

Fermentirana mlijeka magarice

Milat, Ema

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:406385>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

FERMENTIRANA MLIJEKA MAGARICE

DIPLOMSKI RAD

Ema Milat

Zagreb, rujan 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

FERMENTIRANA MLIJEKA MAGARICE

DIPLOMSKI RAD

Ema Milat

Mentor:

doc.dr.sc. Iva Dolenčić Špehar

Zagreb, rujan 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Ema Milat**, JMBAG 0178114749, rođena 18.12.1998. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

FERMENTIRANA MLIJEKA MAGARICE

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Ema Milat**, JMBAG 0178114749, naslova

FERMENTIRANA MLIJEKA MAGARICE

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc.dr.sc. Iva Dolenčić Špehar mentor

2. izv.prof.dr.sc. Milna Tudor Kalit član

3. izv.prof.dr.sc. Jelena Ramljak član

Zahvala

Zahvaljujem mentorici, doc.dr.sc. Ivi Dolenčić Špehar na pomoći pri odabiru teme, vremenu i stručnoj pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala Marku, Donati i Martini na pružanju motivacije kroz pisanje, razumijevanju i svim korisnim savjetima.

Najveća hvala mojoj velikoj obitelji na ljubavi i podršci kroz ove godine studiranja, svakoj ohrabrujućoj riječi i bezuvjetnoj ljubavi.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pregled literature	3
2.1. Mlijeko magarice.....	3
2.2. Kemijski sastav mlijeka magarice.....	4
2.2.1. Mliječna mast.....	5
2.2.2. Proteini.....	5
2.2.3. Laktoza	6
2.2.4. Vitamini i minerali.....	8
2.2.5. Laktoferin	9
2.2.6. Lizozim.....	10
2.2.7. Imunoglobulini	10
2.2.8. Lipidi.....	10
3. Fermentirana mlijeka magarice	12
3.1. Fermentirani proizvodi mlijeka magarice.....	15
3.1.1. Jogurt od mlijeka magarice.....	15
3.1.2. Probiotička fermentirana mlijeka magarice.....	17
3.1.3. Kumis od mlijeka magarice	20
3.1.4. Kefir od mlijeka magarice	21
4. Zaključak.....	23
5. Popis literature.....	24
Životopis.....	30

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Emila Milat**, naslova

FERMENTIRANA MLIJEKA MAGARICE

Mlijeko magarica se u prehrani sve češće koristi kao zamjena za kravlje mlijeko zbog njegovog pozitivnog utjecaja na zdravlje čovjeka. Istraživanjima je utvrđeno da je ono izvrsna zamjena za kravlje mlijeko u osoba s alergijama na proteine kravljeg mlijeka te da sudjeluje u prevenciji bolesti srca i hiperkolesterolemije. Antimikrobnog je djelovanja zbog visokih koncentracija lizozima i laktoferina. Mlijeko magarice ima slabu sposobnost zgrušavanja zbog visokog udjela proteina sirutke (35-50%) zbog čega nije pogodno za proizvodnju sira. Stoga se posljednjih godina mlijeko magarice sve više koristi za proizvodnju različitih vrsta fermentiranih mlijeka.

Ključne riječi: mlijeko magarica, fermentirano mlijeko, fermentirani mliječni proizvodi

Summary

Of the master's thesis – student **Ema Milat**, entitled

FERMENTED DONKEY MILK

Donkey milk is increasingly used in human diets as a substitute for cow's milk due to its benefits on the human health. Studies have shown that it is an excellent substitute for cow's milk for people with cow's milk proteins allergies as well as it helps in the prevention of heart disease and hypercholesterolemia. It has antimicrobial activity due to the high concentrations of lysozyme and lactoferrin. Donkey milk has poor coagulation ability due to high whey protein content (35-50%), which makes it unsuitable for cheese production. Therefore, in recent years donkey milk is increasingly used for production of various types of fermented milks.

Keywords: donkey milk, fermented milk, fermented milk products

1. Uvod

Mlijeko magarice u posljednjem desetljeću dobiva sve veću pozornost, u zemljama u razvoju i razvijenim zemljama, zbog svojih povoljnih zdravstvenih, bioloških i funkcionalnih svojstava. Danas se mlijeko magarice u Europi koristi kao zamjena za humano mlijeko, ali i za kravlje kod osoba alergičnih na proteine kravljeg mlijeka. Njegova visoka sličnost s humanim mlijekom čine ga visoko probavljivim te je bogat izvor esencijalnih nutrijenata. Osim nutritivne vrijednosti, magarećem mlijeku pripisuju se funkcionalna svojstva poput antimikrobnih, antioksidativnih, protuupalnih, antivirusnih i imunološki modulirajućih aktivnosti zbog veće količine imunoglobulina, lizozima, laktoferina, ω -3 masnih kiselina i bioaktivnih peptida (Aspri i sur., 2018).

Magarac (*Equus asinus*) član je porodice kopitara, pripitomljeni je član obitelji Equidae. Pripitomljavanje magarca započelo je oko 6000. godina prije Krista u današnjoj Libiji, počevši od jedne ili dvije podvrste afričkih divljih magaraca (*E. africanus*). Tijekom stoljeća magarci su se proširili u Aziji, Indiji, Južnoj Americi i južnoj Europi. Globalna populacija magaraca procijenjena je na otprilike 50,5 milijuna grla u 2019., a najviše ih je u Africi (60,6%), Aziji (26,2%) i Srednjoj/Južnoj Americi (12%) (FAOSTAT, 2021). Magarci imaju životni vijek od 30 do 50 godina, a u prošlosti su korišteni za jahanje, za prijevoz na kratke udaljenosti i kao radne životinje na nepristupačnim terenima. Ostale namjene magaraca uključuju proizvodnju mlijeka (koristi se u prehrani i kozmetičkoj industriji), proizvodnju mesa, u terapiji osoba s određenim poteškoćama i u rekreativne svrhe kao što su jahanje i ekoturizam (Aspri i sur., 2016). Njihov broj se u pojedinim zemljama smanjuje zbog mehanizacije poljoprivrede, ali se sve veći broj magaraca počinje koristiti za proizvodnju mlijeka. Zanimanje za mlijeko magarice posljednjih godina sve je veće, posebice kao zamjena za kravlje mlijeko ili hrana s povećanom zdravstvenom vrijednošću (Samaržija, 2016).

