje 6-10 mjeseci ovisno o vremenu odbijanja puleta.

1.5.1. Pasmina i indvidualnost jedinke

Unutar određene životinjske vrste često se mogu razlikovati različite podvrste, međutim pod pojmom **pasmina** podrazumijeva se rezultat **selekcijskog** rada čovjeka. Različite pasmine unutar iste vrste dobivene su selekcijskim pritiskom primarno na određenu proizvodnu osobinu (mlijeko, meso, vuna) i lokalnih klimatsko-geografskih i vegetacijskih i hranidbenih uvjeta. Strogim selekcijskim pritiskom primjerice na proizvodnju mlijeka u posljednjih 100 godina značajno su smanjene razlike u sastavu mlijeka između ekonomski značajnih muznih životinja iste vrste.

Varijabilnost u sastavu mlijeka između pojedinačnih grla iste pasmine mogu biti veće i od onih između pasmina različitih vrsta. Razlike u sastavu mlijeka između četvrti ili polovica vimena su uglavnom zanemarive.

1.5.2. Period laktacije

Period laktacije predstavlja najvažniju **fiziološku varijablu** koja pokazuje promjenu u koncentraciji pojedinih sastojaka mlijeka koja je karakteristična za svaku vrstu. Tako se prosječni udio proteina, mliječne masti, laktoze, kalcija, kalija i natrija ako se označe kao 100% vrijednosti tijekom laktacije mijenjaju na razini od **2%**.

1.5.3. Hranidba

Okolišni čimbenici poput hranidbe za razliku od perioda laktacije mogu značajno utjecati na prinos mlijeka ali ne i na njegov temeljni sastav. Naime, kapacitet sisavaca da imaju sposobnost zadržavanja sastava tjelesnih i staničnih tekućina konstantnim posljedično se odražava i u kvalitativno konstantnom sastavu mlijeka. Sastav hranidbe može utjecati na udio mliječne masti a osobito na njen sastav, ali ne i na mliječnu mast kao temeljni sastojak. U tom smislu, niskoproteinska hranidba uzrok je sniženja koncentraciji proteina, a visokoproteinska uzrok je višoj koncentraciji neproteinskog dušika u mlijeku.

1.5.4. Okolišni uvjeti i mužnja

Klima ima zanemariv učinak na sastav mlijeka osim ako ne vladaju ekstremni uvjeti koji uzrokuju temperaturni šok. Sve ostale vrste stresa poput iscrpljenosti ili stalnog držanja životinja u staji uglavnom nemaju veći utjecaj na temeljni sastav mlijeka.

Kraće vrijeme između mužnji uzrok je smanjenja prinosa ali istodobno većeg udjela mliječne masti u mlijeku. Nadalje, kratki interval između mužnji ili veći broj mužnji povećava predispoziciju mlijeka za spontanu lipolizu. Naime, u tim uvjetima mužnje povećava se propuštanje lipoproteinskih lipaza iz krvi u mlijeko. Također, večernje mlijeko uobičajeno sadrži veći udjel mliječne masti za ~0,25% u usporedbi s mlijekom jutarnje mužnje. Tijekom mužnje udjel se mliječne masti mlijeka povećava od približno **1,0-10%.** Zbog toga je nepotpuna mužnja uzrok smanjenju udjela mliječne masti u mlijeku.

1.6. Promjene mlijeka

Osim fizioloških promjena mlijeko se mijenja tijekom same mužnje, snižavanjem temperature i tijekom prerade. U tom smislu, promjene mlijeka su sljedeće:

- **fizikalne promjene**

  tijekom mužnje u mlijeko može ući zrak koji u mlijeku povećava koncentraciju otopljenog **kisika** i **dušika** te se formiraju nove strukture, posljedično tome dolazi do njihovog povezivanja s proteinima, a u kontaktu s masnim globulama dolazi do njihovog oštećenja i gubitaka dijela membrane masnih globula

  tijekom hlađenja mlijeka dolazi do izdvajanja mliječne masti na površinu i njihovog povezivanja u veće globule - proces je poznat pod pojmom **hladna aglutinacija**, hlađenje mlijeka je uzrok i djelomične kristalizacije mliječne masti, a ona je veća što je temperatura hlađenja niža. Prisutnost kristala može znatno umanjiti stabilnost mliječne masti prema djelomičnom ponovnom povezivanju
- **kemijske promjene**

  zbog povećane koncentracije **kisika** nastale mužnjom može doći do **oksidacije** određenih komponenata mlijeka a posljedica je oksidirani okus sirovog mlijeka
- **biokemijske promjene**

  u promijenjenim fizikalno-kemijskim uvjetima **prirodni enzimi** mlijeka postaju aktivni i mogu biti uzrokom **neželjene** lipolize, proteolize ili hidrolize sastojaka mlijeka
- **mikrobiološke promjene**

  posljedica su nekontroliranog rasta i razmnožavanja **mikroorganizama** koji kontaminiraju mlijeko u momentu napuštanja vimena, djelovanjem **mikrobnih enzima** mogu se dogoditi mnogobrojne promjene u sastavu i svojstvima mlijeka a osobito su značajne promjene u sastavu laktoze, proteina i mliječne masti

- **tehnološke promjene**

  u pozitivnom smislu tehnološkim postupcima svjesno se mijenjaju osobine i svojstva sirovog mlijeka, visokom temperaturom i dužim vremenom zadržavanja mlijeka (95°C/5 min) u proizvodnji fermentiranih mlijeka postiže se željena potpuna **denaturacija proteina sirutke**, ali visoke temperature i predugo zadržavanje mlijeka na tim temperaturama može značajno utjecati na promjenu njegova **okusa.**

2. Specifičnosti mlijeka kobile i magarice za humane potrebe

2.1. Opće specifičnosti

Zbog anatomskih i fizioloških razlika u usporedbi s konvencionalnim mliječnim pasminama korištenje kobila i magarica u proizvodnji mlijeka za humane potrebe u izradi menadžment sustava treba uvažiti sljedeće posebnosti**:**

- mliječna žlijezda obje vrste je malog volumena (najviše 2-2,5 L) s limitiranim kapacitetom cisterne
- veliki je udio alveolarnog mlijeka (70-75%)
- rezidualno mlijeko (~30% od ukupne količine) sadrži najviši udio masti
- za zadovoljavajuću perzistenciju laktacije majka i mladunče moraju ostati zajedno do prirodnog odbića mladunčadi u dobi od 6-9 mjeseci i biti odvojeni 3 sata prije svake mužnje. Interval između dvije mužnje ili sisanja ne bi trebao biti duži od **3** sata budući da se smanjuje sposobnost sekrecije mlijeka. Na komercijalnim mliječnim farmama kobila, prema zahtjevima tržišta kobile se mogu musti 3-5 x dnevno kako bi se proizvelo i do 15 kg mlijeka dnevno. U tim slučajevima ždrjebad se na duže vrijeme odvaja od majki
- prisutnost ždrjebeta u vrijeme mužnje za mnoge kobile potrebno je za potpuno izmuzivanje cisterne. Trening kobila može pomoći u izostavljanju ždrebeta u vrijeme mužnje
- rutinska mužnja provodi se između **3 i 5** puta dnevno. Za specijalne potrebe na dobro organiziranim farmama mužnja može biti organizirana i do 8 puta dnevno.

2.2. Sastav i fizikalna svojstva

U usporedbi s mlijekom ostalih pasmina koje se koriste za humanu potrošnju, mlijeko kobile i magarice sastavom i svojstvima najsličnije je humanom mlijeku. Karakterizira ih relativno niska razina proteina, mliječne masti i pepela. Udio mliječne masti u mlijeku magarice prema dostupnim je podatcima i niži od njenog udjela u mlijeku kobile i usko je povezan s učinkom pražnjenja mliječne žlijezde.

Za objašnjenje, dobar je primjer korištenja egzogenog hormona oksitocina prije strojne mužnje koji je pospješio izmuzivanje rezidualnog mlijeka. Posljedično tome, tako dobiveno mlijeko sadržavalo je značajno viši udio mliječne masti (1,73%) u usporedbi s prirodnim izmuzivanjem mliječne žlijezde (0,43%). Varijacije u udjelu mliječne masti u mlijeku magarice povezane su i s dužinom intervala između mužnji. Odnosno, duže vrijeme između mužnji povećava udio mliječne masti u mlijeku.

Prava laktacija u kobila i magarica započinje već nakon **24-36** sati nakon poroda. Udio laktoze i mliječne masti trajanjem laktacije uglavnom ostaju konstantni ali se napredovanjem laktacije ipak neznatno smanjuje mliječna mast a povećava udjel laktoze. Nakon poroda, udjel proteina se snižava za približno 20-25% od 28-150 dana laktacije najvećim dijelom zbog snižavanja udjela kazeina u mlijeku koji se u istom periodu snižava u obje pasmine za 20-30%. Napredovanjem laktacije udio pepela se također smanjuje.
Osim toga, glavni sastojci mlijeka magarice pod biološkim su utjecajem 24-satnog ritma s višim udjelom mliječne masti i laktoze preko noći i višeg udjela mlijeka tijekom dana.

Fizikalna svojstva mlijeka obje pasmine značajno se razlikuju od ostalih za proizvodnju mlijeka korištenih vrsta te su i prema tim svojstvima najsličnija humanom mlijeku. Tako je vjerojatno zbog različitog udjela proteina i soli u usporedbi s kravljim mlijekom **pH** vrijednost tih vrsta mlijeka viša (**>7,0**). Različit udjel laktoze i soli u mlijeku kobile i magarice određuje i drugačiju vrijednost za točku ledišta mlijeka a niži udio suhe tvari određuje njihovu manju **viskoznost**. Različitost fizikalnih svojstava između mlijeka magarice, kobile, krave i humanog mlijeka prikazuje tablica 7.

Tablica 7.: Fizikalna svojstva mlijeka kobile, magaričinog, humanog i kravljeg mlijeka

	Kobilje mlijeko	Magaričino mlijeko	Humano mlijeko	Kravlje mlijeko
pH	7,1-7,3	7,01-7,35	7,0-7,5	6,5-6,7
Gustoća (kg/m^3	1003-1035	1029-1037	1031	1027-1033
Točka ledišta (°C)	-0,554 do -0,548	-0,540 do -0,508		-0,550 do -0,512
Viskozitet (MPa s)	1,503			1,691

(Prilagođeno prema Salimeiju i Fantuzu, 2012.)

2.2.1. Kazein

Jednako kao i za ostale vrste muznih životinja udjel **ukupnog dušika** u mlijeku kobile i magarice odnosi se na udjel dušika u **pravim proteinima** i u **neproteinskom dušiku**. Prave proteine čine kazein i proteini sirutke, koji se sintetiziraju u mliječnoj žlijezdi i proteini seruma poput imunoglobulina ili lizozima koji se u mlijeko deriviraju iz krvi. Međutim, neovisno o mjestu sinteze i činjenici da nije dokazano da se proteini seruma dodatkom kimozina iz mlijeka izlučuju sirutkom, uobičajeno se i oni svrstavaju u skupinu proteina sirutke.

Kazein u mlijeku tih vrsta čini samo **45-50%** od ukupnog dušika, a **proteini sirutke 41%** u mlijeku magarice i **39%** u mlijeku kobile. Zbog toga, te vrste mlijeka imaju potpuno drugačije karakteristike enzimske ili kisele koagulacije. Također, u mlijeku obje vrste kazeinska se micela sastoji od četiri vrste kazeina (**α_{s1}-, α_{s2} -, β-** i **κ-CN**), ali je zastupljenost pojedinačnih kazeina u usporedbi s mlijekom preživača različita (tablica 8.).

Pojedinačni kazeini unutar kazeinske micele razlikuju i prema stupnju njihove **fosforilacije** i **glikolizacije**. Tako je upravo zbog stupnja glikolizacije za κ-kazein utvrđeno da je to najviše heterogeni protein u mlijeku magarice.

Inače glikolizacija je enzimatska reakcija preko koje se povezuju molekule šećera (glikani) s proteinima ili lipidima ili drugim organskim molekulama i nastaju glikokonjugati koji u humanom organizmu posreduju u konsolidaciji memorije i imunosnom odgovoru. N-glikolizacija proteina započinje u endoplazmatskom retikulumu a potpuno završava u Golgijevu aparatu. Oligosaharidi sadrže N-acetilneurozaminsku kiselinu (**NANA**), galaktozu i N -acetilgalaktozamin koji su preko O-glikozidne veze povezani s reziduama treonina za C terminalni kraj **κ - CN**. Iako nema egzaktnih podataka o stupnju glikolizacije **κ-CN** u mlijeku kobile i magarice na temelju činjenice da nije utvrđen neglikolizirani **κ-CN** smatra se da je taj kazein u mlijeku velikim djelom ili potpuno glikoliziran. Za usporedbu, humani **κ-CN** ima sedam a kravlji šest glikoliziranih mjesta u molekuli. Fiziološki, **NANA** rezidue imaju antibakterijska svojstva i ulogu bifidogenog faktora. Za **κ-CN** se vjeruje i da je ključan protein u prevenciji adhezije bakterije *Helicobacter pylori* u humanom probavnom traktu. Podatak je osobito važan zbog činjenice da se infekcija *H. pylori* najčešće događa u dječjoj dobi.

Za stabilnost kazeinskih micela u kravljem mlijeku odgovoran je **κ-CN**, koji je uglavnom smješten na površini micele. Manji udjel **κ-CN** u mlijeku kobile nadoknađuje nefosforilirani **β- CN** na površini micele koji joj osigurava stabilnost. Razina glikolizacije **κ-CN** nema utjecaj na strukturu micele, ali ima značajan utjecaj na njegovu razinu osjetljivosti prema djelovanju kiselina, hidrolizi djelovanjem enzima kimozina i denaturaciji toplinom. Drugim riječima, osjetljivost **κ-CN** na inducirane promjene djelovanjem kimozina, kiselina ili topline se smanjuje ako se stupanj glikolizacije povećava. Pretpostavljeni visoki stupanj glikolizacije **κ-CN** u mlijeku kobile i magarice povećava njegovu razinu neosjetljivosti na djelovanje enzima kimozina u usporedi s kravljim mlijekom. Tako dodatak kimozima mlijeku kobile ne uzrokuje formiranja gel-strukture, već se u mlijeku pojavljuju fine **pahuljaste forme**. Istovremeno magaričino mlijeko ima sposobnost koagulacije dodatkom kimozina ali je koagulum izrazito slab.

Razlike u strukturi, udjelu i proporciji pojedinačnih kazeina i veličini kazeinske micele određuju i koagulaciju kazeina induciranu kiselinom ili toplinom. Kazeinske micele u mlijeku kobile i magarice manje su osjetljive na kiselinom induciranu flokulaciju od kazeinskih micela kravljeg mlijeka. Također, kazeinske micele obje vrste mlijeka zbog više kiselog karaktera **β- CN** i **κ-CN** imaju nižu **izoelektričnu točku** precipitacije (**pH 4,2**) od kazeinskih micela kravljeg mlijeka (**pH 4,6**).

Toplinom izazvana koagulacija mlijeka se događa ako se mlijeko dovoljno dugo zagrijava na temperaturi > 120°C. Kravlje mlijeko izloženo temperaturi od 140°C pokazuje tipični profil s maksimalnim koagulacijskim vremenom od ~ 20 min na pH ~6,7 i minimalnim na pH ~6,9. Suprotno, u istim uvjetima toplinom izazvana koagulacija mlijeka kobile i mlijeka magarice na pH 7 je ~60 min. Razlika između toplinske stabilnosti mlijeka kobile i magarice i kravljeg mlijeka vjerojatno je uvjetovana razlikom u steričkoj stabilnosti micele. Osim toga, tek toplinom inducirano stvaranje proteinskog kompleksa između **β-Lg** i **κ-CN** u kravljem mlijeku koji se povezuju preko sulfhidrilnih skupina njegova stabilnost se povećava. Suprotno, zbog nedostatka sulfhidrilnih skupina u **β-Lg** i niže koncentracije **κ-CN** mlijeko kobile i mlijeko magarice prirodno pokazuju veću toplinsku stabilnost.