Iako se mlijeko najčešće konzumira u svježem obliku, potrošnja fermentiranih mliječnih proizvoda u uzlaznom je trendu zbog svojih terapijskih učinaka i pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje (John i Deeseenthum, 2015; Yimibesoglu i Oztruk, 2020). Fermentacija mlijeka je tradicionalna metoda konzerviranja mlijeka, ali i praksa koja se koristi za poboljšanje kvalitete i okusa mliječnih proizvoda (Fiorda i sur., 2017). Prema Samaržija (2015) fermentirana mlijeka su

mliječni proizvodi dobiveni modifikacijom sirovog mlijeka djelovanjem mikroorganizama. Za njihovu proizvodnju najčešće se koriste bakterije mliječne kiseline (BMK), kvasci i plijesni. BMK imaju sposobnost fermentacije laktoze (mliječnog šećera) do mliječne kiseline koja je osobita za fermentirane proizvode. Selekcijom vrsta BMK stvara se pojedinačni identitet svakog fermentiranog proizvoda, a njihovo simbiotsko djelovanje u optimalnim uvjetima daje svakom proizvodu specifična obilježja. Iako se fermentirana mlijeka uobičajeno proizvode od kravljeg mlijeka, sve je šira paleta proizvoda od kozjeg, ovčjeg, kobiljeg i mlijeka magarice, bivolice, jaka, deve, ili njihovih različitih mješavina. U tom smislu fermentirana mlijeka magarice pokazuju veliki potencijal za proizvodnju novih proizvoda. Primjerice, zbog visokog udjela laktoze u mlijeku magarice, fermentacijom se taj udio smanjuje pa je ono prikladno i za osobe koje pate od netolerancije na laktozu. Istraživanja koje uključuju razvoj i karakterizaciju fermentiranog mlijeka magarice još uvijek nema dovoljno, a konzumacija mlijeka magarice još uvijek je ograničena, unatoč njegovim karakteristikama.

Cilj ovog rada je na temelju rezultata dosadašnjih istraživanja prikazati mogućnost korištenja mlijeka magarice u proizvodnji različitih vrsta fermentiranih mlijeka.

2. Pregled literature

2.1. Mlijeko magarice

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 različite kriterije, ali za razliku od komercijalnih vrsta mlijeka, mlijeko magarice radi fizioloških razlika u sekreciji mlijeka može se stavljanje u promet 24-36 sati nakon mužnje, a prema propisima Europske Unije o sigurnosti sirovog mlijeka ono se smatra ispravnim ako sadrži ukupan broj bakterija između 25 000 i najviše 500 000 cfu mL⁻¹ (EC 852 i 853/04). Ostali kriteriji o sigurnosti mlijeka su za mlijeko magarice isti kao za ostala sirova mlijeka najmjenjena za humanu konzumaciju (Samaržija, 2016).

U 19. stoljeću mlijeko magarice redovito su konzumirali pripadnici više društvene klase, dok ga je niža klasa koristila kao lijek za djecu ili starije osobe. Mlijeko magarice korišteno je i u francuskim sirotištima s pozitivnim rezultatima na rast i zdravlje dojenčadi usporedno s korištenjem kravljeg mlijeka (Fantuz i sur., 2016). Zbog već tradicionalne upotrebe početkom 20. stoljeća osnovane su prve farme magaraca u Italiji, Francuskoj, Belgiji, Švicarskoj i Njemačkoj (Aspri i sur., 2016). Tako je krajem 20. stoljeća započela prodaja mlijeka magarice upravo za dojenčad, siročad, bolesnu djecu i stariju populaciju.

Proizvodnja mlijeka magarice uvelike se razlikuje od konvencionalne proizvodnje drugih mliječnih vrsta. Razlike su najviše vidljive u količini proizvedenog mlijeka jer je mliječna žlijezda magarice malog kapaciteta (najviše 2-2,5L) zbog čega se proizvodnja izražava u mL/mužnji. Mužnja se provodi višekratno, 3 do 7 puta dnevno pri čemu količina pomuženog mlijeka iznosi između 100 i 1000 mL mlijeka/dan (Samaržija, 2016). Istraživanja su pokazala da su najveće količine mlijeka dobivene od mužnji koje se provode tri puta dnevno svaka tri sata, dok veći broj mužnji ima negativan utjecaj na zdravlje mliječne žlijezde (Alabiso i sur., 2009, Aspri i sur., 2016). Magaricu i pule (mladunče) potrebno je odvojiti 3 sata prije prve mužnje, nakon svake mužnje puletu se dopušta da posiše zaostalo mlijeko te ih se ponovno odvaja, a nakon zadnje dnevne mužnje pušta ih se da budu zajedno kako bi pule sisalo tijekom noći. Proizvodnja mlijeka magarice, odnosno laktacija traje 6-10 mjeseci i uglavnom je bazirana na manjim farmama, u

poluekstenzivnim uvjetima. Za potpuno izmuzivanje mliječne žlijezde potrebna je prisutnost puleta, odnosno vizualni kontakt s magaricom, ali bez fizičkog kontakta kako pule ne bi posisalo mlijeko.

Magarice koje se pule u jesensko-zimskom razdoblju daju više mlijeka od magarica koje se pule u proljetno-ljetnom razdoblju budući da sezonski toplinski stres može štetno utjecati na količinu i kvalitetu mlijeka (Bhardwaj i sur., 2020).

Mlijeko magarice dobar je alternativan izbor hrane za djecu i odrasle koji pate od alergije na kravlje mlijeko te predstavljaju adekvatnu zamjenu masti i energije. Ono je pogodno u prevenciji arterioskleroze i poboljšanju imunološkog sustava kod starijih osoba. Za starije osobe pogodno je i zbog niskog udjela masti i nutritivno povoljnog udjela slobodnih masnih kiselina.

2.2. Kemijski sastav mlijeka magarice

Mlijeko magarice sastavom i svojstvima najbližije je humanom mlijeku, a zbog homogenog prehrambenog profila pogodno je za dojenčad i osobe starije životne dobi (Guo i sur., 2007). Razlog sličnosti magarećeg i humanog mlijeka još nije jasan, posebice jer magarci i ljudi imaju različitu filogenezu (Uniacke-Lowe i sur., 2010; Aspri i sur., 2016).

Tablica 2.1. Sastav magarećeg, humanog i kravljeg mlijeka

Parametar	Mlijeko magarice	Humano mlijeko	Kravlje mlijeko
pH	7,0 - 7,2	7,0 - 7,5	6,6 - 6,8
Proteini (g/100 g)	1,3 - 1,8	0,9 - 1,7	3,1 - 3,8
Mliječna mast (g/100 g)	0,3 - 1,8	3,5 - 4,0	3,5 - 3,9
Laktoza (g/100 g)	5,8 - 7,4	6,3 - 7,0	4,4 - 4,9
Kazeini (g/100 g)	0,6 - 1,0	0,3 - 0,4	2,4 - 2,8
Proteini sirutke (g/100 g)	0,4 - 0,9	0,6 - 0,8	0,5 - 0,7
Energija (kJ/kg)	1719	2680	2883

Izvor: Carminati i Tidona, 2017

2.2.1. Mliječna mast

Mliječna mast smatra se najvažnijom komponentom mlijeka. Udio mliječne masti ovisi o mnogo čimbenika kao što su hranidba, uvjeti držanja, broj i stadij laktacije, pasmina i način mužnje. Udio mliječne masti povezan je i s učinkom pražnjenja mliječne žlijezde i vremenom između dviju mužnji, pa je udio mliječne masti veći što je duže vrijeme između mužnji (Samaržija, 2016).

Sadržaj mliječne masti u mlijeku magarice iznosi od 0,28% do 1,82% (tablica 2.3.), a na njega u najvećoj mjeri utječu način i učestalost mužnje (Guo i sur., 2007; Aspri i sur., 2016). Ipak, sastav mliječne masti otkriva zanimljiv kvalitativni profil jer se sastoji od 80% do 85% triglicerida te većeg udjela slobodnih masnih kiselina (9,5%) i fosfolipida (5-10%) u usporedbi s humanim mlijekom (0,5-1,5%, odnosno 0,7-1,5%) (Claeys i sur., 2014; Carminati i Tidona, 2017). Unatoč niskom udjelu masti, mlijeko magarice karakterizira i nizak omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina, koji daje povoljne vrijednosti u smislu arterogenih i trombogenih indeksa i rezultata, vrlo korisnih u prevenciji kardiovaskularnih, autoimunih i upalnih bolesti (Chiofalo i sur., 2001; Carminati i Tidona, 2017).