Tablica 8.: Raspoređenosti (%) i prosječna veličina pojedinačnih kazeina u mlijeku kobile, magarice, krave i u humanom mlijeku

	Kobila	Magarica	Krava	Humano mlijeko
Kazeini (g/100g)	1,10	0,76	2,60	0,48
αs1-kazein (%)	17,9	utvrđen	41	32
αs2-kazein (%)	1,4	utvrđen	10,8	Nije utvrđen
β-kazein (%)	78,5	utvrđen	33	85
κ- kazein (%)	1,8	utvrđen	12	< 15
Veličina kazeinske micele (nm)	225		182	64

(Prilagođeno prema Fox i sur., 2000, i Salimei i Fantuz, 2012.)

2.2.2. Proteini sirutke

Glavni proteini sirutke mlijeka kobile i magarice su također **β-laktoglobulin** (**β-Lg**) i **α -laktalbumin** (**α-La**) ali se od tih proteina u kravljem mlijeku razlikuju različitim postotnim udjelima. Proteine sirutke u značajno nižoj koncentraciji čine serum albumin, imunoglobulini, laktoferin, lizozim i proteaze-peptoni. Udjele proteina sirutke u mlijeku kobile, magarice i u humanom mlijeku prikazane su tablicom 9.

Tablica 9.: Raspoređenost proteina sirutke (%) u mlijeku kobile, magarice i humanom mlijeku

Sastojak	Kobila	Magarica	Humano mlijeko
β-laktoglobulin	30,7	29,8	nije utvrđeno
α-laktalbumin	28,5	22,6	40,3
Serum albumin	4,4	6,2	7,7
Imunoglobulini	19,6	11,5	15,5
Laktoferin	7,0	4,48	26,6
Lizozim	10,5	21,0	5,5

(Prilagođeno prema Salimei i Fantuz, 2012.)

U mlijeku kobile i magarice dominantan protein sirutke s udjelom od **30%** je **β-Lg** (za usporedbu, udio **β-Lg** u kravljem mlijeku je približno 50%). Suprotno, humano mlijeko uopće ne sadrži **β-Lg** i upravo se prema udjelu tog proteina te vrste mlijeka značajno razlikuju od humanog mlijeka. U mlijeku kobile i magarice, za **β-Lg** utvrđene su dvije molekularne forme (I i II) a u mlijeku magarice i dvije genetske varijante (A i B) β-**Lg I** i četiri (A, B, C, D) za **β-Lg II**. U mlijeku kobile **α-La** postoji u tri genetske varijante (A, B, C).

Toplinska stabilnost i **β-Lg** i **α-La** mlijeka kobile je veća u usporedbi s tim proteinima sadržanim u kravljem mlijeku. Suprotno kravljem mlijeku, toplinska stabilnost **β-Lg** mlijeka kobile je veća od stabilnosti **α-La**. Veća je toplinska stabilnost **β-Lg** vjerojatno povezana s njegovim nedostatkom sulfhidrilne skupine. Zbog toga **β-Lg** ne može sudjelovati u sulfhidril-disulfidnim reakcijama. Oba proteina sirutke mlijeka kobile i magarice manje su osjetljiva na visokim tlakom induciranu denaturaciju od tih proteina sadržanih u kravljem mlijeku.

Osim toga, mlijeko magarice sadrži i značajno višu koncentraciju termostabilnih proteina - **proteaza peptona** (~2,28 mg mL^{-1}) u usporedbi s kravljim mlijekom (~1,22 mg mL^{-1}). Za te proteine sirutke vjeruje se da pripadaju **biološki aktivnim** proteinima.

2.2.3. Laktoferin

Laktoferin je prema svojoj kemijskoj građi **glikoprotein** koji u svojoj strukturi sadrži **željezo**. Sastavljen je od jednog polipeptidnog lanca molekularne mase od približno 78 kDa. Strukturom je sličan transferinu (proteinu plazme za transport Fe) ali ima i do približno 300 puta veći afinitet za vezanje Fe. Kapacitet laktoferina za vezanje Fe u mlijeku kobile i magarice sličan je onom u humanom mlijeku i veći je u usporedbi s laktoferinom kravljeg mlijeka. Primjerice u mlijeku magarice laktoferin čini više od 2% ukupne proteinske frakcije. Međutim nije utvrđena korelacija između koncentracije laktoferina i koncentracije Fe u mlijeku. Za ilustraciju, humano je mlijeko bogato laktoferinom, ali siromašno Fe.

Utvrđene su različite biološke funkcije za humani i bovini laktoferin poput **antiviralne** aktivnosti i uloge **faktora rasta**. Specifična biološka funkcija laktoferina mlijeka kobile i magarice još nije proučavana, ali se pretpostavlja da je ona slična onima utvrđenim za humani i bovini laktoferin. Tako su nedavna istraživanja potvrdila da laktoferin s ostalim proteinima sirutke ima snažno djelovanje prema enterovirusu tip 5 (**ECHO-virus**) koji je čest uzročnik infekcije humanog gastrointestinalnog sustava. Inače **ECHO**- virus tip 5 je RNA virusu koji pripada vrsti Enterovirusa B i koji pokazuje izrazitu infektivnost osobito u djece. **ECHO** virus je također uzrok aseptičkog meningitisa i može uzročno-posljedično biti uzrok različitih sistemskih bolesti s visokim postotkom smrtnosti. Viralnu infekciju u organizmu laktoferin može inhibirati čvrstim vezanjem za proteinsku ovojnicu virusa i preko stimulacije uvjeta za favoriziranja rasta poželjne mikrobiote u gastrointestinalnom sustavu.

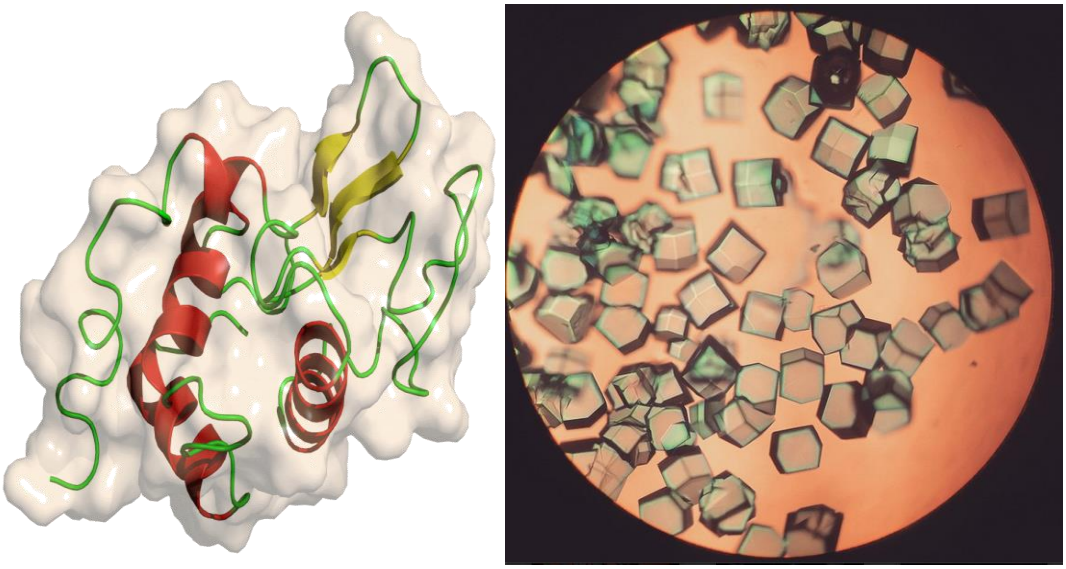
Općenito za laktoferin je utvrđena i jaka **inhibicijska** aktivnost prema gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterijama. Bakterijski rast je inhibiran sposobnošću laktoferina vezanju Fe i istodobnom smanjenju permeabilnosti stanične stjenke vezanjem za lipopolisaharide preko njihovih N-terminalnih ostataka.

2.2.4. Lizozim

Mlijeko kobile i magarice sadrži prilično veliku koncentraciju **lizozima** (0,8 do >-3,0 g kg^{-1}). Za usporedbu koncentracija lizozima u humanom mlijeku je ~ 0,3 g kg^{-1}, a u kravljem ona je tek ~0,7-130 µg kg^{-1}. Koncentracija lizozima u humanom se mlijeku značajno povećava tijekom drugog mjeseca laktacije a to sugerira da lizozim i laktoferin imaju važnu funkciju u sprečavanju infekcija dojenčadi i u zaštiti mliječne žlijezde.

Lizozim je pravi protein s **enzimskom** funkcijom, a u literaturi se spominje i pod imenom muramidaza. U ljudskom organizmu, lizozim se nalazi u stanicama i tkivima poput sluznica usne šupljine, nosa, crijeva, stanica jetra i stanica obrambenog sustava. Odnosno u onim stanicama i tkivima koji su zbog svoje funkcije izloženi djelovanju štetnih tvari. U tim stanicama i/ili tkivima lizozim ima **antimikrobno**, **antiinflamatorno**, **proregenerativno**, **mukoprotektivno**, **imunomodulatorno** i **antialergijsko** djelovanje. Također, zahvaljujući svom enzimskom ali i neenzimskom djelovanju, lizozim ima široko antimikrobno djelovanje na bakterije, viruse i gljivice. Na antimikrobno djelovanje lizozima osobito su osjetljive gram-pozitivne a manjim djelom i neke od vrsta gram-negativnih bakterija. Osim antibakterijskog, lizozim pokazuje i dobra antivirusna (npr. protiv virusa gripe i herpesa) i antimikotična svojstva (npr. protiv gljivice *Candida albicans*). Antiinflamatorno djelovanje lizozima manifestira se njegovom stabilizacijom stanične stjenke koja sudjeluje u upalnoj reakciji čime se sprečava oslobađanje spojeva koji induciraju i potiču upalu koja posljedično tome postaje uzrok oštećenja tkiva.

Lizozim pozitivno djeluje i na proces regeneracije tkiva nakon upala ili kirurških intervencija kroz sudjelovanje u obnovi epitelnih stanica i fibroblasta. Također, lizozim ima i antialergijsko djelovanje u smislu raspoznavanja i poticanju izlučivanja alergena iz organizma što smanjuje alergijske reakcije. Za ilustraciju, slika 6 prikazuje shematsku strukturu građe lizozima i lizozim kristale.



Slika 6.: Shematska struktura građe lizozima (lijevo) i kristali lizozima (desno).

Detalji: kristali lizozima obojeni plavom - izit bojom. (CC BY SA 3,0 i CC BY SA 4,0.)

Lizozim mlijeka kobile i magarice veže **kalcij** čime se povećava stabilnost i aktivnost enzima. Sposobnost vezanja Ca smatra se jednom od evolucijske povezanosti između lizozima koji ne veže kalcij i α-laktalbumina koji ga veže. Konformacija vezanja Ca u formi petlje za lizozim u mlijeku kobile i magarice je slična onoj u kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka. Zbog toga, oba ta proteina formiraju stabilne, djelomično presavijene globule u različitim uvjetima denaturacije. Ipak, lizozim je mlijeka kobile i magarice znatno stabilniji od **α-La**. Osim toga, lizozim mlijeka kobile i magarice **rezistentan** je na kiseline i digestiju proteazama, te dospijeva u crijevo u relativno intaktnom obliku.

Lizozim je u mlijeku magarice prisutan u najmanje dvije varijante (A i B).

2.2.5. Imunoglobulini

Tri skupine imunoglobulina G (**IgG**), A (**IgA**) i M (**IgM**) koji su dio prirodnog sustava obrane organizma od infekcije uobičajeno su prisutni i u mlijeku. Relativna proporcija određene skupine imunoglobulina u mlijeku određena je vrstom.

Tako je **IgG** dominantni imunoglobulin u kolostrumu, a **IgA** u zrelom mlijeku kobile i magarice. U kravljem kolostrumu i zrelom mlijeku dominantni imunoglobulin je **Ig,G**, a u humanom kolostrumu i zrelom mlijeku **IgA**.

2.2.6. Neproteinski dušik

Od ukupnog dušika u mlijeku magarice i kobile **neproteinski dušik** (**NPN**) čini **10-15 %**. Udio neproteinskog dušika u obje je vrste mlijeka značajno viši u odnosu na mlijeko ostalih preživača, a njegova vrijednost nešto je niža od one u humanom mlijeku (20%). Neproteinski dušik čine urea, mokraćna kiselina, kreatin, kreatinin, slobodne aminokiseline, aminošećeri, bioaktivni peptidi, nukleinske kiseline i nukleotidi. Zbog istog sastava **NPN** u humanom mlijeku, ta frakcija, pretpostavlja se, ima visoko nutritivno značenje u prehrani dojenčadi. Koncentracija slobodnih aminokiselina koje su za organizam odmah dostupne apsorpcijom u crijevima, u mlijeku je kobile 1960 µmol L^{-1} i gotovo je trostruko veća od one u kravljem mlijeku (578 µmol L^{-1}). Međutim koncentracija slobodnih aminokiselina u mlijeku kobile ipak je niža od one sadržane u humanom mlijeku (3020 µmo L^{-1}). Glutaminska kiselina (568 µmol L^{-1}) glutamin (485 µmol L^{-1}) serin (175 µmol L^{-1}), treonin (137 µmol L^{-1}) alanin (105 µmol i L^{-1}) glicin (100 µmol L^{-1}) su najviše zastupljene slobodne aminokiseline u mlijeku kobile. **Urea** je u obje vrste mlijeka prisutna u koncentraciji između 20-35 mg 100 g^{-1} i čini približno **40%** koncentracije **NPN**.

2.2.7. Lipidi

Obje vrste mlijeka u usporedbi s kravljim, kozjim i ovčjim imaju jedinstveni sastav lipidne frakcije. Tako mlijeko kobile i magarice karakterizira:

- niža koncentracija kolesterola (5,0-8,8 mg 100 g^{-1} mlijeka)
- viši udjel slobodnih masnih kiselina (10% od ukupnog udjela masti) od kravljeg i humanog mlijeka
- prosječno niži udio triacilglicerola (oko 80%).

Udio ukupnih nezasićenih masnih kiselina približno je isti onom u humanom mlijeku ali ima viši udio polinezasićenih masnih kiselina (**PUFA** , C18 i dulji ugljikovi lanci koji u svom lancu sadrže više od jedan dvostruki vez). Te masne kiseline neophodna su strukturna komponenta svih stanica u humanom organizmu, a organizam ih ne može sintetizirati.

Zbog toga su **PUFA** za humani organizam esencijalne masne kiseline koje imaju važnu biološku funkciju.

Od ukupnih nezasićenih masnih kiselina mlijeko kobile i mlijeko magarice osobito su bogata **linolnom** (C18:2) ili **ω-6** i **α-linolenskom** kiselinom (**ALA**; C18:3-3) ili **ω-3** kiselinama.

Linolenska kiselina je prekursor i polinezasićenih masnih kiselina dužeg ugljikovog lanca poput eikosapentaenske kiseline (**EPA**; C20:3; n-3), dokosaheksaenske kiseline (**DHA**; C22:3; n-3) a linolna - arahidonske kiseline (C24:4; n-6) koje su prisutne u koncentraciji od približno 0,5 g 100 g^{-1} masnih kiselina. Udio **n -3 PUFA** ili - **ω-3** masnih kiselina od ukupno slobodnih masnih kiselina u mlijeku kobile je 8,66-11,97%, a u mlijeku magarice 9,45-9,64%. Omjer između **ω-3** i **ω-6** masnih kiselina je od **0,57 do 1,14** i za humani se organizam smatra gotovo optimalnim (**1 ω-3: 3 ω-6**).

Istraživanja su potvrdila da je linolna kiselina (C18:2) u humanom organizmu prekursor prostaglandina E koji prevenira gastrične ulkuse. Općenito, na temelju tih i istraživanja ostalih bioloških funkcija **PUFA** kiselina, terapijska se svojstva mlijeka kobile i kumisa u liječenju hepatitisa, kroničnih ulkusa i tuberkuloze, vjeruje se, mogu pripisati upravo tim masnim kiselinama. Također, zbog dokazanog utjecaja omega masnih kiselina na razvoj i zaštitu imunosnog sustava, mlijeko kobile i magarice može biti korisna namirnica i za starije osobe.

Udio slobodnih masnih kiselina s nižim udjelom zasićenih masnih kiselina kratkog i dugog ugljikovog lanca (C4: 0; C6:0; C16:0; C18:0) u obje vrste mlijeka odgovara sadržaju tih kiselina u humanom mlijeku.

Na profil slobodnih masnih kiselina u mlijeku kobile i magarice u značajnoj mjeri utječe hranidba i njezina nutritivna vrijednost. U tom smislu, izborom adekvatne hranidbe unaprijed se može odrediti za koju kategoriju potrošača se želi proizvoditi mlijeko. Ipak, pri sastavljanju obroka treba uzeti u obzir da se radi o monogastričnim životinjama i da određena vrsta hrane može promijeniti okus mlijeka. Tako korištenje **svježe silaža** u hranidbi magarica rezultira zelenim okusom mlijeka, a ishrana s većim udjelom topljivih vlakana u obroku povećava udio zasićenih masnih kiselina i smanjuje udjel **ω-6** masnih kiselina.

U usporedbi s mlijekom drugih komercijalnih mliječnih pasmina sastav triacilglicerola (estera masnih kiselina i alkohola glicerola) u mlijeku kobile i magarice ima jedinstven profil.

Triacilgliceroli u mlijeku kobile se sastoje od visoke razine **C44 - C52**, a u mlijeku magarice od **C44 - C55** masnih kiselina. Humano i magaričino mlijeko pokazuju gotovo identičan profil triacilglicerola.

U mlijeku kobile, udio **fosfolipida** je približno 47 mg L^{-1} i uglavnom se sastoje od fosfatidil-kolina (46,9%), sfingomijelina (37%), fosfatidiletanolamina (7,8%) i fosfatidilserina (5,5%). Preliminarni rezultati za mlijeko magarice pokazuju da je udio fosfolipida u mlijeku značajno niži (2,94 mg L^{-1}) i pretežno se sastoji od fosfatidiletanolamina (60%) i fosfatidil-kolina (17,3%). Ukupno, **glikolipidi** su u mlijeku kobile zastupljeni s 9,5 mg L^{-1}, a čine ih glukocerebrozidi (55%) galaktocerebrozidi (26%) i sulfatidi (18,9%). Udio **gangliozida** u mlijeku kobile je prosječno 1,65 mg/L. Općenito, ti lipidi mlijeka pripadaju skupini **polarnih lipida** s približno **60 %** dio su membrane masne globule, a ostatak se nalazi u obranoj fazi mlijeka.

Fosfolipidi su derivati mliječne masti u kojima je jedna masna kiselina zamijenjena fosfatnom skupinom ($PO4^{-}$) i jednom od nekoliko molekula koje sadrže dušik. Uglavnom sastoje se od polinezasićenih masnih kiselina i prisutni su u svim živim stanicama a osobito živčanim stanicama kao komponenta lipoproteina stanične stjenke. Mlijeko kobile i magarice fosfolipidima je bogatije od humanog mlijeka. **Sfingolipidi** su lipidi građeni od: sfingozina (nezasićeni, dugolančani alkohol), dugolančanih masna kiselina, ostataka fosforne kiseline, jedne dušične baze ili oligosaharida. Sfingolipidi su važan sastojak stanične membrane. Udio sfingolipida u mlijeku kobile i magarice sličan je onom u humanom mlijeku (~34% vs 39%) **Glikolipidi** su lipidi u kojima je vodik jedne hidroksilne skupine glicerola zamijenjen ugljikohidratnom molekulom, a preostale dvije esterificirane su masnim kiselinama. Polarni lipidi pokazuju amfifilna svojstva, budući da u svojoj strukturi sadrže hidrofilne i hidrofobne regije. Osim tehnološkog značajna za stabilizaciju emulzije i pjene u preradi mlijeka ti polarni lipidi i njihovi derivati su bioaktivne komponente mlijeka za koje se smatra da osim fiziološke funkcije za humani organizam imaju i bakteriostatika svojstva.

Gangliozidi su ceramidni oligoglikozidi koji sadržavaju jednostavne šećere (glukoza, galaktoza) i acetilirane neuraminske kiseline, a ponekad i aminošećere.

U staničnoj membrani gangliozidi su receptori na kojima se očituje hormonski učinak. Za ilustraciju, udio fosfolipida i sfingolipida u kravljem mlijeku je između 9,4 i 35,5 mg 100 g^{-1}

2.2.8. Laktoza i drugi ugljikohidrati

Udjel laktoze u mlijeku kobile prosječno je **6,2%,** a u mlijeku magarice **7,4%** a to je značajno više od udjela laktoze u mlijeku konvencionalnih mliječnih pasmina životinja (~**4,6%**). Sličan udjel laktoze kao u tim vrstama mlijeka sadržan je u humanom mlijeku (~**7%**). Naime, kao i u drugih vrsta mlijeka, udio laktoze je u obrnutoj korelaciji s udjelom masti i proteina.

Visoki udio laktoze u obje vrste mlijeka ima posebno značenje za **glikemijski indeks** (**GI**). Naime, u prehrambenom smislu **GI** koji se izražava brojevima od **0-100** pokazatelj je koliko brzo hrana koja sadrži ugljikohidratne podiže razinu glukoze u krvi. Hrana bogata ugljikohidratima koja se lako probavlja i izaziva brzo podizanje razine glukoze u krvi je hrana s visokim **GI** (vrijednost je viša od 70). Hrana koja se polako razlaže i osigurava kontinuiranu opskrbu energijom je hranom s niskim **GI** (vrijednost je manja od 55). Hrana s niskim **GI** se tijekom probave razlaže sporije, tako sporije i ujednačeno podiže razinu glukoze u krvi i pomaže u dužem održavanju razine energije.

Glikemijski indeks punomasnog kravljeg mlijeka je nizak (31) a za mlijeko magarice on je visok (~90). Međutim kako mlijeko kobile i magarice istodobno sadrže nisku razinu proteina i masti njegova energetska vrijednost (kcal/kJ) je niska. Energetska vrijednost mlijeka magarice je 36/151kcal/kJ a punomasnog kravljeg mlijeka 64/289 kcal/kJ. Zbog toga se mlijeko magarice kao niskokalorični napitak smatra idealnim brzim izvorom energije za obnovu ugljikohidratnih rezervi nakon fizičke aktivnosti, a osobito je pogodno za sportaše.

Osim laktoze, mlijeko kobile, magarice i humano mlijeko sadrži i druge oligosaharide koji su u 95% slučajeva nerazgradljivi šećeri. Zbog toga oni imaju presudnu funkciju za poticanje rasta bifidobakterija i anti-adhezijski učinak protiv naseljavanja patogenih bakterija u debelom crijevu. Udio oligosaharida u humanom mlijeku je 12-13 g L^{-1}, u kozjem 0,25-0,30 g L^{-1}, a u kravljem njihov udio se bilježi u tragovima. Međutim, sastav oligosaharida u mlijeku kobile istražen je jedino za kolostrum, ali se pretpostavlja da ih u visokoj koncentraciji sadrži i zrelo mlijeko.

U prehrani dojenčadi za razvoj mozga i kognitivnih sposobnosti esencijalan nutrijent je sijalinska kiselina. Humano mlijeko sadrži visoku razinu sijalinske kiseline (kolostrum -1558 mg L^{-1}, prvi mjesec -612 mg L^{-1}; treći mjesec 322 mg L^{-1}).

U zrelom mlijeku kobile koncentracija sijalinske kiseline je 431 mg L^{-1}. Za usporedbu koncentracija sijalinske kiseline u kozjem je 238 mg L^{-1}, a u kravljem mlijeku 62 mg L^{-1}.

2.2.8. Minerali i vitamini

Makroelementi i **mikroelementi** ili **elementi u tragovima** su nutrijenti u mlijeku koji imaju fundamentalno značenje u prehrani djece i djece u odrastanju. Osim toga, minerali poput kalcija (**Ca**) fosfora (**P**) i magnezija (**Mg**) utječu na stabilnost kazeinske micele u mlijeku. U usporedbi s kravljim, kozjim i ovčjim mlijekom koncentracija makroelemenata u mlijeku kobile i magarice je značajno niža, a u usporedbi s humanim mlijekom nešto viša (tablica 8). Omjer između **Ca : P** u mlijeku magarice je niži (~0,93) u usporedbi s mlijekom kobile (~1,72) i kravljim mlijekom (~1,23). Suprotno, omjer **Ca: P** u mlijeku kobile gotovo je jednak onom u humanom mlijeku (~1,7).

U hranjivom smislu **Ca** je odgovoran za veliki broj fizioloških funkcija poput održavanja normalnog srčanog ritma, zgrušavanja krvi, izlučivanja hormona, kontrakcije mišića i aktivacije staničnih enzima. Niže koncentracije natrija (**Na**) u mlijeku kobile i magarice mogu se iskoristiti za favoriziranje potrošnje tih vrsta mlijeka za osobe s kardiovaskularnim problemima i osobe koje pate od visokog tlaka.

Tablica 8: Koncentracija makroelemenata u kravljem, kozjem i ovčjem mlijeku, mlijeku kobile i magarice i u humanom mlijeku (mg 100g $^{-1}$)

Makroelement	Krave	Koze	Ovce	Kobile	Magarice	Humano mlijeko
Kalcij	107-133	106-192	136-200	5,0-13,0	3,3-11,4	2,78
Fosfor	63-102	92-148	80-145	2-12	3,20-6,5	1,4
Magnezij	9-16	10-21	8-19	4,0-11,0	4,0-8,3	3,5
Kalij	144-178	135-235	174-190	3,0-8,0	2,4-7,4	5,3
Natrij	40-58	34-50	29-31	16,7-20,0	10,0- 26,8	3,72-5,34

(Prema: Jennessu, 1980., Parku i Chukwu, 1988., 1989., Coniju i sur., 1999., *Deutchen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie*, 2012., Salimei i Fantuz, 2012.)

Koncentracija **makroelemenata** u mlijeku značajno se razlikuje od njihove koncentracije u krvi. Naime, djelovanjem natrijsko kalijeve pumpe u stanicama fiziološki se regulira osmotski tlak između citoplazme stanica krvi i mliječne žlijezde. Općenito, fiziološko održavanje osmotske ravnoteže između krvi i vimena je značajno za održavanje zdravlja vimena i u pozitivnoj je korelaciji s količinom proizvedenog mlijeka. Hranjiva vrijednost makroelemenata temelji se na njegovoj koncentraciji u mlijeku i međusobnoj interakciji između pojedinačnih elemenata.

Kalcij je odgovoran za veliki broj fizioloških funkcija poput održavanja normalnog srčanog ritma, zgrušnjavanja krvi, izlučivanja hormona, kontrakcije mišića i aktivacije staničnih enzima. **Kalij** je jedan od najvažnijih unutarstaničnih kationa za normalno funkcioniranje svih stanica, tkiva i organa u ljudskom tijelu. Također s Na, Cl, Ca i Mg ima ulogu elektrolita, supstance koja upravlja tjelesnim elektricitetom. Zbog toga, unutar stanica koncentracija je kalija 30 puta veća od njegove koncentracije u izvanstaničnim tjelesnim tekućinama. Izvanstanični kalij je važan za fiziološke funkcije organizma, poput prijenosa živčanih impulsa, kontrakciju mišića i održavanje krvnog tlaka. Nadalje, utvrđeno je da unos kalija ima pozitivan učinak i na čvrstoću kostiju. Tako na primjer, unosom alkalnih kalijevih soli (kalij bikarbonat) u organizam zdravih odraslih osoba značajno se reducira izlučivanje kalcija u urin, čak i u slučaju prekomjernog unosa kuhinjske soli.

Za razliku od ostalih minerala, koncentracija kalija u kolostrumu je niža nego u mlijeku. Međutim, odmah nakon završetka izlučivanja kolostruma, koncentracija se kalija povećava. Koncentracija kalija u mlijeku nije ovisna o unosu kalija hranom. Međutim, njegova je koncentracija u svim vrstama mlijeka obrnuto proporcionalna udjelu laktoze u mlijeku.

Koncentraciju **magnezija** u kolostrumu je dva do tri puta veći nego u zrelom mlijeku. Nakon prvog do trećeg dana laktacije koncentracija magnezija poprima svoju standardnu vrijednosti Također, koncentracija magnezija u mlijeku nije ovisna o unosu s hranom. Studije metaboličke ravnoteže su pokazale da laktoza pospješuje apsorpciju magnezija u organizmu. Magnezij ima važnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima poput metabolizam proteina i nukleinskih kiselina, neuromišićnom prijenosu i mišićnoj kontrakciji, rastu kostiju i regulaciji krvnog tlaka. Također, magnezij je kofaktor mnogih nativnih staničnih enzima. Nedostatak magnezija može biti uzrokom osteoporoze kostiju. Međutim, malo je provedenih istraživanja o biodostupnosti magnezija iz mlijeka u ljudskom organizam.

Natrij je glavni kation u izvanstaničnim tekućinama organizma. On je važan regulator osmotskog tlaka, kiselo-bazne ravnoteže, te membranskog potencijala stanica za aktivni transport tvari kroz staničnu membranu. Natrijev klorid je najvažniji izvan stanični anion koji je odgovoran za održavanje ravnoteže elektrolita. Kao i na primjeru kalija, koncentracija natrija u negativnoj je korelaciji s udjelom laktoze u mlijeku. Naime, monovalentni ioni Na, K i Cl u mlijeko se izlučuju drugim mehanizmom, te njihova koncentracija raste ili se snižava u odnosu na udjel laktoze koja se sintetizira u mliječnoj žlijezdi.

Za humani organizam **fosfor** je važan makroelement koji sudjeluje u svim vitalnim funkcijama. U formi fosfolipida najznačajniji je strukturni element svih staničnih membrana. Kao sastavni dio DNA i RNA nukleinskih kiselina, fosfor je uključen u pohranu i prijenos genetskog materijala. Također, sastavni je dio osnovne energetske jedinice ATP-a preko koje se u reakcijama fosforilacije i defosforilacije regulira stanična aktivnost enzima, koenzima i hormona. Fosfor je osnovna komponenta i mnogih bioloških molekula uključivo i lipida, proteina i ugljikohidrata. U obliku organskog ili anorganskog fosfata, fosfor je prisutan u svim tjelesnim tkivima i tekućinama, te je kao dio mono-di-baznog fosfatnog pufera odgovoran za pH ravnotežu krvi. S kalcijem u obliku kalcijevog fosfata, fosfor je najvažnija strukturna komponenta kosti i zuba. Nasuprot tome, prekomjeran unos fosfora sa smanjenim unosom kalcija ima negativan utjecati na kosti.

Koncentracija **mikroelemenata** ili **elemenata u tragovima** koji imaju nutritivnu vrijednost, poput cinka (Zn), željeza (Fe), bakra (Cu), joda (J), fluora (F) i selena (Se) u mlijeku svih vrsta domaćih mliječnih pasmina životinja uključivo kobile i magarice je relativno niska. Većina svih ostalih elemenata u tragovima poput, molibdena (Mo), mangana (Mn) ili kroma (Cr) u mlijeku je prisutna u još daleko nižim koncentracijama. Koncentracija Zn i Fe u mlijeku slična je za mlijeko kobile i magarice, ali koncentracija Cu je viša u mlijeku kobile. U usporedbi s kravljim, mlijeko kobile i magarice sadrži više koncentracije Fe, ali niže Zn i Mn. Koncentracije Fe, Zn i Cu u mlijeku kobile su slične ili više od onih u humanom mlijeku. Koncentracija nekih od tih elemenata u mlijeku može se povećati hranidbom, primjerice za Se. Suprotno, na koncentraciju Cu i Fe hranidba nema utjecaja, osim u slučajevima njihove ekstremne insuficijencije u obroku. Općenito, o distribuciji elemenata u tragovima unutar pojedinih frakcija mlijeka malo se zna. Međutim, zna se da je dio mikroelemenata povezan s proteinima poput, Fe s laktoferinom, te da su približno 10 % Cu i gotovo polovica od ukupne količine Fe vezani na membranu masnih globula. Također, za Zn je utvrđeno da je u mlijeku dominantno vezan za koloidni fosfat. Mikroelementi poput Zn, Fe, Se, J i Cu imaju nutritivnu vrijednost, a Cu i Mn i tehnološku. U tehnološkom smislu, Cu je važan element u oksidaciji masti, a Mn u metabolizmu određenih bakterija mliječne kiseline osobito onih koje imaju sposobnost metabolizma citrata u mlijeku. No, u najvećoj mjeri svi ostali mikroelementi u mlijeku su prisutni u otopljenom obliku.