Od zasićenih masnih kiselina (51,98%) najzastupljenija je palmitinska kiselina (prosječno 19,94%) dok nezasićene masne kiseline čine 48,02%, od koji je 28% mononezasićenih i 20,02% polinezasićenih masnih kiselina (Martemucci i D'Alessandro, 2012; Carminati i Tidona, 2017). Oleinska kiselina (prosječno 21,50%) najzastupljenija je mononezasićena, dok se sadržaj polinezasićenih uglavnom sastoji od α -linolenske i linolne kiseline.

2.2.2. Proteini

Ukupan sadržaj proteina mlijeka magarice poprilično je nizak (1,5 - 1,8 g/100g) u usporedbi s mlijekom drugih vrsta, a najbliži je humanom mlijeku. No, s obzirom na udio kazeina i proteina sirutke mlijeko magarice svrstavamo u albuminsko mlijeko jer je udio kazeina 40-50%, dok je udio proteina sirutke do 41%. Udio ukupnih proteina, kazeina i proteina sirutke prikazani su u tablici 2.3. Tako primjerice proteini sirutke obuhvaćaju α -La (1,80 mg/ml, 22,56%), β -Lg (3,75mg/ml, 29,85%), lizozim (1,00 mg/ml, 21,03%), imunoglobuline (11,5%), albumin krvnog seruma (6,2%) i

laktoferin (4,5%) (Fantuz i sur., 2001; Salimei i sur., 2003; Guo i sur., 2007; Aspri i sur., 2016) (tablica 2.3.).

Kazeini obuhvaćaju α 1 (35%), α 2 (7,19%), β (54,28%) i κ -kazein (2,79%) (Cosenza i sur., 2019). Zbog niskog sadržaja κ -kazeina u mlijeku magarice, smanjeno je djelovanje enzima kimozina (u usporedbi s kravljim mlijekom), pa je kod dodavanja kimozina u mlijeko magarice koagulum izrazito slab i ne dolazi do formiranja gel strukture (Samaržija, 2016). Također je zbog više koncentracije κ -kazeina i β -kazeina izoelektrična točka magarećeg mlijeka niža i iznosi pH 4,2. pH vrijednost mlijeka magarice i humanog mlijeka, neutralana je ili blago alkalana, vjerojatno zbog niskog sadržaja kazeina i fosfata u usporedbi s kravljim mlijekom (Carminati i Tidona, 2017), a upravo zbog slatkastog okusa mlijeko je dobro prihvaćeno kod djece. Mlijeko magarice u odnosu na kravlje mlijeko ima povoljan omjer kazeina i proteina sirutke koji iznosi 1-1,5:1 (Samaržija, 2016).

Tablica 2.2. Raspoređenost proteina sirutke u mlijeku magarice, kobile i humanom mlijeku

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

Izvor: Fox i sur., 2000; Salimei i Fantuz, 2012; Samaržija, 2016

2.2.3. Laktoza

Udio laktoze u mlijeku magarice prosječno iznosi 7,2% (tablica 2.3.) i taj je iznos značajno viši od udjela laktoze u mlijeku konvencionalnih mliječnih pasmina (Holstein, Jersey, smeđe govedo) (Samaržija, 2016). Visok sadržaj laktoze potiče procese osteogeneze, olakšava crijevnu apsorpciju kalcija i fosfora, utječe na nakupljanje minerala u strukturi kostiju što pridonosi prevenciji osteoporoze. Osim toga, laktoza je odgovorna za slatkasti i djeci prihvatljiv okus takve vrste

mlijeka (Iacono i sur., 1992). Laktoza predstavlja glavni izvor energije u mlijeku magarice te je lako je probavljiva za humani organizam. Glikemijski indeks označava koliko brzo hrana koja sadrži ugljikohidrate podiže razinu glukoze u krvi te ga izražavamo u brojevima 0-100. Glikemijski indeks mlijeka magarice je visok i iznosi ~90, a recipročno energetska vrijednost i sadržaj proteina su niži. Zbog niske energetske vrijednosti (23 kcal /151 KJ) mlijeko magarice smatra se brzim izvorom energije nakon tjelesne aktivnosti i preporučuje se sportašima.

Laktoza iz mlijeka magarice utječe i na mineralizaciju kostiju kod novorođenčadi jer potiče crijevnu apsorpciju kalcija (Schaafsma, 2003; Carminati i Tidona, 2017). Neizravan pozitivan utjecaj na probavljivost imaju oligosaharidi (3-silnilaktoza, 6-sialillaktoza, disialil-lakto-N-tetraoza) koji se u manjim količinama nalaze i u humanom mlijeku (Monti i sur., 2015). Prisutnost ovih oligosaharida potvrđuje prikladnost mlijeka magarice u prehrani dojenčadi zbog njegovog potencijala modulacije rasta crijevne flore, utjecaja na gastrointestinalne i upalne procese te zaštite od bakterijskih i virusnih infekcija (Kunz i Rudolff, 2016; Carminati i Tidona, 2017).

Tablica 2.3. Udjeli mliječne masti, laktoze, ukupnih proteina, kazeina i proteina sirutke u mlijeku različitih vrsta muznih životinja

Vrsta	Mliječna mast (%)	Laktoza (%)	Ukupni protein (%)	Kazein (%)	Proteini sirutke (%)
Krava	3,3 - 4,7	4,6 - 4,8	3,4	2,6 - 2,8	0,6
Koza	4,1 - 4,5	4,3 - 4,7	2,9	2,5 - 3,0	0,4 - 0,6
Ovca	4,0 - 9,9	4,6 - 4,8	5,5	4,6	0,9 - 1,0
Bivolica	4,5 - 8,6	4,8	4,3	3,6	0,7
Zebu	4,7	4,9	3,2	2,6	0,6
Bizon	18,0	5,7	4,5	3,7	0,8
Jak	6,7	4,6	5,5	-	-
Deva	4,5	5,1	3,8	2,7	0,9
Kobila	1,7 - 1,9	6,2	2,5	1,3	1,2
Magarica	1,5	7,4	2,0	1,0	1,0

Izvor: Walstra i sur., 1999; Fox i sur. 2000; Samaržija, 2016

2.2.4. Vitamini i minerali

Vitamini u mlijeku podložni su promjenama stoga njihova koncentracija nije konstantna (tablica 2.4.). Promjene u koncentraciji ovise o sezoni i hranidbi, dok je manji utjecaj pasmine i vrste.