Prosječna koncentracija elemenata u tragovima u ovčjem, kozjem i kravljem mlijeku, mlijeku kobile i magarice i humanom mlijeku sadržana je u tablici 9. Tijekom laktacije koncentracija pojedinih mikroelemenata u mlijeku nije stalna, već je u manjoj ili većoj mjeri određena vrstom i pasminom životinje, te okolišnim uvjetima. Suprotno, neovisno o vrsti i pasmini koncentracija određenih mikroelemenata u mlijeku posljedica je koncentracije tih elemenata u tlu i stočnoj hrani koja se značajno razlikuje između i unutar različitih zemljopisnih područja. Biološka dostupnost mikroelemenata iz mlijeka kobile i magarice do sada je nedovoljno istražena. Međutim, zbog značajno viših koncentracija Fe koji je esencijalni za mnoge fiziološke funkcije ljudskog organizma u usporedbi s kravljim i kozjim mlijekom, velika je vjerojatnost njegovog povoljnijeg utjecaja na ljudsko zdravlje.

Željezo je esencijalni element u tragovima koji sudjeluje u katalitičkim reakcijama u više metaboličkih funkcija organizma. Kao komponenta hemoglobina, mioglobina, citokroma i drugih proteina, željezo ima važnu ulogu u transportu, pohrani i korištenju kisika.

Također, Fe u organizmu ima ulogu kofaktora za aktivnost mnogih staničnih enzima. Nedostatak željeza u humanom organizmu je jedan od najčešćih zdravstvenih problema koji se javljaju u novorođenčadi i dječjoj dobi zbog njihovog brzog rasta i premalog unosa željeza hranom. Taj se problem za dojenčad uobičajeno prevenira dodatkom željeza u dječje mliječne zamjene koje u svom sastavu sadrže askorbat koji povoljno djeluje na apsorpciju željeza u organizmu.

Cink je vrlo važan za rast, seksualni razvoj i zacjeljivanje rana, te za normalno funkcioniranje imunosnog sustava i drugih fizioloških procesa u organizmu. On je komponenta hormona inzulina i pomaže u funkcioniranju velikog broja drugih hormona koji su važni za reprodukciju kao i za sintezu DNA, RNA i proteina. Cink je također značajan kofaktor za djelovanje mnogih staničnih enzime koji sudjeluju u većini metaboličkih procesa.

Mangan je specifični kofaktor enzima uključenog u sintezu mukopolisaharida i nespecifični kofaktor mnogih drugih staničnih enzima poput arginaze, glutamin sintetaze, fosfoenolpiruvat dekarboksilaze i mangan superoksid dismutaze. U dovoljnim količinama Mn je prisutan u svim vrstama hrane, te nije zabilježen njegov nedostatak u ljudskom organizmu kao uzrok nekog poremećaja ili bolesti. Mangan unesen hranom u organizam uspješno se apsorbira svega 3 do 5 %, dok se ostatak Mn fecesom izlučuje iz tijela. Povećanjem mangana u hranidbi životinja tijekom dužeg perioda može se povećavati njegova koncentracija u mlijeku. Koncentracija mangana u mlijeku nije ovisna o starosti životinje i laktacijskom periodu.

Bakar je esencijalan element važan za apsorpciju željeza, te sudjeluje kao kofaktor enzimima uključenim u metabolizam glukoze i sintezu hemoglobina, vezivnog tkiva i fosfolipida. Koncentracija bakra u mlijeku se smanjuje u prva 3 dana laktacije za 50 %, ali, za razliku od željeza i cinka, dodatkom bakra u hranidbi životinja njegov sadržaj u mlijeku se povećava. O udjelu apsorbiranog bakra unesenog mlijekom ili mliječnim proizvodima u humani organizam ima vrlo malo podataka. Pokusi na štakorima su pokazali apsorpciju Cu od 83 % iz humanog mlijeka, 76 % iz kravljeg i 86 do 87 % iz mliječnih dječjih zamjena. Zbog sličnosti mlijeka kobile i magarice humanom mlijeku može se pretpostaviti da je adsorpcija bakra u organizmu bolja u usporedbi s kravljim mlijekom.

Tablica 9.: Koncentracija željeza, bakra, mangana i cinka u kravljem, kozjem i ovčjem mlijeku, mlijeku kobile i magarice i u humanom mlijeku (µg 100g)

Mikroelement	Krave	Koze	Ovce	Kobile	Magarice	Humano mlijeko
Željezo	30-40	36-75	62-100	22-146	43-264	72
Bakar	2-30	11	11-88	2-100	0,8-3	2-4
Mangan	1,3-4,0	5,5	5,3	0,1-0,5	u tragovima	0,03-0,06
Cink	74-145	242	415	9-64	123--319	10-30

Prema: Jennessu, 1980., Parku i Chukwu, 1988., 1989., Coniju i sur., 1999., *Deutchen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie*, 2012., Salimei i Fantuz, 2012.)

Raspoloživih podataka za koncentraciju vitamina u mlijeku kobile i magarice relativno je malo. Međutim utvrđena je viša koncentracija askorbinske kiseline, ali i niža koncentracija vitamina A i E u mlijeku kobile od one u humanom mlijeku. Niže koncentracije vitamina topljivih u mastima povezane su s nižim udjelom masti u mlijeku kobile. Sukladno tome, koncentracija vitamina topljivih u mastima još je niža u mlijeku magarice koje sadrži niži udjel mliječne masti u usporedbi s mlijekom kobile. Mlijeko magarice prema dostupnim podatcima sadrži višu koncentraciju vitamina B_{12}, ali je koncentracija vitamina B_3 upola niža od one u mlijeku kobile i one u humanom mlijeku. Za usporedbu koncentracije vitamina topljivim u vodi i mastima za kravlje, kozje i ovčje mlijeko, mlijeko kobile i magarice i humano mlijeko prikazane su u tablici 10.

Tablica 10.: Koncentracija vitamina topljivih u vodi i mastima u kravljem, kozjem i ovčjem mlijeku, mlijeku kobile i magarice i u humanom mlijeku

	Krave	Koze	Ovce	Kobile	Magarice	Humano mlijeko
Vitamini topljivi u masti						
A						
Retinol (mg)	0,04	0,04	0,08	0,093	0,017	0,3-0,7
D **(µg)**	0,08	0,06	0,18	0,003	-	0,0004
E						
Tokoferol (mg)	0,11	0,04	0,11	0,26-1,13	0,051	3-8
Vitamini topljivi u vodi						
B_1						
Tiamin (mg)	0,04	0,05	0,08	0,30	0,41	0,15
B_2						
Riboflavin (mg)	0,17	0,14	0,35	0,37	0,64	0,4-06
B_3						
Niacin (mg)	0,09	0,20	0,42			
B_5						
Pantotenska kiselina (mg)	0,34	0,31	0,41	3,0		2,7
B_6						
Piridoksin (mg)	0,04	0,05	0,08	0,30		0,14
B_{12}						
Kobalamin (µg)	0,35	0,06	0,71	0,003	1,0	0,50

(Prilagođeno prema Raynal-Ljutovcu i sur., 2008, Salimei i Fantuz, 2012.)

3. Mlijeko kobile i magarice u humanoj prehrani

Mlijeko se kobile i magarice zbog svoje osobitosti već tisućljećima koriste u humanoj prehrani osobito u zamjeni za kravlje mlijeko ili kao hrana s povećanom zdravstvenom vrijednošću. Temeljeno na novim znanstvenim spoznajama o kvaliteti mlijeka kobile i magarice, posljednjih godina povećan je interes za tim vrstama mlijeka u svojstvu nekonvencionalnih izvora funkcionalne hrane za osjetljive potrošače poput osoba koje pate od alergija i za starije osobe.

3.1. Funkcionalna hrana

Prema općeprihvaćenoj definiciji: Funkcionalna je hrana ona koja osim osnovnog hranjivog utjecaja sadrži i komponente koje se smatraju promotorima zdravlja, ili opće dobrobiti, ili smanjenja rizika za nastanak bolesti djelovanjem na jednu ili više funkcija u tijelu. Također, pojam funkcionalna hrana obuhvaća i sljedeće postulate:

- mora "ostati" hrana
- mora imati povoljno djelovanje u količini koja se normalno očekuje u redovitoj prehrani
- nisu kapsule ili tablete.

Proteini kravljeg mlijeka uzrok su alergija u 3% djece u prve tri godine života, ali alergija na te proteine može ostati i tijekom cijelog života. Zbog tog se saznanja povećao interes za alternativnim izvorima hrane za djecu koja imaju problema s konzumacijom kravljeg mlijeka. Uobičajeno za te potrebe na tržištu postoje mliječne zamjenice koje sadrže sojine proteine ili se one sastoje od hidroliziranih proteina kravljeg mlijeka. Međutim, u određenim slučajevima djeca odbacuju tako dizajnirane mliječne zamjenice zbog fizioloških reakcija ili zbog neprihvatljivog okusa. Kliničke studije pokazuju da u slučajevima adekvatne supstitucije masti i energije, mlijeko kobile i magarice postaju dobar izvor alternativne hrane za djecu koja pate od alergije na kravlje mlijeko.

Tako su alergična djeca hranjena mlijekom magarice u količini od 210-250 mL/kg tjelesne težine/dan koje je sadržavalo 4 mL biljnog ulja /100 mL potvrdila dobro fizičko i psihičko napredovanje. Osim toga, u djece slatki okusa tih vrsta mlijeka povećava njegovu prihvatljivost.

Za prihvatljivost mlijeka kobile i magarice u prehrani alergične djece na kravlje mlijeko povoljan je i omjer između kazeina i proteina sirutke (**1-1,5:1**) koji je sličan onome u humanom mlijeku. Naime, upravo omjer između tih proteina u kravljem mlijeku smatra se jednim od mogućih uzroka alergije. Odnosno, djeca koja toleriraju mlijeko kobile i magarice ne toleriraju niti kozje niti ovčje mlijeko u kojima je omjer kazein : proteini sirutke **3-4 : 1**. Također između proteina kazeina, **β-CN** kravljeg mlijeka smatra se glavnim uzrokom alergija u djece. U tom smislu, mlijeko kobile i magarice zbog različitog omjera pojedinačnih proteina u kazeinskoj miceli sličnog onom u humanom mlijeku imaju komparativnu prednost pred kravljim mlijekom. Postotni odnos homolognosti između pojedinačnih proteina kravljeg, mlijeka kobile i magarice s pojedinačnim proteinima humanog mlijeka prikazan je u tablici 11. Gastrointestinalna probava i sama po sebi može imati utjecaj na alergijska svojstva mlijeka. U *in vitro* pokusima utvrdilo se da nakon 60 min probave najbolju probavljivost imaju kazeini, slijede laktoferin i proteini seruma sadržani u mlijeku kobile, magarice, humanom i kravljem mlijeku. Međutim, postotak nerazgrađenog **β-CN** je otprilike samo polovica u usporedbi s kravljim **β-CN**. Zbog toga se smatra, da je preko crijevne mukoze potencijalno i niža vjerojatnost adsorpcije tog alergena.

Tablica 11: Udjel homolognosti pojedinačnih proteina kravljeg mlijeka, mlijeka kobile i magarice s pojedinačnim proteinima humanog mlijeka

Protein/vrsta mlijeka	Humano mlijeko
	%
α_{s1}- kazein	
kravlje	**29**
mlijeko kobile	**44**
mlijeko magarice	**60**
β- kazein	
kravlje	**53**
mlijeko kobile	**60**
mlijeko magarice	**Nema podataka**
κ – kazein	
kravlje	**12**
mlijeko kobile	**57**
mlijeko magarice	**Nema podataka**
β-laktoglobulin	
kravlje	**51**
mlijeko kobile	**59**
mlijeko magarice	**57**
α –laktalbumin	
kravlje	**19**
mlijeko kobile	**72**
mlijeko magarice	**72**
albumini seruma	
kravlje	**6**
mlijeko kobile	**74**
mlijeko magarice	**74**

(Prilagođeno prema Uniacke Loweu i sur., 2010 i Salimeiju i Fantuzu, 2012 .)

Znanstvene studije o povoljnom preventivnom ili terapijskom djelovanju mlijeka kobile i magarice i na druge humane bolesti još uvijek nisu u potpunosti relevantne. Ipak, mlijeko kobile koristi se u liječenju kroničnog hepatitisa, želučanih ulkusa, anemija i nefritisa.

U tretiranju tuberkuloze konzumacija mlijeka kobile povećava broj eritrocita i limfocita u krvi. Mlijeko se kobile za dopunu medicinskom liječenju sve više koristi u tretiranju psorijaze i različitih oblika dermatitisa. Sirovo ili fermentirano mlijeko kobile pokazalo se dobrim i u tretiranju probavnih smetnji. Naime, kazein mlijeka kobile tvori mekši koagulum koji napušta želudac unutar 2 sata. Istodobno kazein iz kravljeg mlijeka tvori čvrsti koagulum koji napušta želudac za 3-5 sati. Mlijeko magarice pokazalo se pogodnim u prevenciji arterioskleroze i povećanju imunosnog odgovora u starijih osoba. U tom smislu, nizak udio masti i nutritivno relevantan udio slobodnih masnih kiselina te niski arterogenični (~0,80) i trombogenični (0,32) učinak podupire ideju za konzumacijom mlijeka magarice u starijih osoba.

3.1.1. Bioaktivni sastojci

Uz nutritivnu vrijednost mlijeko općenito sadrži i spojeve koji iskazuju biološku aktivnost. Osim što postaju izvor aminokiselina ako se razgrade, intaktne ili djelomično razgrađene proteinske i neproteinske komponente mogu imati različitu biološku ulogu poput:

- poticanja razgradnje i korištenja mikro i makro nutrijenata
- obrane protiv patogenih bakterija i virusa
- imunomodulacije, metabolizma i regulacije rasta.

Između proteina koji pokazuju antimikrobnu aktivnost, mlijeko kobile i magarice sadrže visoku koncentraciju **lizozima** (1-4 g L^{-1}) i **laktoferina** (~2 g L^{-1}). Lizozim obje vrste mlijeka je stabilan na djelovanje topline, razgradnju kiselinama, proteazama ili gastrointestinalnih enzima. Antimikrobna aktivnost mlijeka magarice je i rezultat oslobođenih peptida tijekom razgradnje proteina mlijeka u gastrointestinalnom sustavu. Tako je utvrđeno da jedan peptid (derivat β-kazeina) s inhibitorom angiotenzin konverzijskih enzimima (**ACE**) stimulira razgradnju mlijeka magarice u organizmu. Također, studije *in vitro* su potvrdile da mlijeko magarice sadrži komponente koje imaju antiproliferacijsku i antitumorsku aktivnost.

Mlijeko kobile i magarice sadrže i bioaktivne komponente slične humanim faktorima rasta i hormonima.

Tako je leptin (3,35-5,32 ng mL^{-1}) utvrđen u obje vrste mlijeka. Inzulinu sličan faktor rasta 1 (9,81-13,50 ng mL^{-1}) i trijodotirozin (4,0 ng mL^{-1}) utvrđen je jedino u mlijeku magarice. Te molekule značajne su u regulaciji hranjenja dojenčadi, metabolizmu i uspostavljanju dobre tjelesne kondicije. Ipak, za potpuno prihvaćanje te tvrdnje potrebna su *in vivo* testiranja.

3.2. Standardi i kontrola kvalitete

Osim saznanja o nutritivnoj ili biološkoj kvaliteti mlijeka kobile i magarice za korištenje u humanoj prehrani ona moraju biti higijenski i zdravstveno ispravna. Prema podatcima utvrđen ukupan broj bakterija u tim vrstama mlijeka odmah nakon mužnje je između 250 i 740 000 cfu mL^{-1}. Prilično velika razlika u ukupnom broju bakterija dobar je pokazatelj da se tijekom mužnje i nakon mužnje treba u manipulaciji s mlijekom pridržavati dobre higijenske prakse. Poput svih ostalih vrsta mlijeka i te vrste mlijeka dobar su medij za rast i razmnožavanje različitih vrsta mikroorganizama uzročnika kvarenja i patogenih bakterija. Od patogenih bakterija iz mlijeka kobile i magarice izolirane su sljedeće bakterijske vrsta: *Staphylococcus aureus*, *Escerichia coli*, *Rhodococcus equi*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *Mycobacterium avium*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium dificile*, te *Brucella* vrste. Na sreću, prema dosadašnjim saznanjima izrazito za čovjeka patogene bakterije *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes* iz mlijeka kobile i magarice nisu izolirane.

Prema EU propisima o sigurnosti sirovog mlijeka u prometu (EC 852 i 853/04) zemlje članice se moraju pridržavati tih općih i specifičnih zahtjeva definiranih nacionalnim propisima i za mlijeko kobile i magarice. Premda ne postoji određeni standard za higijensku kvalitetu mlijeka magarice ono se u praksi smatra higijenski ispravnim ako sadrži ukupan broj bakterija između 25 000 do najviše 500 000 cfu mL^{-1}. Limit za broj somatskih stanica u mlijeku magarice još nije utvrđen. Jednako kao i za sva sirova mlijeka namijenjena za direktnu humanu potrošnju i ostali mikrobiološki kriteriji definirani Uredbom (EC) 1441/o7 vrijede i za sirovo mlijeko kobile i magarice . Također, u proizvodnji tih vrsta mlijeka zahtjeva se plan kontrole bruceloze na farmama.

Ipak, zbog izrazito malog broja proizvođača mlijeka kobile i magarice, mikrobiološki rizik od konzumacije sirovog mlijeka ako se ono pohranjuje na temperaturi od 4°C u trajanju od najviše 3 dana i konzumira odmah nakon zagrijavanja je značajno manji.

U ovom kontekstu važno je istaknuti i činjenicu da se neke od funkcionalnih komponenti koje su prirodno prisutne u tim vrstama mlijeka ireverzibilno oštećuju tijekom toplinske obrade. Prvenstveno, toplinska obrada mlijeka kobile i magarice se koristi iz sanitarnih razloga ili zbog produžavanja vremena njegove održivosti. Za ilustraciju, zagrijavanjem mlijeka magarice na temperaturu od 90°C/ 1 min značajno se mijenja njegov dušični profil. Osim toga, između u mastima topljivih nutrijenata koncentracija **α-tokoferola** (vitamin E) progresivno se snižava s povećanjem temperature i vremena toplinske obrade mlijeka. Tijekom toplinske obrade povećava se aktivnost **nativnih lipaza** te može doći i do oksidacije nezasićenih masnih kiselina. Nakon zagrijavanja mlijeka magarice na temperaturi od 90°C/ 1 min molekularni marker **furozin** (ε- N-2-furolmetil- L-lizin) je približno 112,9 mg 100 g^{-1} proteina. Inače furozin se smatra dobrim pokazateljem termalnih oštećenja i promjena tijekom pohrane. Tako je primjerice koncentracija furozina značajno viša od one utvrđene za toplinsku obradu mlijeka na temperaturi od 90°C/ 1 min ako se mlijeko kobile suši raspršivanjem (180-200°C/1s). Također u osušenom mlijeku kobile utvrđena je značajno niža koncentracija retinola (vitamin A), dok je koncentracija vitamina D i vitamina C manje podložna promjenama tijekom sušenja.

Udio **lizina** u osušenom mlijeku kobile je niži od njegovog udjela u sirovom ili zamrznutom mlijeku. Uzimajući u obzir namjenu te dvije vrste mlijeka u humanoj prehrani od presudne je važnosti optimizirati tehnološke procese i uvjete pohrane.

4. Fermentirana mlijeka

Za razliku od ostalih komercijalnih vrsta mlijeka zbog slabe sposobnosti zgrušavanja dodatkom kimozina od mlijeka kobile i magarice sir se u načelu ne proizvodi. Međutim od mlijeka kobile tradicionalno se proizvodi fermentirano mlijeko – **kumis.** To fermentirano mlijeko je važna hrana za stanovništvo centralne Azije i stanovništvo zemalja bivšeg SSSR-a. No, zbog naglog porasta interesa za te vrste mlijeka u humanoj prehrani, sadašnja istraživanja su usmjerena i na razvitak novih vrsta fermentiranih mlijeka i pronalaženje novih metoda za produženje njihove održivosti na policama. Utvrđena relativno visoka toplinska stabilnost tih vrsta mlijeka važan je tehnološki podatak u dizajniranju novih proizvoda. Proteini sirutke mlijeka kobile i magarice su značajno stabilniji na djelovanje visokih temperatura od onih sadržanih u kravljem mlijeku. Primjerice, toplinska obrada mlijeka na temperaturi od 80°C/80 s uvjetuje samo 10-15% smanjenja neproteinskog dušika (**NPN**), a značajnije sniženje **NPN** događa se tek ako je temperatura viša od 100°C.

4.1. Kumis

Kumis poput kefira pripada skupini tradicionalnih fermentiranih mlijeka koje su od mlijeka kobile u dalekoj prošlosti (prvi put ga spominje Herodot u 5. stoljeću pr. Krista) vjerojatno prvi počeli proizvoditi nomadi iz središnje Azije. Zna se i da je kumis u 7. stoljeću pod imenom **airag**, **arrag**, **irag**, **chige** ili **chigo** bio osobito popularan proizvod na području današnjeg Kazahstana i Kirgistana i u Mongoliji a u Tibetu i zapadnim područjima Kine pod imenom **ma tung**. Naziv kumis, kako se pretpostavlja, izveden je od imena plemena Kumanes koje je obitavalo na području rijeke Kuma u azijskim stepama, ali može biti i tatarskog podrijetla.

Primarno za terapeutske svrhe kumis se od mlijeka kobile na tradicionalan način u ograničenim količinama danas proizvodi uglavnom u zemljama bivšeg SSSR-a i nešto u Njemačkoj. Suprotno, za terapeutske svrhe industrijski proizveden kumis koriste sanatoriji u Kazahstanu, Kirgistanu i na Krimu u količini između 100 000 i 2 milijuna litara godišnje. Terapijska doza u liječenju bolesti poput gastrointestinalnih ili tuberkuloze ali i drugih bolesti je 1,5 L za odrasle a za djecu 0,4-0,8 L dnevno.

U Mongoliji je kumis ili airag nacionalno fermentirano mlijeku velikog socijalnog značenja s godišnjom potrošnjom od 50 L/stanovniku. Godišnje Mongolija proizvede oko 13,5 milijuna litara airaga.

Osnovni je kemijski sastav kumisa: ~ **90 %** vode, **2,1 %** proteina (od toga 1,2 % kazeina i 0,9 % proteina sirutke), **6,4 %** laktoze i **1,8 %** masti. Boja kumisa je mliječno sivkasta, konzistencija pitka, pjenasta - bez koagulacije (slika 7.) a okus oštro alkoholno-kiseli. Nakon završene fermentacije kumis sadrži: mliječnu kiselinu **~ 0,5 - 1,7 %**, etanol ~ **1,0 - 2,5 %** i mjerljivu koncentraciju **CO_2**.



Slika 7.: Izgled teksture kumisa. (CC BY -SA 3,0.)

Detalji: na slici se jasno vidi da kumis ima pitku konzistenciju bez oblikovane gel-strukture karakteristične za sva ostala fermentirana mlijeka.

4.1.1. Mikrobna populacija kumisa

Slično kefiru, fermentaciju mlijeka kobile u proizvodnji kumisa uzrokuju različite vrste bakterija mliječne kiseline (**BMK**) i kvasci. Kultura za kumis, za razliku od kulture za kefir, nema strukturu zrna (granula). Mikrobna populacija kumisa visoko je varijabilna i znatno određena područjem podrijetla kumisa. Tako je iz kumisa koji se proizvodi u Kazahstanu izoliran kao dominantan mikroorganizam - kvasac *Saccharomyces unisporus,* koji fermentira galaktozu ali ne i laktozu. Zbog toga je fermentacija mlijeka u odnosu na *Saccharomyces cerevisiae* koji je izoliran kao dominantan kvasac u kumisu iz nekih drugih područja, spora. Uz etilni alkohol djelovanjem *Saccharomyces unisporus* stvaraju se glicerol, jantarna i octena kiselina koji mogu biti i uzrok atipičnog okusa kumisa. Iz kumisa koji se proizvodi u Mongoliji i Kini izolirane su 43 različite vrste **BMK** a dominantnu populaciju kumisa čini vrsta *Lactobacillus curvatus* i podvrste **BMK** *Lactobacillus paracasei* (subsp. *paracasei* i subsp. *tolerans*). Od izoliranih kvasaca dominantne vrste su *Kluyveromyces marxianus* subsp. *lactis* i *Candida kumis.*

Prema današnjim saznanjima mikrobna populacija kulture za kumis, premda nije u potpunosti definirana, može se sastojati od sljedećih bakterijskih vrsta bakterija mliječne kiseline:

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus salivarius*
- *Lactobacillus buchneri*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus helveticus*
- *Lactobacillus fermentum*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus paracasei* subsp. paracasei i subsp. *tolerans*
- *Lactobacillus curvatus*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactococcus lactis.* subsp. *cremoris*.

Ovisno o podrijetlu, **BMK** u kumisu su prisutne s različitim udjelom zastupljenosti pojedinačnih vrsta. Temeljeno na morfološkim, biokemijskim i molekularnim studijama utvrđeno je da mikrobiota kumisa/airaga sadrži i bakterijske sojeve koji za humani organizam imaju potencijalni probiotički učinak. Tako su između ostalog izolirani i novi probiotički bakterijski sojevi poput *L. casei* Zhang i soj koji pripada bifidobakterijama - *Bifidobacterium mongolinese* .

Od laktoza fermentativnih kvasaca prisutnih u kumisu identificirano ih je više od **20** vrsta. Ipak dominantne vrste su: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kumis*, *Torula kumis* i *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus* te *Kluyveromyces marxianus* subsp. *lactis*. Iz kumisa izolirani laktoza nefermentativni kvasci pripadaju vrstama: *Saccharomyces cartilaginosus*, *Saccharomyces unisporus* i *Mycoderma* spp. Za razliku od *S. cartilaginosus* i *S. unisporus* koji ne fermentiraju laktozu kvasci *Mycoderma* spp. ne fermentiraju niti jedan šećer prisutan u mlijeku kobile.

Uzimajući u obzir činjenicu da se mikrobiota kumisa razlikuje ovisno o podrijetlu njegove proizvodnje i dostupnim podatcima može se općenito prihvatiti da su dominantne mikrobne vrste kumisa sljedeće:

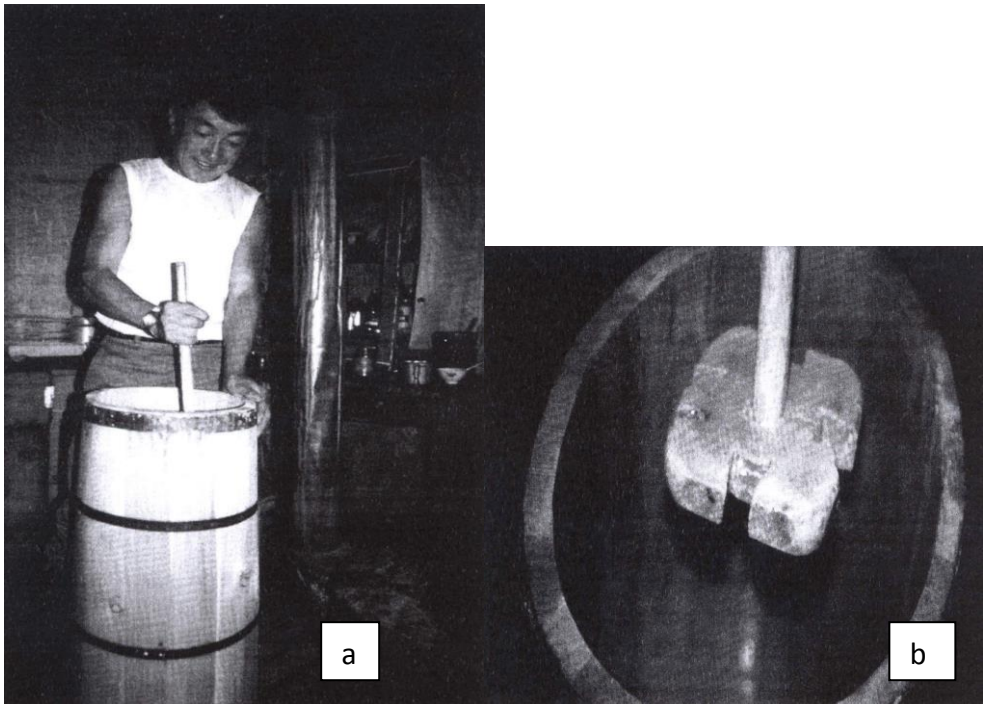
- **laktobacili** (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *L. acidophilus*),
- **laktoza fermentativni kvasci** (*Saccharomyces* spp., K. *marxianus* var. *marxianus* i *Candida kumis*)
- **laktoza nefermentativni kvasac** (*Saccharomyces cartilaginosus*)
- **šećer nefermentativni kvasci** (*Mycoderma* spp.).

Tipičan **kumis** sadrži oko **5×10^7 cfu mL^{-1} BMK** i oko **$1{,}5 \times 10^7$ cfu mL^{-1} kvasaca**.

4.2. Tehnologija proizvodnje kumisa

4.2.1 Tradicionalni način proizvodnje

Kumis se za razliku od ostalih fermentiranih mlijeka proizvodi isključivo od mlijeka kobile. U početcima proizvodnje kumisa, sirovo mlijeko kobile stavljalo se u konjsku kožu konzerviranu dimljenjem koja je sadržavala mikrobnu populaciju od prijašnje fermentacije mlijeka. Tradicionalnim načinom proizvodnje kumisa danas se umjesto kože za fermentaciju mlijeka koriste drvene posude. U drvene posude (slika 8 a) koje sadrže fermentirano mlijeko od prethodnog dana ulije se svježe mlijeko da se potakne nova fermentacija. Slijedi snažno miješanje fermentacijskog mlijeka tijekom jednog sata drvenom miješalicom koja je oblikom slična stapu za proizvodnju maslaca (slika 8 b). Miješanjem se ubacuje zrak u fermentacijsko mlijeko radi stvaranja uvjeta za rast kvasaca. Naime, količina alkohola i kvaliteta gotovog proizvoda velikim su dijelom određeni količinom prisutnih kvasaca. Tako razina **alkohola** u kumisu primjerice može biti između **0,5 i 2,2 g 100 mL^{-1}**. Fermentacija kumisa na nižim sobnim temperaturama traje nekoliko sati.



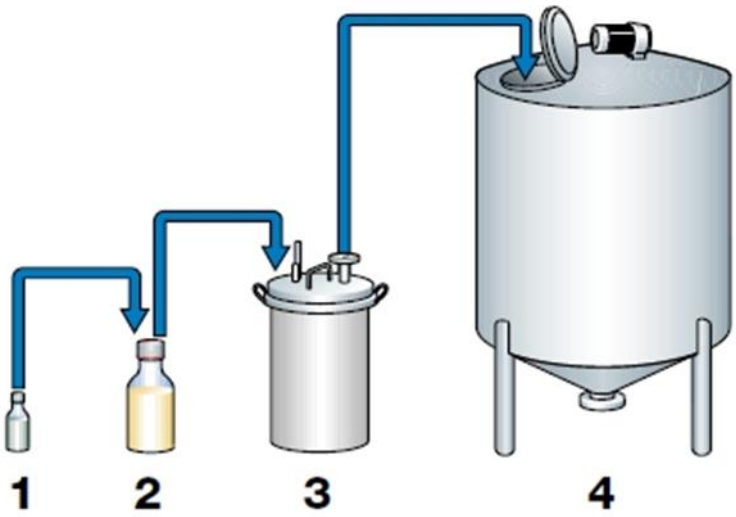
Slika 8: Drvena posuda za proizvodnju kumisa tradicionalnim načinom (a) drveni stap za miješanje (b). (Preuzeto od Wszolek i sur. 2006.)