Visok sadržaj vitamina prisutnih u magarećem mlijeku daje mu visoku prehrambenu vrijednost (Cunsolo i sur., 2007) te pruža mnoge dobrobiti za ljudsko zdravlje (Tafaro i sur., 2007; Aspri i sur., 2016). U odnosu na humano mlijeko, mlijeko magarice ima veću koncentraciju askorbinske kiseline (vitamin C). Mlijeko magarice ima nizak udio vitamina topljivih u mastima (A, D, E, K). Također sadrži više koncentracije vitamina B₁₂ (kobalamin) koji je odgovoran za održavanje zdravlja živčanih stanica i pomaže u izgradnji DNA; vitamina B₁ (tiamin) i B₂ (riboflavin), no manju koncentraciju vitamina B₃ (niacin) od humanog ili kobiljeg mlijeka. Vitamini (A, B₂, C, E) provode antioksidativne aktivnosti te su vrlo važni za usporavanje starenja i regeneraciju kože (Guo i sur., 2007; Carminati i Tidona, 2017).

Visoki ukupni sadržaj vitamina C u mlijeku magarice predstavlja preporučeni dnevni unos vitamina C (57 mg/L) za djecu u dobi 6-12 mjeseci (Gubić i sur., 2014), a bogato je i D vitaminom (23 mg/L) (Fantuz i sur., 2016; Papademas i sur., 2022). Mlijeko magarice sadrži 410 mg/L vitamina B₁, 640 mg/L B₂, 740 mg/L B₃, 1,6 mg/L folne kiseline, 18,75 μ M nikotinske kiseline i 5,38 μ M vitamina B₆ (Fantuz i sur., 2016; Papademas i sur., 2022). Nikotinska kiselina snižava udio masti dok je folna kiselina važna u trudnoći i za rast djeteta (Vincenzetti i sur., 2020).

Sadržaj većine mineralnih tvari veći je u mlijeku magarice nego u humanom mlijeku, ali je znatno niži u mlijeku preživača (Fantuz i sur., 2012; Carminati i Tidona, 2017). Konzumacija 100 g mlijeka magarice osigurava 84,65% preporučenog dnevnog unosa kalcija, 82,96% fosfora, 60,19% natrija i 20-28% magnezija, kalija i cinka (Cavalcanti i sur., 2021).

Tablica 2.4. Mineralni sastav različitih vrsta mlijeka

Minerali (mg/100ml)	Magarica	Kobila	Krava	Ovca	Koza	Žena
Kalcij	33 - 115	50 - 135	112 - 123	159 - 242	85 - 198	28 - 34
Fosfor	32 - 73	20 - 121	59 - 119	124 - 175	79 - 153	14 - 43
Kalij	24 - 75	25 - 87	106 - 163	94 - 162	140 - 242	53 - 62
Magnezij	2 - 8	3 - 12	7 - 12	16 - 25	10 - 36	3 - 4
Natrij	10 - 27	8 - 58	58	30 - 75	28 - 59	10 - 18
Klor	14 - 50	19	100 - 119	99 - 160	104 - 209	60 - 63
Željezo	0,04 – 0,26	0,02 – 0,15	0,03 – 0,10	0,08 – 0,10	0,05 – 0,10	0,04 – 0,20
Cink	0,10 - 0,30	0,09 - 0,64	0,30 - 0,55	0,40 - 0,90	0,40 - 0,60	0,20 - 0,40
Bakar	0,01 – 0,03	0,02 – 0,11	0,01 – 0,08	0,03 – 0,05	0,02 – 0,05	0,02 – 0,06

Izvor: Claeys i sur., 2014; Barreto i sur., 2019

2.2.5. Laktoferin

Laktoferin predstavlja glikoprotein koji u svojoj strukturi sadrži željezo (Fe), njegov kapacitet za vezanje željeza omogućuje inhibiciju bakterijskog rasta. Udio laktoferina u mlijeku magarice sličan je onome u humanom mlijeku i iznosi oko 0,08 g/L te čini više od 2% ukupne proteinske frakcije (Polidori i Vincenzetti, 2012; Samaržija, 2016; Madhusudan i sur., 2017).

Laktoferin sudjeluje u regulaciji homeostaze, staničnom rastu te ima antimikrobno i antivirusno djelovanje (Ward i sur., 2005; Madhusudan i sur., 2017). Također ima snažno djelovanje protiv ECHO virusa (enterični citopatski humani *orphan* virusi) koji je izuzetno infektivan u djece (Samaržija, 2016). Soj *L. paracasei* koji proizvodi bakteriocin izoliran je iz magarećeg mlijeka te je utvrđeno da bakteriocin ima antimikrobna svojstva protiv pojedinih patogenih bakterija (*Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*) (Sa i sur., 2011; Aspri i sur., 2016).

2.2.6. Lizozim

Funkcija lizozima je zaštita mliječne žlijezde te sprečavanje infekcija dojenčadi, sinergijskim djelovanjem s laktoferinom i imunoglobulinima. Visok sadržaj lizozima u magarećem mlijeku odgovoran je za nizak broj bakterija te ga čini prikladnim za konzumaciju u svježem obliku kod male djece, a u probavnom traktu dojenčadi djeluje na smanjenje gastrointestinalnih infekcija (Businco i sur., 2000). Koncentracija lizozima u mlijeku magarice iznosi od 0,8 do > 4,0 g kg⁻¹ (Guo i sur., 2007; Gubić, 2014).

Lizozim se u ljudskom organizmu nalazi u tkivima i stanicama koje su najizloženiji različitim štetnim tvarima. U kojima ima antimikrobno, antivirusno, antiinflamatorno, proregenerativno, imunomodulatorno, antitumorsko i antialergijsko djelovanje (Samaržija, 2016; Madhusudan i sur., 2017). Također, ima antimikrobni učinak na njega su osjetljive i gram-pozitivne i neke gram-negativne bakterije (Samaržija, 2016).

Lizozim veže kalcij (Ca) čime povećava aktivnost i stabilnost enzima te je rezistentan na kiseline i razgradnju proteazama i stabilan na djelovanje topline (Samaržija, 2016).

2.2.7. Imunoglobulini

U mlijeku magarica nalaze se tri skupine imunoglobulina IgG, IgA i IgM. Njihovi omjeri određeni su vrstom mlijeka, a glavna funkcija je obrana organizma od infekcija. U sastavu kolostruma dominantan je IgG, a u zreom mlijeku magarice dominantan je IgA (Samaržija, 2016).

2.2.8. Lipidi

Mlijeko magarice bogato je linolnom i α -linolenskom kiselinom. Linolna kiselina prekursor je za prostaglandin E koji prevenira gastrične ulkuse. Zbog funkcija navedenih masnih kiselina smatra se da mlijeko kopitara ima terapijski učinak i pomaže u liječenju ulkusa, tuberkuloze i hepatitisa.

Zbog omega masnih kiselina koje djeluju na zaštitu imunološkog sustava mlijeko magarice pogodno je za konzumaciju od starijih osoba (Samaržija, 2016). Mlijeko magarice prirodan je izvor lipida visoke sličnosti s humanim mlijekom. Njegovo pozitivno djelovanje ogleda se u regulaciji imunološkog sustava (Chiofalo i sur., 2011; Madhusudan i sur., 2017). Udio masnih kiselina

najviše ovisi o hranidbi životinja i nutritivnoj vrijednosti hrane pa tako izborom odgovarajuće ishrane i obroka možemo odrediti skupinu potrošača za koju proizvodimo mlijeko (Samaržija, 2016).