Tradicionalno proizvedeni kumis do potrošnje može biti pohranjen tri dana. Nakon tri dana daljnja bakterijska razgradnja laktoze uzrokuje povećanje koncentracije mliječne kiseline koja snižava pH kumisa ispod 3,3. A koncentracija alkohola obično je viša od 3%.

4.2.2 Industrijski način proizvodnje

Od 1960. godine razvijena je i komercijalna proizvodnja kumisa u kojoj se bakterija *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i kvasci *Torula* spp. u formi tehničke kulture inokuliraju u mlijeko kobile.

Iz laboratorijske kulture, matična kultura svake pojedinačne vrste priređuju se u obranom kravljem mlijeku u količini od **2 L** za bakteriju *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i od **1 L** za **kvasce**. Nakon fermentacije od **3-4** dana kulture se miješaju i služe za pripremu tehničke kulture. Koncentracija **mliječne kiseline** u tehničkoj je kulturi **1,0-1,3 mL 100 mL $^{-1}$**. Slika 9. prikazuje pripremu tehničke kulture iz laboratorijske kulture.



Slika 9.: Shematski prikaz postupka pripreme tehničke kulture iz tekuće kulture.

Detalji: **1** laboratorijska kultura, **2** matična kultura, **3** radna ili međukultura, **4** tehnička kultura. (Bylund, 2003, s dopuštenjem Tetra Paka.)

Pripremljenom tehničkom kulturom u količini od **3%** inokulira se pasterizirano mlijeko kobile (72°C/15 -30s) ohlađeno na temperaturu od **26-28°C**. Fermentacija na istoj temperaturi traje **2-4 h** ili dok se ne postigne 0,55 mL mliječne kiseline u 100 mL^{-1}.

U prvih **30-60** minuta fermentacije, fermentacijsko mlijeko se snažno **miješa** da se potakne rast **kvasaca**. Do završetka fermentacije miješanje fermentacijskog mlijeka provodi se povremeno. Nakon prekidanja fermentacije slijedi tehnološka operacija **homogenizacije** i hlađenje na temperaturu od 20°C. Na istoj temperaturi kumis se puni u ambalažu. Slijedi **dodatna fermentacija** pakiranog proizvoda na temperaturi od **18-20°C/1,5-2 h** i **hladna fermentacija** na temperaturi od **4-6 °C/12-24h**.

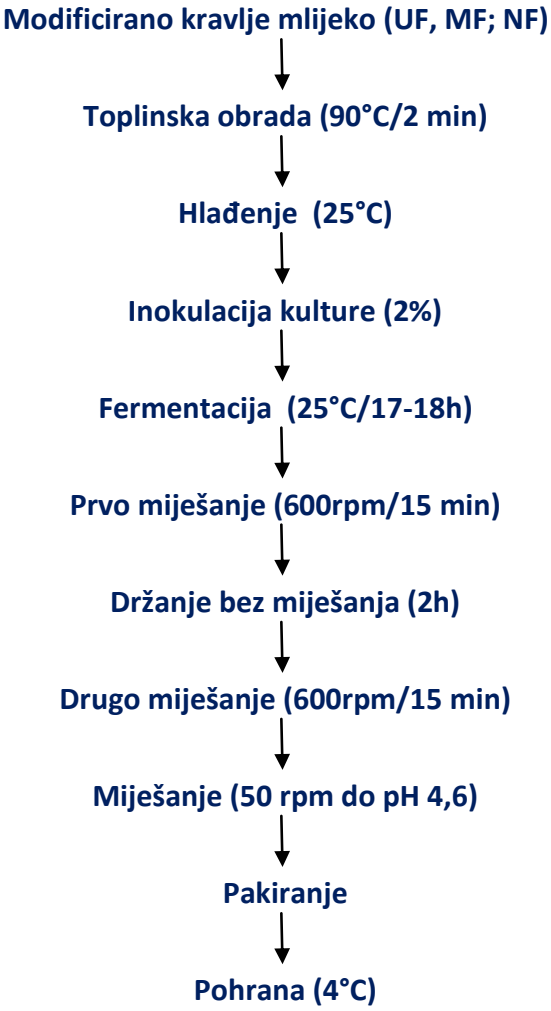
Osim kulture koja sadrži bakteriju *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i kvasce *Torula* spp. u industrijskoj proizvodnji kumisa u sastavu kulture koriste se i druge vrste **BMK** i druge vrste kvasaca. Postupak pripreme tehničke kulture iz matične kulture je isti.

Slično kao i u proizvodnji kefira zbog stvorenog plina CO_2 problemi u proizvodnji kumisa često su povezani s izborom ambalaže. Nakon otvaranja staklene boce više od jedne trećine proizvoda može u formi pjene iscuriti iz pakovine. Pakiranje u kartonsku ambalažu često uzrokuje puknuće ambalaže.

Ti problemi se mogu ublažiti ispiranjem ambalaže s dušikom prije punjenja ili ispunjenjem praznog prostora s dušikom nakon punjenja proizvoda u ambalažu. Također, alternativno se može koristiti kartonska ambalaža opremljena visoko-tlačnim ventilom.

Temeljeno na tradicionalnim procesima proizvodnje danas se **modificirani kumis** proizvodi i od punomasnog **kravljeg** mlijeka (34%) kome se dodaje obrano mlijeko (0,8%) i sirutka (65%). Mlijeko se ponekad radi poboljšanja okusa obogaćuje saharozom (2,5 g 100 g^{-1}). Mliječna se osnova potom toplinski obrađuje na temperaturi od 90 °C/2 - 3 min, hladi na 28 °C, inokulira **kulturom za kumis** (~ 10 mL 100 mL^{-1}) uz dodatak askorbinske kiseline (2 g 100 g^{-1}) miješa 15 - 20 min i inkubira na temperaturi od 28 °C tijekom 5 - 6 sati ili dok se ne postigne kiselost od ~ 0,7 g 100 g^{-1} mliječne kiseline uz stalno miješanje. Nakon toga slijedi hlađenje na temperaturu od 16-18°C i nastavak fermentacije u trajanju od 1-2 h uz povremeno miješanje. Slijedi punjenje u boce i hladno zrenje proizvoda na temperaturi od 6-8°C/1-3 dana. Finalni proizvod sadrži ~1,5% masti. Koncentracija mliječne kiseline je 0,85% a koncentracija alkohola< 0,6% ako je hladno zrenje trajalo 1 dan (blagi kumis). Koncentracija mliječne kiseline u kumisu nakon 2 dana hladnog zrenja je ~ 1% , a alkohola 1,1%.
U kumisu nakon 3 dana hladnog zrenja koncentracija mliječne kiseline je ~ 1,2, a alkohola 1,6%. U smislu prehrambenih i terapeutskih vrijednosti tvrdi se da tako proizveden kumis ima slična svojstva originalnom kumisu.

Korištenjem membranskih tehnologija ultrafiltracije (**UF**) mikrofiltracije (**MF**) i nanofiltracije (**NF**) u proizvodnji kumisa od kravljeg mlijeka moguće je modificirati mlijeko tako da je njegov sastav prema udjelu proteina, laktoze i ostalih kemijsko-fizikalnih svojstava gotovo istovjetno mlijeku kobile. Za fermentaciju modificiranog mlijeka membranskim tehnologijama preporučuje se koristiti kulturu sastavljenu od dvije bakterijske vrste **BMK** *L*. *delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *L.acidophilus*, a od kvasaca *Kluyveromyces marxianus* subsp. *lactis*. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje kumisa iz modificiranog mlijeka objedinjen je slikom 10.



Slika 10: Shematski prikaz proizvodnje kumisa od modificiranog kravljeg mlijeka. (Kücükcetin i sur.2003, s dopuštenjem Eseviera.)

Kumis proizveden od modificiranog kravljeg mlijeka membranskim tehnologijama **UF**, **MF** i **NF** na kraju vijeka održivosti od 15 dana ima vrlo slične kemijske, fizikalne i mikrobiološke karakteristike kumisu proizvedenom od mlijeka magarice istom tehnologijom (laktoza 5,0%, pH 4, 4,alkohol 0,3%, broj laktobacila $>10^6$ cfu/mL i kvasaca $>10^6$ cfu/mL). Prvenstveno, opravdanost proizvodnje kumisa iz kravljeg mlijeka vidi se u njegovoj znatno nižoj cijeni.

4.3. Kvalitativne karakteristike i nutritivna svojstva

Općenito malo je podataka o kvalitativnim karakteristikama kumisa. Ipak, na temelju je intenziteta fermentacijom stvorenih metabolita koji formiraju okus i aromu, kiselost i količinu alkohola u kumisu moguća njegova podjela u tri glavne skupine (tablica 12).

U kumisu **intenzivno izraženog** okusa dominantne su bakterijske vrste **BMK** *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *L.acidophilus* koje zakiseljavaju mlijeko do pH 3,3-3,6. Konverzija laktoze u mliječnu kiselinu je između 80 i 90%. Kumis **umjereno izraženog** okusa od laktobacila uglavnom sadrži dominantne vrste *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* i *L. fermentum* koje zakiseljavaju mlijeko do pH 3,9-4,5, a konverzija laktoze u mliječnu kiselinu je približno 50%. Lagani ili kumis **slabo izraženog** okusa proizvodi se djelovanjem bakterija *S. thermophilus* i *Lactococcus lactis.* subsp*. cremoris* (~4,6).

Tablica 12.: Klasifikacija kumisa temeljena na intenzitetu fermentacije

Okus i aroma	Kiselost (g 100 mL $^{-1}$)	Alkohol (g 100 mL $^{-1}$)
Slabo izraženi /slatko-kiseli/po kvascima	0,55-0,72	1,0
Umjereno izraženi /osjetne kiselosti /po kvascima	0,73-0,90	1,5
Intenzivno izraženi / naglašene kiselosti/ po kvascima	0,91-1,08	3,0

(Preuzeto od Wszolek i sur. 2006.)

U usporedbi s kefirom intenzitet proteolize tijekom fermentacije je i do 10 puta jači a posljedično tome i koncentracija slobodnih aminokiselina u kumisu je viša. Visoka koncentracija slobodnih aminokiselina dodatno povećava njegovu prehrambenu vrijednost. Osim toga, u kumisu je i koncentracija proteoza-peptona (**PP**) viša (0,2-1,0 g 100 g^{-1}) u usporedbi s kefirom (0,05-0,12 g 100 g^{-1}). Inače, **PP** su termostabilna i u kiselini topljiva frakcija proteina sirutke sastavljena od najmanje 38 komponenti koje su označene **PP3**, **PP5** i **PP8**. Drugim riječima, **PP** su skupina heterogenih proteina koja imaju važna funkcionalna svojstva u mlijeku poput emulgacijske sposobnosti kojom se štite masne globule od spontane lipolize.

Za humani organizam vjeruje se da **PP** ublažava alergijske probleme koji su danas vrlo česti osobito u dojenčadi i djece. Naime, alergeni se u organizmu vežu za **IgE** te se prenose u mnoge stanice gdje izazivaju reakcije oslobađanja različitih medijatora poput histamina i leukotriena iz stanice. Posljedično tome organizam reagira različitim alergijskim simptomima. Biološka funkcija **PP** je susprezanje izlučivanja **IgE** iz imunosnih stanica, te se smatra da **PP** drži ravnotežu između **IgE** i ostalih vrsta imunosnih stanica.

Bakterijske vrste sadržane u kumisu pokazuju baktericidna i bakteriostatska svojstva prema mnogim patogenim bakterijama a osobito prema *E. coli*, *B. cereus* i *Mycobacterium* spp. Antimikrobna svojstva kvasaca sadržanih u kumisu prema raspoloživim podatcima inhibiraju rast bakterija *Staphylococcus aureus* i *B.cereus*.

4.4. Ostala fermentirana mlijeka

4.4.1. Fermentirano mlijeko s udjelom mlijeka kobile

Prije otprilike desetak godina u Italiji je po prvi put opisan protokol za proizvodnju fermentiranog mlijeka koje uz **70%** udjela kravljeg ili ovčjeg mlijeka sadrži i **30%** mlijeka kobile korištenjem jogurtne kulture. Temeljna ideja standardiziranog protokola proizvodnje je u osnovi bila povećanje interesa za konzumacijom tih vrsta proizvoda u zemljama gdje se mlijeko kobile tradicionalno ne konzumira. Za poboljšanje reoloških svojstava teksture gotovog proizvoda mlijeko je obogaćeno Na-kazeinatom (1,5 g 100 g^{-1}) i pektinom (0,25 g 100 g^{-1}). Također za poboljšanje okusa mlijeku je dodana saharoza (10 g 100 g^{-1}) i aminokiselina treonin (0,08 g 100 g^{-1}).

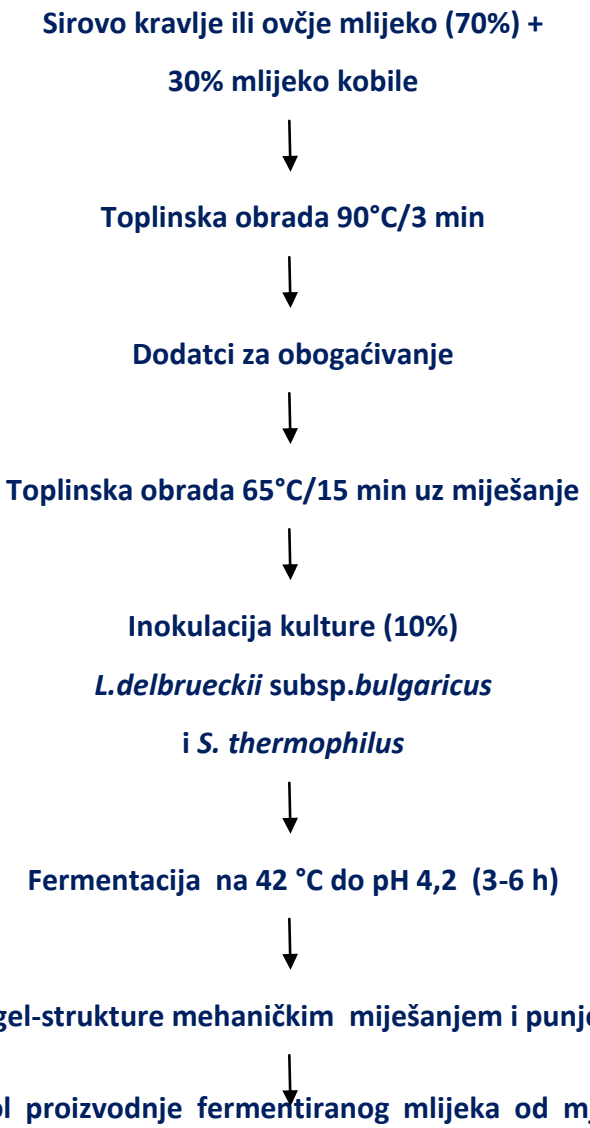
Mješavina kravljeg (70%) i mlijeka kobile (30%) ili ovčjeg (70%) i mlijeka kobile (30%) najprije je toplinski obrađena na temperaturi od **90°C/3 min**. Potom je uslijedilo obogaćivanje mlijeka dodatcima (Na- kazeinat, pektin, saharoza, treonin) i dodatna toplinska obrada mlijeka na temperaturi od **65°C/15** min uz agitaciju mlijeka da se poboljša distribucija ingredijenata u mlijeko kobile. Tehnološki, korištenje Na- kazeinata imalo je za cilj povećati koncentraciju kazeina u mlijeku kobile i posljedično tome skratiti vrijeme acidifikacije zbog uzročno-posljedičnog povećanja pufernog kapaciteta mlijeka. Pektin je korišten radi kasnijeg povećanja viskoziteta proizvoda. Saharoza i treonin korišteni su za direktno i/ili indirektno poboljšanje okusa fermentiranog mlijeka.

U ishodišnom mlijeku kobile udio proteina bio je 2%, mliječne masti 1,9%, laktoze 6,3% i pepela 0,4%, a pH mlijeka 7,0. Kemijski sastav korištenog kravljeg mlijeka bio je sljedeći: protein (3,1%) mliječna mast (3,4%) laktoza 4,6% a ovčjeg protein (5,1%), mliječna mast (7,3%) i laktoza (4, 7%).

Mlijeko ohlađeno na temperaturu od 42° C inokulirano je s 1% zamrznute –osušene jogurtne kulture (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *S.thermophilus*).

Prije upotrebe zamrznuta osušena kultura je pripremljena u obranom mlijeku na temperaturi od 42°C a fermentacija je trajala 8 h. Fermentacija je prekinuta naglim hlađenjem (4-5°C) kad je postignuta pH vrijednost fermentacijskog mlijeka od 4,2 a trajala je između 3 i 6 h. Formirana gel struktura najprije je razbijena miješanjem, te je slijedilo punjenje u boce i njegova pohrana na temperaturi od 4°C tijekom 45 dana.

Proizvedeno fermentirano mlijeko nakon 45 dana pohrane pokazalo je dobra reološka, organoleptička i nutritivna svojstva. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje jogurta iz kravljeg ili ovčjeg mlijeka uz 30%-tni udjel mlijeka kobile prikazan je slikom 11.



Slika 11.: Protokol proizvodnje fermentiranog mlijeka od mješovitog kravljeg ili ovčjeg (70%) i mlijeka kobile (30%). (di Cagno i sur.2004., s dopuštenjem Elseviera.)

Općenito, za karakterističnu aromu jogurta presudni su **karbonilni spojevi** poput aldehida acetona, acetoina i diacetil koji su prisutni u relativno višim koncentracijama. Istovremeno, aromatski spojevi: propionska, octena, maslačna i mravlje kiselina, dimetil sulfid, benzaldehid i 2,3 pentendiol podjednako značajni za karakterističnu aromu jogurta prisutni su u značajno nižim koncentracijama. Tijekom fermentacije ti spojevi nastaju bakterijskim metabolizmom.

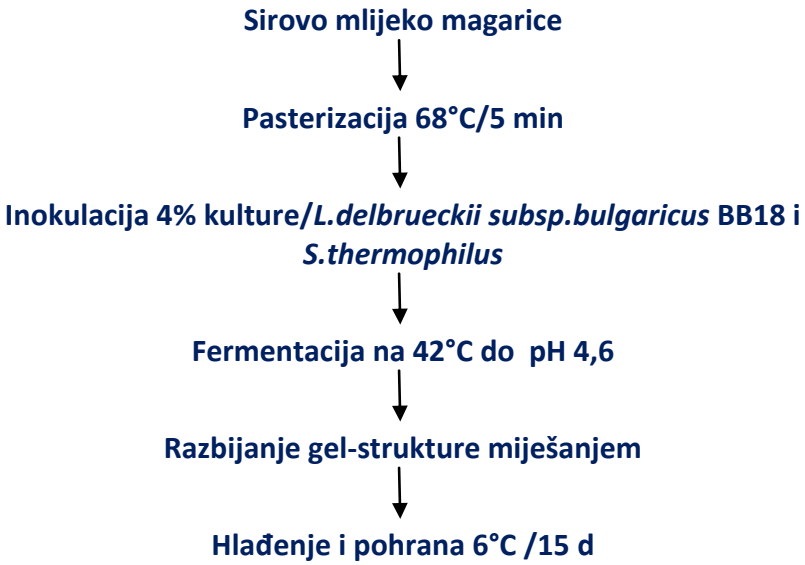
Stvaranje aromatskih spojeva u jogurtu primarno je povezano s fermentacijom laktoze, a sekundarno, premda u znatno manjem obimu, metabolizmom proteina i masti. Najvažniji se aromatski spoj jogurta **acetaldehid** tijekom fermentacije osim iz laktoze formira i iz aminokiseline **treonin**. Budući da je prirodna koncentracija treonina u mlijeku općenito vrlo niska, djelovanjem bakterijskog enzima **tronin aldolaze** potrebna koncentracija treonina za transformaciju u acetaldehid nadomješta se derivacijom iz proteina mlijeka.

Aktivnost treonin aldolaze u uskoj je korelaciji s aktivnošću enzima serin hidroksimetil transferaze te interkonverzijom iz treonina nastaju acetaldehid i glicin. Treonin aldolazu imaju obje bakterijske vrste jogurtne kulture, ali se aktivnost enzima bakterije S. *thermophilus* značajno smanjuje povećanjem temperature inkubacije s 30 na 42 °C. Zbog toga *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* u jogurtu tvori acetaldehid u znatno višoj koncentraciji u odnosu na *S. thermophilus*. Koncentracija acetaldehida u kravljem jogurtu je između 2,0 i 41,0 µg/g. Zbog toga dodatak treonina mješavini kravljeg ili ovčjeg i mlijeka kobile u koncentraciji od 0,8 g kg^{-1} čini se opravdanim budući da je utvrđena koncentracija acetaldehida u proizvedenom proizvodu bila 20 µg g^{-1}. Također, za proizvedeno fermentirano mlijeko utvrđena je visoka koncentracija slobodnih aminokiselina (~700 mg kg^{-1}). Za usporedbu jogurt od kravljeg mlijeka sadrži slobodnih aminokiselina 190-330, ovčji jogurt 185, a jogurt od kozjeg mlijeka 335 mg kg^{-1}.

4.4.2. Jogurt od mlijeka magarice

Zbog činjenice da raste interes za korištenjem mlijeka magarice u preporučenim pedijatrijskim dijetama nametnula se potreba da se ono djeci ponudi u formi različitih mliječnih proizvoda osobito fermentiranih mlijeka.

Eksperimentalno u Grčkoj nedavno je proizveden jogurt od mlijeka magarice. U proizvodnji jogurta korištena je simbiotska kultura sastavljena od probiotičkog soja *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* BB18 i *S. thermophilus*. Bakterija *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* BB18 izolirana je iz kefirnih zrna i dokazano pokazuje visoku antimikrobnu aktivnost prema patogenim bakterijama. Prije inokulacije kulture u koncentraciji od **4%,** mlijeko je toplinski obrađeno na **68°C/5 min**. Fermentacija kobiljeg jogurta je provedena na temperaturi od **42°C** dok fermentacijsko mlijeko nije postiglo pH vrijednost 4,6. Nakon završene koagulacije formirani gel je razbijen snažnim miješanjem i ohlađen na temperaturu od 6°C i na toj temperaturi je pohranjen 15 dana. Slika 12 shematski objedinjuje tehnološke postupke proizvodnje jogurta od mlijeka magarice.



Slika 12: Shematski prikaz tehnološkog postupka proizvodnje jogurta od mlijeka magarice.

Fizikalno - kemijske karakteristike jogurta od mlijeka magarice (g 100 g $^{-1}$) nakon 15 dana pohrane bile su sljedeće: suha tvar ~9,0%, protein ~1,8%, mliječna mast 0,6%, laktoza ~ 6,2% i pepeo ~ 0,4%, a pH vrijednost 4,6. Tijekom hladne pohrane u jogurtu je povećana koncentracija slobodnih aminokiselina s 37 mg 100 g $^{-1}$ prvog dana na 50 mg 100 g $^{-1}$ petog dana a 15 dana dostigla je vrijednost od 62 mg 100 g $^{-1}$. Prvog dana hladne pohrane jogurta zbog početno jače bakterijske proteolitičke aktivnosti utvrđeno je da se najviše povećavaju koncentracije serina, prolina, glutamina, glicina i leucina. Na kraju promatranog vijeka održivosti (15 dan) u jogurtu je došlo do smanjenja koncentracije asparagina, glicina i tirozina.

U cilju potpunijeg definiranja prehrambene i fiziološke vrijednosti u proizvedenom jogurtu, analiza lipida potvrdila je prisutnost 23 masne kiseline. Od toga, udio zasićenih masnih kiselina od 45,8 %, mononezasićenih od 33,67% i polinezasićenih od 20,48%. Osobito je koncentracija palmolenske C16: 1 (6,78%), oleinske C18:1 (25,52%), linolne C18:2 (11,14%) i linolenske C18:3 (8,39%) kiseline bila visoka. Također, tijekom hladne pohrane povećana je koncentracija hidrofilnih peptida topljivih na pH 4,6 s 47% na 60%.

4.4.3. Probiotička fermentirana mlijeka od mlijeka magarice

Eksperimentalne studije proizvodnje jogurta od mlijeka magarice uz korištenje probiotičkih bakterijskih sojeva također su potvrdile njegovu pogodnost za proizvodnju fermentiranog mlijeka.

Probiotički jogurt je proizveden korištenjem bakterija *Lactobacillus fermentum* ME-3 i *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356). Ti probiotički sojevi odabrani su na temelju njihove probiotičke i antimikrobne aktivnosti uz istodobno i antioksidantivno djelovanja. Kvaliteta jogurta procijenjena je nakon 14 dana hladne pohrane na temperaturi od 4°C.

Monokultura je pripremljena u 25 mL pasteriziranog mlijeka magarice (**63°C/30 min**). Mlijeko je potom inkubirano na temperaturi od **37°C** dok fermentacijsko mlijeko nije dostiglo pH 4,6. Kultura u količini od **5%** inokulirana je u pasterizirano mlijeko (**63°C/30 min**) ohlađeno na temperaturu od 37°C. Fermentacija korištenjem bakterije *L. fermentum* ME-3 trajala je **12** sati do pH 4,7, a utvrđena koncentracija mliječne kiseline bila je 0,31%. Istodobno fermentacija do pH 4,7 korištenjem bakterije *L. acidophilus* (ATCC 4356) trajala je **9** sati (0,34% mliječne kiseline).

Nakon 14 dana pohrane preživljavanje oba probiotička soja bilo je više od **10^8 cfu mL^{-1}**. Zbog toga ono može biti klasificirano u probiotiotička fermentirana mlijeka. Naime, za označavanje proizvoda probiotičkim, broj korištenog probiotičkog soja za fermentaciju na kraju vijeka održivosti proizvoda mora biti veći od **10^6 cfu mL^{-1}**.
Prema organoleptičkim karakteristikama oba proizvoda su opisana da imaju bijelu boju s neutralnim svježim i laganim okusom, umjerene kiselosti i bez vidljive viskoznosti.

Značajno za ovo istraživanje su činjenice da se koncentracija lizozima u fermentiranom mlijeku nije značajno razlikovala od one u sirovom mlijeku magarice i da lizozim nije imao negativan utjecaj na preživljavanje bakterijskih sojeva. Također važno je naglasiti da je lizozim vjerojatno povećao antimikrobnu aktivnosti fermentiranog mlijeka prema testiranim patogenim bakterijama *Salmonella typhimurium* (NCTC120123) i *Escherichia coli* (NCTC 12241).

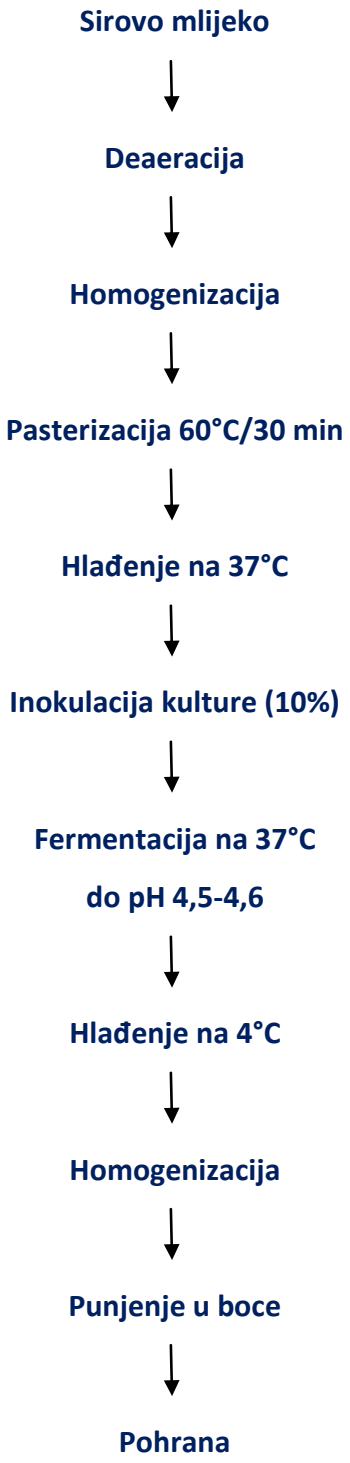
Sljedeća važna spoznaja ovih istraživanja je činjenica da su oba bakterijska soja povećala antioksidativnu aktivnost fermentiranom mlijeku. Naime, dobro je poznato da proteolitički enzimi bakterija mliječne kiseline hidroliziraju proteine mlijeka do biološki aktivnih malih peptida koji imaju funkciju antioksidanta.

U ovom istraživanju zanimljivi su i podatci o ocjenama prihvatljivosti okusa (izvrstan, dosta dobar, osrednji, slab) oba proizvoda. Proizvode je ocijenilo 13 muškaraca i 18 žena u dobi od 25 do 65 godina. Za prihvatljivost okusa oba proizvoda odlučilo se 45% ocjenjivača. Okus fermentiranog mlijeka proizvedenog s probiotičkim sojem *L. fermentum* ME-3 neutralnom ocjenom (niti im se sviđa niti im se ne sviđa) ocijenilo je 32% ocjenjivača, a 23% ocjenjivača proizvod je ocijenilo negativnom ocjenom (ne sviđa im se). Fermentirano mlijeko proizvedeno s probiotičkim sojem *L. acidophilus* (ATCC 4356) neutralnom ocjenom ocijenilo je 38% ocjenjivača, a negativnom njih 16%. Međutim, kada su ocjenjivači upitani da li bi proizvod kupili, 21% je odgovorilo potvrdno, 47% vjerojatno - da, a njih 32% proizvod ne bi kupilo. Istodobno kada su ocjenjivači upitani da li bi proizvode kupili ako bi imali saznanja da taj proizvod ima funkcionalna svojstva više od polovice ocjenjivača je promijenilo odgovor u potvrdan.

Studija koja je u proizvodnji fermentiranog mlijeka koristila probiotičke bakterijske sojeve *Lactobacillus rhamnosus* AT 194 i CLT2/2 i *Lactobacillus casei* LC88, izolirane iz Parmigiano Reggiano sira, također je potvrdila dobro preživljavanja tih sojeva u proizvodu nakon 30 dana pohrane **(>10^8 cfu mL^{-1})**. Prema vizualnim karakteristikama proizvodi se nisu razlikovali, ali najbolje izbalansirani okus je ostvaren korištenjem probiotičkog soja *L. casei* LC88. Fermentirano mlijeko proizvedeno s *L. rhamnosus* AT 194 imalo je okus po kiselom mlijeku i prikriveni okus po kuhanom povrću, a ono proizvedeno s *L. rhamnosus* CLT2/2 okus sirovog mlijeka, po travi i miris po životinji. No, prema bazičnim testovima slatkoće, kiselosti, slanosti i gorčine najbolje karakteristike pokazao je *L. rhamnosus* AT 194. Zbog toga taj se bakterijski soj preporučuje u proizvodnji probiotičkog mlijeka magarice.

Najveći problem u proizvodnji fermentiranih mlijeka je adaptacija bakterijskih sojeva u mlijeku magarice. Problem se može premostiti rastom bakterijskih sojeva najprije u kravljem, a potom u steriliziranom mlijeku magarice. Nakon adaptacije, bakterijski sojevi sposobni su brzo fermentirati mlijeko magarice a osobito ako se ono inokulira kulturom u količini između **5** i **10%.**

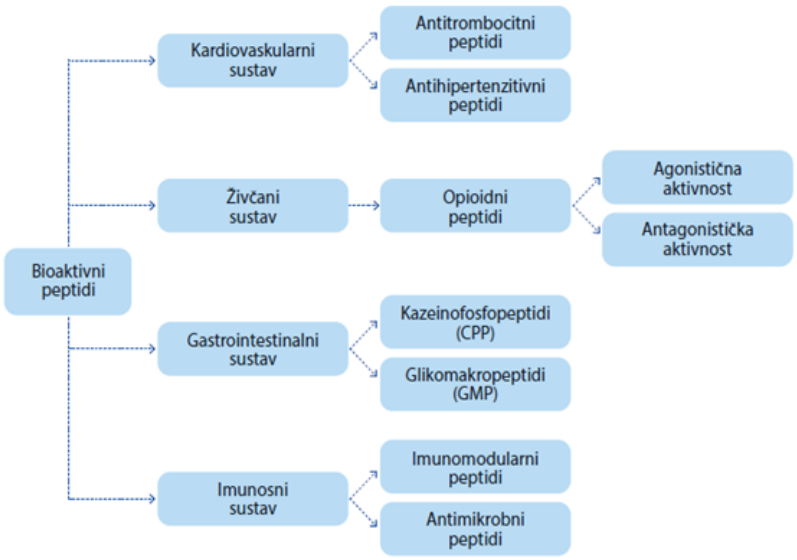
Preporučeni protokol za proizvodnju probiotičkog fermentiranog mlijeka shematski je prikazan slikom 13.