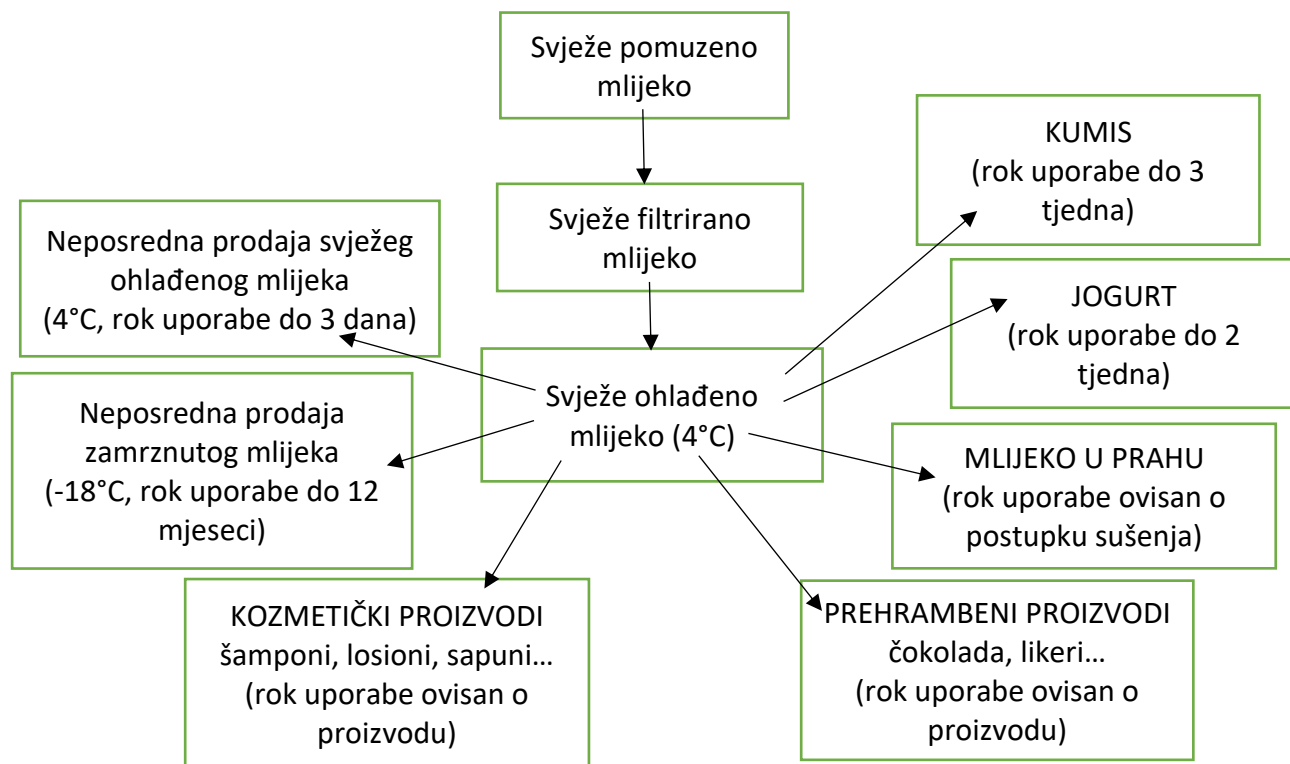
3. Fermentirana mlijeka magarice

Fermentacijom mlijeka magarice mogu se poboljšati funkcionalna svojstva kao što su antimikrobna, antioksidativna, antivirusna, protuupalna i imunomodulatorna aktivnost, ali istraživanja vezana za njegov razvoj i karakterizaciju još uvijek nema dovoljno (Tidona i sur., 2015; Aspri i sur., 2018; Miao i sur., 2020; Cavalcanti i sur., 2021).

Interes za funkcionalnu hranu posljednjih godina brzo raste, a u usporedbi sa sirovim mlijekom fiziološka vrijednost fermentiranih mlijeka je veća (Samaržija, 2016). Potrošači uviđaju njena zdravstvena i prehrambena svojstva kao i dobiti kod liječenja raznih bolesti. U tom smislu za mlijeko magarice postoji sve veći interes od strane potrošača svih dobnih skupina. Ono može biti alternativni izvor hrane kod osoba, pretežito djece s alergijom na proteine kravljeg mlijeka. Međutim, zbog visokog sadržaja laktoze nije prikladno za osobe koje pate od netolerancije na laktozu stoga proizvodnja fermentiranih mlijeka magarice može biti jedno od rješenja. Funkcionalna vrijednost mlijeka magarice može se povećati dodatkom odabranih mikrobnih vrsta koje imaju probiotička svojstva. Samaržija (2016) navodi kako se blagotvoran učinak na humano zdravlje očituje na dva načina – direktno preko aktivnosti živih stanica ili indirektno preko metaboličkih produkata kao što su bioaktivni lipidi, oligosaharidi ili ω -3 i ω -6 masne kiseline. Stoga razvoj novih tehnologija korištenjem mlijeka magarice u proizvodnji mliječnih proizvoda predstavlja inovativnu alternativu na tržištu (Cavalcanti i sur., 2021).

Prerada mlijeka magarice u mliječne proizvode (sir, jogurt) predstavlja izazov poglavito zbog niskog udjela α _S- i κ kazeina te ukupne suhe tvari, parametara koji utječu na koagulaciju i teksturu krajnjeg proizvoda. U proizvodnji sira, pri koagulaciji nastaje slab gruša, a i u slučaju dodavanja transglutaminaza, krajnji kemijski sastav i boja sira nisu zadovoljavajući (D'Alessandro i sur., 2019, 2021). Zbog slabe sposobnosti stvaranja gruša, mlijeko se uglavnom koristi za proizvodnju proizvoda kao što je jogurt s probiotičkim djelovanjem (Aspri i sur., 2016), a najčešće se koristi rod *Lactobacillus* (Prasad, 2020). Danas se razvijaju različite vrste fermentiranih prehrambenih proizvoda slijedeći zahtjeve tržišta, a nutritivna i organoleptička svojstva fermentiranih proizvoda ovise o kvaliteti mlijeka, korištenoj mikrobnj kulturi i tehnološkim postupcima proizvodnje.

Simbioza *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* karakterizira jogurtnu kulturu, a moguće ih je kombinirati i s drugim bakterijama mliječne kiseline koja imaju probiotička svojstva (Perna i sur., 2015). Probiotici (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*) kao „živi mikroorganizmi“ imaju zdravstvene koristi za domaćina kada se konzumiraju u odgovarajućim količinama (Araya i sur., 2002; Perna i sur., 2015). Pritom je održivost probiotičkih sojeva u mlijeku magarice zabilježena kao visoka (Chiavari i sur., 2005; Perna i sur., 2015). Probiotici se uobičajeno dodaju klasičnoj jogurtnoj kulturi kako bi se postigle funkcionalne i zdravstvene koristi za ljude jer bakterije jogurta ne preživljavaju probavu u gastrointestinalnom traktu i ne koloniziraju ljudska crijeva (Shah, 2000; Schrezenmeir i de Vrese, 2001; Perna i sur., 2015). Nedavne studije pokazale su da konzumacija probiotika ima mnoge zdravstvene prednosti kao što su: poboljšana probava laktoze, prevencija dijareje, podrška imunološkom sustavu, smanjenje kolesterola, prevencija urogenitalnih funkcija i raka debelog crijeva i druge (Hekmat i sur., 2009; Perna i sur., 2015).



Slika 3.1. Mogući postupci s mlijekom kopitara nakon mužnje

Izvor: Ivanković, 2014

Fermentacija mlijeka bakterijama mliječne kiseline (BMK) jedna je od ekonomičnih i praktičnih metoda za proizvodnju fermentiranih mliječnih proizvoda obogaćenih bioaktivnim peptidima (Hayes i sur., 2007; Aspri i sur., 2018). BMK hidroliziraju proteine laktoze, kazeina i sirutke oslobađanjem velikog broja organskih kiselina, peptida i aminokiselina (Perna i sur., 2015), a tijekom fermentacije BMK koriste laktozu kao supstrat i proizvode mliječnu kiselinu, povećavajući kiselost proizvoda (Tidona i sur., 2015; Cavalcanti i sur., 2021). Niska kiselost mlijeka magarice povezana je s niskim udjelom fosfata i kazeina (Altomonte i sur., 2019; Cavalcanti i sur., 2021) te tako rezultira vrlo kvarljivim proizvodom, stoga proces pasterizacije treba provoditi brzo, a sama proizvodnja fermentiranih mlijeka može biti zahtjevna.

Fermentirani mliječni proizvodi imaju velik antioksidativni potencijal zbog prisutnosti različitih bioaktivnih peptida iz mliječnih proteina dobivenih proteolizom od strane BMK (Kudoh i sur., 2001; Virtanen i sur., 2007; Gomez-Ruiz i sur., 2008; Perna i sur., 2015). Sastav samih aminokiselina, njihov slijed i konfiguracija utječu na antioksidativna svojstva peptida (Pena-Ramos i Xiong, 2001; Perna i sur., 2015), a nekoliko autora navodi vrlo jaku antioksidativnu aktivnost peptida jer sadrže metionin, cistein, valin prolin, histidin i lizin (Rajapakse i sur., 2005; Perna i sur., 2015). Antioksidativni kapacitet uvjetovan je i toplinskom obradom koju prolazi mlijeko (Galleher i sur., 2005; Perna i sur., 2015), fermentacijom i postacidifikacijom tijekom skladištenja koja određuje nastajanje organskih kiselina (Correia i sur., 2004; Perna i sur., 2015).

Pohranom fermentiranog mlijeka magarice (od 1. do 21. dana) dolazi do povećanja zasićenih masnih kiselina i smanjenja razine mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina (Cavalcanti i sur., 2021). Navedeno je povezano sa sposobnošću BMK da dosegne odgovarajuće proporcije nezasićenih masnih kiselina te duljinom lanca istih u membrani stanice (Vieira i sur., 2015; Cavalcanti i sur., 2021).

Fermentacijom mlijeka magarice također dolazi do povećanja ukupnog broja aminokiselina, no smanjuje se udio 7 esencijalnih aminokiselina (treonin, valin, metionin, lizin, leucin, izoleucin, triptofan).

Rezultati analize masnih kiselina pokazuju da prerada mlijeka za proizvodnju fermentiranog mlijeka magarice poboljšava profil masnih kiselina proizvoda, ali je preporučljivo konzumirati ga u prvim danima skladištenja moguće oksidacije lipida tijekom

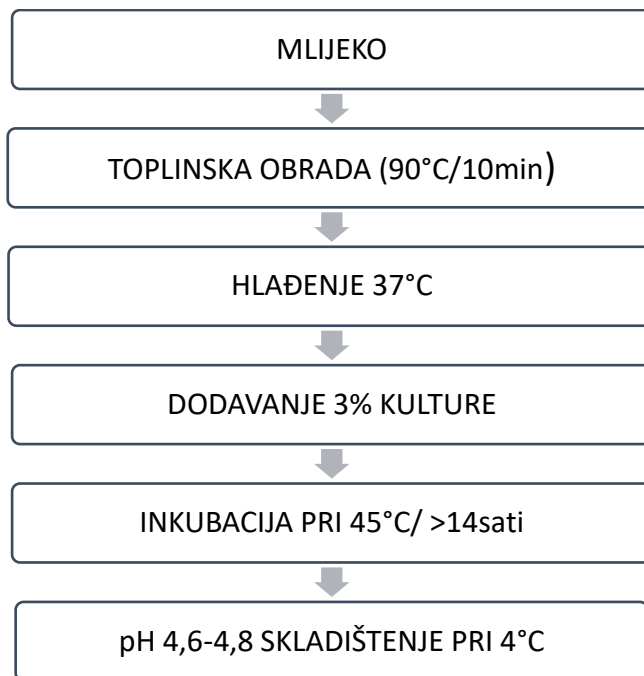
duljeg skladištenja. Također, konzumacijom 100 g fermentiranog mlijeka magarice osigurava se 66% preporučenog dnevnog unosa kalcija, 75-76% fosfora, 35-36% natrija i 17-24% magnezija, kalija i cinka (Cavalcanti i sur., 2021).

3.1. Fermentirani proizvodi mlijeka magarice

3.1.1. Jogurt od mlijeka magarice

Zbog povećanog interesa za mlijekom magarice u pedijatrijskim dijetama došlo je do potrebe razvitka novih oblika istog, posebice kao fermentiranih proizvoda.

Eksperimentalan dijagram proizvodnje jogurta od mlijeka magarice prikazan je na slici 3.2. U proizvodnji jogurta osim mlijeka magarice dodaje se i mlijeko preživača u različitim omjerima. Najčešće se dodaje kravlje ili ovčje (Tsakali i sur., 2016), no moguće je dodati i kozje ili bivolje mlijeko (Gomes i sur., 2022). Zbog specifičnog sastava, mlijeko magarice ima slabu sposobnost koagulacije i do iste ne dolazi korištenjem samo mlijeka magarice (Tsakali i sur., 2016).