Slika 13.: Pretpostavljeni tehnološki procesi za proizvodnju probiotičkog fermentiranog mlijeka od mlijeka magarice. (Preuzeto od Chiavari i sur., 2005.)

Općenito tijekom fermentacije zbog proteolitičkog djelovanja bakterija iz inaktivnih proteina mlijeka kazeina i proteina sirutke deriviraju se **bioaktivni peptidi**. Ti specifični fragmenti proteina mlijeka u humanom organizmu imaju različite fiziološke funkcije.

Za ilustraciju slika 14. prikazuje funkcije bioaktivnih proteina deriviranih iz kazeina kravljeg mlijeka na humani organizam.



Slika 14.: Fiziološke funkcije bioaktivnih peptida u humanom organizmu deriviranih iz kazeina. (Silva i Malcata,2005., s dopuštenjem Eseviera.)

4.5. Elementi za priznavanje prehrambenih i zdravstvenih tvrdnji

Mlijeko kobile i magarice, bez svake sumnje, samo po sebi i fermentirana mlijeka proizvedena od tih vrsta, zbog prirodnog sadržaja nutrijenata i potencijala za obogaćivanje i modifikaciju proizvoda sadrže brojne elemente za priznavanje prehrambenih i zdravstvenih tvrdnji prema Uredbi (EU)432/2012. U tom kontekstu, mlijeko kobile i magarice u humanoj prehrani mogu biti interesantni zbog: (i) izuzetno visokih koncentracija polinezasićenih masnih kiselina, (ii) niskog udjela kolesterola, (iii) visoke koncentracije laktoze i (iv) povoljnog omjera između kazeina i proteina sirutke (1-1,5:1).

Mjereno opterećenje bubrega na temelju razine proteina i anorganskih spojeva tih vrsta mlijeka potvrdilo je istu opterećenost koju na bubrege ima humano mlijeko.

Ti rezultati još su jedna u nizu činjenica o prikladnost mlijeka kobile i magarice u prehrani dojenčadi. Visoka koncentracija laktoferina i lizozima dodatno povećava potencijalno korištenje tih vrsta mlijeka u humanoj prehrani u svojstvu funkcionalne hrane.

Poboljšanje općeg stanja organizma konzumacijom tih vrsta mlijeka najmanje djelomično se mogu prepisati imuno-stimulirajućoj aktivnosti lizozima, laktoferina i ω-3 masnim kiselinama. Naime, pokusima *in vitro* već je davno utvrđeno da te supstancije sudjeluju u regulaciji fagocitoze u humanim stanicama neutrofila. Budući da je koncentracija tih supstancija u mlijeku kobile i magarice visoka, utvrđeno je da konzumacija smrznutog mlijeka značajno zaustavlja kemotoksičnost i respiratorne probleme, dvije važne faze fagocitoznog procesa. Rezultati sugeriraju da te vrste mlijeka imaju potencijalno i antiinflatorni učinak. Konzumacija mlijeka kobile ili mlijeka magarice prema raspoloživim podatcima pomaže i pacijentima u ublažavanju tegoba uzrokovanih kemoterapijom u 30% slučajeva. Mlijeko kobilje i magarice uspješno se koristi i kao alternativna hrana u djece alergične na proteine mlijeka ostalih komercijalnih vrsta mlijeka. Zbog svojih imunoloških svojstva, sirovo ili fermentirano mlijeko kobile ili magarice smatra se korisnim u prevenciji arterioskleroze i u poboljšanju imunosnog odgovora u zdravih starijih osoba.

U kontekstu funkcionalne hrane fermentirana mlijeka u usporedbi sa sirovim mlijekom imaju općenito veću fiziološku vrijednost. Blagotvoran fiziološki učinak fermentiranih mlijeka na humano zdravlje prvenstveno je određen biološkim svojstvima mikroorganizama koji se koriste za njihovu proizvodnju. Dobrobit za zdravlje čovjeka te mikrobne vrste ostvaruju na dva načina – direktno preko aktivnosti živih stanica ili indirektno preko svojih metaboličkih produkata poput: (i) kazeinfosfopeptida ili α i β-laktoferina (bioaktivni peptidi, (ii) ω-3 i ω-6 masnih kiselina, fosfolipida (osobito mlijeko kobile, 47 mg L^{-1}), maslačne kiseline, octene kiseline (bioaktivni lipidi) i (iii) oligosaharida ili L(+) mliječne kiseline. Zbog toga, u literaturi se prvenstveno navodi kumis za uspješno liječenje hepatitisa, kroničnih ulkusa i tuberkuloze. Međutim, važno je istaknuti da za zdravstvene tvrdnje prema kriterijima Uredbe (EU)432/2012 nema dovoljno provedenih kliničkih istraživanja.

Drugim riječima, čini se razumnije te znanstvene tvrdnje zamijeniti prehrambenim tvrdnjama.

U smislu, da sastav tih vrsta mlijeka s drugačijim nutritivnim karakteristikama od standardnih vrsta mlijeka ima svoj potencijal u specifičnim dijetama i liječenju djece i odraslih osobito ako je imunosni sustav dodatno oslabljen, te u prehrani starijih osoba.

5. Literatura

1. Akuzawa, R., Surono,S. (2002): Fermented milka/Asia. U knjizi, Encyklopedia of Dairy Science, ur. H. Roginski, J.W. Fuguay, P.F. Fox, Elsevier Ltd., 1045-1049.
2. Alabiso, M., Giosue, C., Alicata, M. L., Mazza, F., Lannolino, G. (2008): The effects of different milking intervals and milking times per day in jennet milk production, *Animal* 3:4, 543–547.
3. Ali, M., Baber, M., Hussain, T., Awan F., Nadeem, A. (2014): The contribution of donkeys to human health, *Equine Veterinary Journal* 46, 766-767.
4. Bermeosolo Bidasolo, I., Ramos, M., Gomez-Ruiz, J. A. (2012): In vitro simulated gastrointestinal digestion of donkeys milk. Peptide characterization by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry, *International Dairy Journal 24*, 146-152.
5. Brumini, D., Bø Furlund, C., Comi, I., Gulbrandsen Devold, T., Marletta, D., Vegarud, G. E., Monceyron Jonassen, C. (2013): Antiviral activity of donkey milk protein fractions on echovirus type 5, *International Dairy Journal* 28, 109-111.
6. Bylund, G. (2003): Dairy processing handbook, Tetra Pak, Processing Systems AB,Lund, Sweden, dopunjeno izdanje
7. Chandan, R. C. (2006): Milk composition, physical and processing characteristics. U knjizi, Manufacturing Yogurt and Fermented Milks ur. Chandan R. C.,i pridruženi ur. White, C.H., Kilara, A., Hui, Y. H., Blackwell Publishing, SAD, 17 - 39.
8. Chaves-López, C., Serio, A., Martuscelli, M., Paparella, A., Osorio-Cadavid, E., Suzzi, G. (2011): Microbiological characteristics of kumis, a traditional fermented Colombian milk, with particular emphasis on enterococci population, *Food Microbiology* 28, 1041-1047.
9. Chiavari, C., Coloretti, F., Nanni, M., Sorrentino, E., Grazia, L. (2005): Use of donkey's milk for a fermented beverage with lactobacilli, *Le Lait* 85, 481-490.
10. Coni, E., Bocca, B., Caroli, S. (1999): Minor and trace element content of two typical italian sheep dairy products. *Journal of Dairy Research* 70, 355 - 357.

11. Cunsolo, V., Muccilli, V., Fasoli, E., Saletti, R. Righetti, P. G., Foti, S. (2011): Poppea's bath liquor: The secret proteome of she-donkey's milk, *Journal of Proteomics* 74 (10), 2083-2099. doi: 10.1016/j.jprot.2011.05.036
12. Dalgleish, D. G., Spagnuolo, P. A., Goff, H. D. (2004): A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal* 14, 1025 - 1031.
13. De Kruif, C. G., Huppertz, T., Urban, V. S., Petukhov, A. V. (2012): Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science* 171 - 172, 36 - 52.
14. Deutchen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (2012): Food composition and nutrition tables. Medline online database, Leibniz Institut.http://www.sfk-online.net/cgi-bin/sfkstart.mysql?language=english (preuzeto 03.04.2012.)
15. Deutchen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (2012): Food composition and nutrition tables. Medline online database, Leibniz Institut.http://www.sfk-online.net/cgi-bin/sfkstart.mysql?language=english
16. Di Cagno, R., Tamborrino, A., Gallo, G., Leone, C., De Angelis, M., Faccia, M., Amirante, P., Gobbetti, M. (2004): Uses of mares' milk in manufacture of fermented milks, *International Dairy Journal 14,* 767-775. doi:10.1016/j.idairyj.2004.02.005
17. Doreau, M., Boulot, S. (1989): Recent knowledge on mare milk production: A review. *Livestock Production Science* 22, 213-235.
18. Doreau, M., Martin-Rosset, W. (2002): Horse. U knjizi, Encyklopedia of Dairy Science, ur. H. Roginski, J.W. Fuguay, P.F. Fox, Elsevier Ltd., 630-667.
19. El-Hatmi, H., Jrad, Z., Salhi, I., Aguibi, A., Nadri, A., Khorchani, T. (2015): Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk, *Mljekarstvo* 65 (3), 159-167.
20. Fantuz, F., Ferraro, S., Todini, L., Piloni, R., Mariani, P., Salimei E. (2012): Donkey milk concentration of calcium, phosphorus, potassium, sodium and magnesium, *International Dairy Journal 24*, 143-145. doi:10.1016/j.idairyj.2011.10.013
21. Faye, B., Konuspayeva, G. (2012): The sustainability challenge to the dairy sector - The growing importance of non-cattle milk production worldwide, *International Dairy Journal* 24, 50-56. doi:10.1016/j.idairyj.2011.12.011

22. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2000): Chemistry of Milk Constituents. U knjizi, Fundamentals of Cheese Science, An Aspen Publication, Aspen Publisher, Inc.Gaithersburg, Maryland, 19 -44.
23. Generalić,2013.,http://glossary.periodni.com/preuzimanje_slike.php?name=laktoza.png&source=laktoza)
24. Innocente, N., Parpinel, M., Rinaldi, A., Biasutti, M. (2011): Composition and Nutritional Value of Donkey Milk, IDF International Syposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk, Athens, Greece, Special Issue of the International Dairy Federation 1201, 168-171.
25. Ivanković, A., Potočnik, K., Ramljak, J., Baban, M., Antunac, N. (2016): Laktacija kobila i magarica, u knjizi Mlijeko kobila i magarica, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 32-36.
26. Jenness, R. (1980): Composition and characteristic of goat milk a review. *Journal of Dairy Science* 63, 1605 - 1630.
27. Kucukcetin, A., Yaygin, H., Hinrichs, J., Kulozik, U. (2003): Adaptation of bovine milk towards mares' milk composition by means of membrane technology for koumiss manufacture, *International Dairy Journal* 13, 945–951. doi:10.1016/S0958-6946(03)00143-2
28. Lopez, C. (2011): Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 16, 391 - 404.
29. Malacarne, M., Martuzzi, F., Summer, A., Mariani, P. (2002): Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk, *International Dairy Journal* 12, 869–877. PII: S0958-6946(02)00120-6 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs, *Officional Journal of The European Union*, L 322/12- L 322/29.
30. Papademas P., Parmaxi I., Aspri M. (2015): Probiotic, Antimicrobial, Antioxidant and Sensory properties of Fermented donkey milk with *Lactobacillus fermentum* ME-3 and *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356), *BAOJ Microbiology* 1: 004.
31. Park, Y. W., Chukwu, H. I. (1988): Macro-mineral concentrations in milk of two goat breeds at different stages of lactation. *Small Rumunant Research* 1, 157 - 165.

32. Park, Y. W., Chukwu, H. I. (1989): Trace mineral concentrations in goat milk from French-Alpine and Anglo-Nubian breeds during the first 5 moths of lactation. *Journal of Food Composition and Analalysis* 2, 161 - 169.
33. Park, Y. W., Juárez, M., Ramons, M., Heanlein, G. F. W. (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, 88 - 113.
34. Raynal- Ljutovac, K., Lagrffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008): Composition of goat and sheep milk product: an update. *Small Ruminant Research* 79, 57 - 72.
35. Roncada, P., Piras, C., Soggiu, A., Turk, R., Urbani, A., Bonizzi, L. (2012): Farm animal milk proteomics, *Journal of Proteomics* 75 (14), 4259-4274.
36. Salakidou, Ch., Simov, Zh., Beshkova, D., Dimitrov, Zh., Simova, E., Yoanidou, K. (2011): Biochemical Characteristics of Yogurt Beverage From Donkey Milk, IDF International Syposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk, Athens, Greece, Special Issue of the International Dairy Federation 1201, 157-160.
37. Salimei, E., Fantuz, F. (2012): Equid milk for human consumption, *International Dairy Journal 24,* 130-142. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.11.008
38. Samaržija ,D. (2015): Jogurt i druga fermentirana mlijeka. U knjizi Fermentirana mlijeka (D.Samaržija), Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 207-256.
39. Silva, S. V., Malcata, F. X. (2005): Casein as source of bioactive peptides. *International Dairy Journal* 15, 1 - 15.
40. Tesse, R., Paglialunga, C., Braccio S., Armenio, L. (2009): Adequacy and tolerance to ass's milk in an Italian cohort of children with cow's milk allergy, *Italian Journal of Pediatrics* 35, 19. doi:10.1186/1824-7288-35-19
41. Tidona, F., Sekse, C., Criscione, A., Jacobsen, M., Bordonaro, S., Marletta, D., Vegarud, G. E. (2011): Antimicrobial effect of donkeys'milk digested in vitro with human gastrointestinal enzymes, *International Dairy Journal 21,* 158-165. doi:10.1016/j.idairyj.2010.10.008
42. Uniacke-Lowe, T., Huppertz, T., Fox, P. F. (2010): Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance, *International Dairy Journal 20,* 609-629. doi:10.1016/j.idairyj.2010.02.007

43. Uredba (EC) 1441 (2007): Commission Regulation (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L-322/12- L-322/29.
44. Uredba (EC) 853 (2004): Regulation (EC) No 853/2004 of the European parliament and of the Council of 29 April 2004, Laying down specific hygiene rules for food of animal origin, *Official Journal of the European Union*, L 226, 25.6.2004, p. 22
45. Uredba (EC) 852 (2004): Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004, on the hygiene of foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 139, 30.4.2004, p. 1
46. Uredba (EC) 432 (2012): Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health Text with EEA relevance, *Official Journal of the European Union*, L-131/1
47. Vincenzetti, S., Polidori, P., Mariani, P., Cammertoni, N., Fantuz, F., Vita A. (2008): Donkey's milk protein fractions characterization, *Food Chemistry* 106, 640–649. doi:10.1016/j.foodchem.2007.06.026
48. Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M. A. J. S. (1999): Milk compsition. U knjizi, Dairy Technology-Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker, INC., New York, 27-105..
49. Wszolek, B., Kupiec-Teahan,H.,Guldager, S. Tamime, A.Y. (2006): Production of kefir, koumis and other related product. U knjizi, Fermented milks (A.Y. Tamime), Bleckwell Science, UK,174-216.
50. Xiao-Ying Zhang, Liang Zhao, Lu Jiang, Fa-Zheng Ren (2008): The antimicrobial activity of donkey milk and its microflora changes during storage, *Food Control* 19, 1191–1195. doi:10.1016/j.foodcont.2008.01.005

51. Xueying Mao, Junnan Gu, Yan Sun, Shiping Xu, Xiaoying Zhang, Haiying Yang, Fazheng Ren (2009): Anti-proliferative and anti-tumour effect of active components in donkey milk on A549 human lung cancer cells, *International Dairy Journal* 19, 703-708. doi:10.1016/j.idairyj.2009.05.007