Slika 3.2. Dijagram proizvodnje jogurta od mlijeka magarice

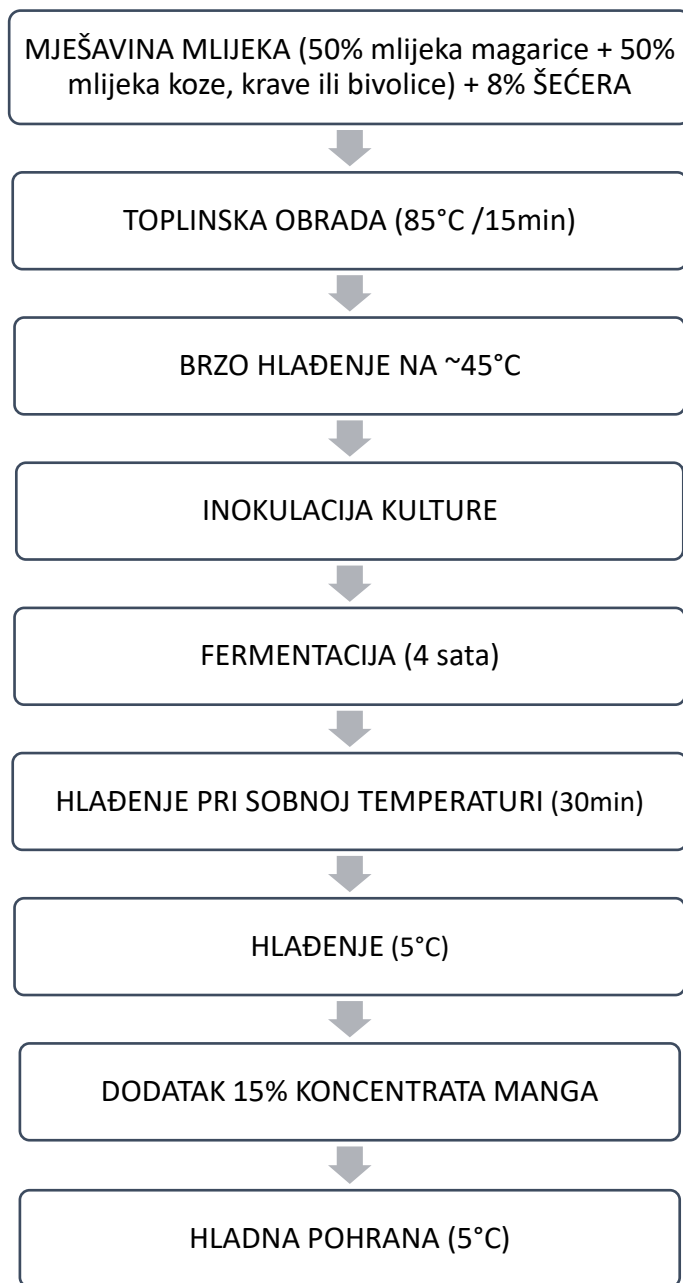
Izvor: Tsakali i sur., 2016

Koncentracija laktoze u jogurtu se smanjuje zbog sposobnosti BMK koje laktozu koriste za proizvodnju mliječne kiseline. Tako Perna i sur. (2015) navode da je koncentracija laktoze početku pohrane standardnog i probiotičkog jogurta sadržaj iznosi 4,54% (standardni) i 4,74% (probiotički), sadržaj laktoze postupno se smanjivao tijekom pohrane te nakon 30 dana iznosio je 2,36% u standardnom jogurtu i 2,10% u probiotičkom. Najveća antioksidativna aktivnost navedena dva jogurta zabilježena je nakon 30 dana pohrane, a dobiveni rezultati pokazali su da je antioksidativna vrijednost usko povezana s razgradnjom proteina mlijeka i često ovisi o sastavu BMK koje se koriste u proizvodnji (Perna i sur., 2015).

Senzornom analizom ovih dvaju jogurta procijenjena je opća prihvatljivost, izgled, miris, boja, tekstura i okus. Oba jogurta od mlijeka magarice postigla su dobru ocjenu prihvatljivosti. Manja je razlika uočena u okusu između standardnog i probiotičkog jogurta. Taj bi se rezultat mogao objasniti velikom sposobnošću probiotika u povećanju koncentracije organskih kiselina (mliječne i octene) i proteolize koja uključuje progresivnu hidrolizu kazeina na peptide, polipeptide i aminokiseline tijekom fermentacije te hlađenja jogurta, što utječe na okus samog jogurta (Donkor i sur., 2007; Allgeyer i sur., 2010; Perna i sur., 2015).

Perna i sur. (2015) navode kako probiotički jogurt od mlijeka magarice u odnosu na standardni ima manji sadržaj laktoze i veću antioksidativnu aktivnost, zbog čega je prihvatljiva hrana za osjetljive skupine potrošača, onih s netolerancijom na laktozu ili proteine kravljeg mlijeka.

Gomes i sur. (2022) u svom su istraživanju pripremali tri vrste jogurta od mlijeka magarice u koje je dodano I) kozje, II) kravlje i III) bivolje u istom omjeru (50 : 50). Za potrebe proizvodnje korištena je mješovita kultura *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus salivarius* subsp. *termophilus* uz dodatak koncentratne pulpe manga (slika 3.3.). Autori navode da miješanje mlijeka magarice s drugim vrstama mlijeka može rezultirati boljim kemijskim sastavom i boljom konzistencijom gotovog proizvoda.



Slika 3.3. Dijagram prerade u proizvodnji jogurta s dodatkom manga

Izvor: Gomes i sur., 2022

3.1.2. Probiotička fermentirana mlijeka magarice

Osim jogurta od mlijeka magarice, eksperimentalne studije potvrdile su prikladnost mlijeka magarice za proizvodnju fermentiranih mlijeka korištenjem probiotičkih sojeva.

Za proizvodnju probiotičkog jogurta korišteni su sojevi *Lactobacillus fermentum* ME-3 i *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 zbog svojih probiotičkih i antimikrobnih aktivnosti te antioksidativnog djelovanja (Samaržija, 2016). Tehnologija proizvodnje probiotičkih fermentiranih mlijeka slična je proizvodnji fermentiranih mlijeka (slika 3.4.).

Najznačajnije faze proizvodnje su: homogenizacija, pasterizacija (63°C/30 min), hlađenje mlijeka na 37°C te inokulacija probiotičkim sojevima *Lactobacillus fermentum* ME-3 i *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Nakon 14 dana pohrane preživljavanje oba inokulirana soja iznosilo je više od 10^8 cfu mL⁻¹ te zbog toga fermentirano mlijeko može biti klasificirano kao probiotičko fermentirano mlijeko (broj probiotičkog soja mora biti minimalno 10^6 cfu mL⁻¹ kako bi se mlijeko označavalo kao probiotičko). Koncentracija lizozima u fermentiranom mlijeku nije se bitno razlikovala od one u sirovom mlijeku te on nije negativno utjecao na preživljavanje bakterijskih sojeva.

Problemi u proizvodnji fermentiranih mlijeka može biti prilagodba (količina, brzina rasta) bakterijskih sojeva u mlijeku magarice. Nakon prilagodbe, bakterijski sojevi brzo fermentiraju mlijeko magarice, a obično se mlijeko inokulira količinom između 5 i 10% (Samaržija, 2016).



Slika 3.4. Prijedlog tehnologije za proizvodnju fermentiranog mlijeka magarice s dodatkom probiotičkih bakterija

Izvor: Chiavari i sur., 2005; Samaržija, 2016

Chiavari i sur. (2005) za potrebe istraživanja proizveli su probiotičko fermentirano mlijeko pri čemu su probiotički sojevi *Lactobacillus rhamnosus* AT 194 i CLT 2/2 te *Lactobacillus casei* LC88 izolirani iz sira Parmigiano Reggiano.

Mlijeko je nakon pasterizacije (63°C/30min), hlađenja (37°C) i odjeljivanja u sterilne tikvice od 100 ml, cijepljeno različitim količinama predkulture te inkubirano na 37°C. Brzina fermentacije praćena je svakih 12 sati do pada pH vrijednosti od 4,5 do 4,6. Mikrobiološke analize provedene su odmah nakon inokulacije, nakon postizanja pH 4,5-4,6 te nakon 7-og, 15-og i 30-og dana pohrane, procjenjujući rok trajanja. Rezultati analiza pokazali su visok sadržaj lizozima (>3 g/L⁻¹), no bez značajnije promjene u odnosu na sirovo ili termički obrađeno mlijeko, a provedena pasterizacija nije imala negativan utjecaj na antimikrobna svojstva mlijeka. Senzornom analizom nisu utvrđene razlike u okusu za razliku od mirisa proizvoda. Fermentirano mlijeko inokulirano sojem *L. casei* LC88 imalo je uravnoteženiji mirisni profil, dok je fermentirano mlijeko inokulirano sojem *Lactobacillus rhamnosus* AT 194 najbolje ocijenjeno zbog najboljeg okusa.

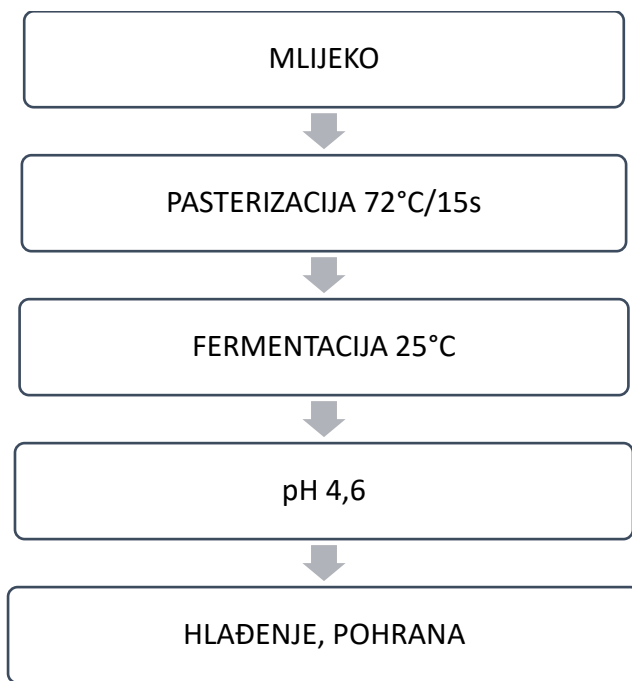
3.1.3. Kumis od mlijeka magarice

Kumis je najpoznatiji fermentirani proizvod mlijeka kopitara, prepoznatljiv i pod nazivom mliječno vino (Zelazowski i sur., 2016). Tradicionalno se proizvodi od mlijeka kobile ili mlijeka magarice u Srednjoj Aziji i Rusiji, najviše u Mongoliji, Kazahstanu i Kirgistanu. Specifičan je zbog svojih funkcionalnih i nutritivnih svojstava. Kumis ima pozitivno zdravstveno djelovanje na metabolizam, živčani sustav i bubrege (Zelazowski i sur., 2016).

Tradicionalna proizvodnja kumisa podrazumijeva spontanu fermentaciju u kožnoj vreći nazvanoj „turdusk“. Mikrobnom populacijom kumisa dominiraju *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.* i *Streptococcus spp.* bakterije te kvasci *Saccharomyces* i *Candida* (Papademas i sur., 2022). Kumis karakterizira oštar alkoholni i kiseli okus, zbog sadržaja etanola (1,0-2,5%) (Samaržija, 2016).

Proizvodnju kumisa dijelimo na tradicionalan i industrijski način proizvodnje. Kod tradicionalnog načina koristila se konjska koža, odnosno u današnje vrijeme, drvena posuda u kojoj se odvija fermentacija. Miješanjem mlijeka od prethodnog dana koje sadrži specifične bakterije i kvasce, i svježeg mlijeka, potiče se fermentacija na način da se jakim miješanjem u mlijeko inkorporira zrak koji potiče rast kvasca, a fermentacija traje nekoliko sati pri sobnoj temperaturi.

Industrijski način uključuje inokulaciju tehničke kulture u kravlje mlijeko, ona se nakon 3-4 dana dodaje u pasterizirano mlijeko kobile/magarice. Fermentacija traje do postizanja 0,55 mL mliječne kiseline u 100 mL⁻¹, uz snažno miješanje kako bi se inkorporirao zrak za rast kvasaca. Nakon fermentacije slijede postupci homogenizacije i hlađenje, a nakon pakiranja fermentacija se nastavlja na nižim temperaturama (Samaržija, 2016). Dijagram proizvodnje kumisa prikazan je na slici 3.5. (Zelazowski i sur., 2016).



Slika 3.5. Dijagram proizvodnje kumisa

Izvor: Zelazowski i sur., 2016

3.1.4. Kefir od mlijeka magarice

Kefir, iako manje poznat od jogurta, važan je mliječni napitak. Specifičnog je kiselog i alkoholnog okusa, a tradicionalno se proizvodi u planinama Kavkaza i na Tibetu (Jin, 1999; Perna i sur., 2018). Kefir je fermentirani mliječni proizvod bogat proteinima, vitaminima B skupine, kalijem i kalcijem.

Od jogurta se razlikuje vrstom i brojem prisutnih mikroorganizama. Jogurtne kulture su termofilne i mezofilne, dok se kefir proizvodi s različitim mezofilnim kulturama i kvascem, a sadrži

i veće količine probiotičkih kultura (Adriana i Socaciu, 2008; Perna i sur., 2018). Njegova redovita konzumacija povezana je s mnogim zdravstvenim dobrobitima, a kefir od mlijeka magarice ima visok antioksidativni potencijal.

Eksperimentalnom studijom Perna i sur. (2018) proizveden je kefir od mlijeka magarice. Faze proizvodnje uključivale su toplinsku obradu mlijeka pri 95°C/15min u vodenoj kupelji, hlađenje na 45°C te inokulaciju kefirnih zrna. Fermentacija mlijeka trajala je 24 sata pri 24°C nakon čega su zrna odvojena filtriranjem kroz sito. Kefir je punjen u plastične posude i pohranjen u hladnjak pri 4°C. Senzornom analizom kefir je opisan kao tekućina bijele boje i jačeg kiselog okusa, dobro prihvaćen od potrošača. Yimibesoglu i Oztruk (2020) u svome su istraživanju za proizvodnju kefira uzorke pasteurizirali na 65°C/30min, a zatim ohladili na 25°C. Inokuliran je 1g zrna kefira u 100mL ohlađenih uzoraka mlijeka te su pohranjeni na sobnoj temperaturi dok pH ne postigne 4,6. Kefir je zatim filtriran kroz sito. Ukupan broj mezofilnih bakterija, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* i kvasac prikazani su u tablici 3.1. Senzorna analiza osmišljena je kao slijepi test ocjenjivanja kiselosti, okusa, mirisa, viskoznosti i ukupnog dojma proizvoda, a mlijeko i kefir od mlijeka magarice uspoređivani su s mlijekom i kefirom od kravljeg mlijeka. Rezultati su pokazali bolju prihvaćenost kefira od kravljeg mlijeka koji je bio ugodnijeg mirisa i manje kiselosti. Iako lošije senzorno ocijenjen, kefir od mlijeka magarice zbog svojih dobrih (antibakterijskih i antioksidativnih) zdravstvenih svojstava i dalje predstavlja dobru alternativu kao dodatak prehrani potrošača.

Tablica 3.1. Prisutnost bakterijskih vrsta u kefiru od mlijeka magarice

Parametar	Broj (log cfu/mL)
Ukupni broj mezofilnih bakterija	7,87 ± 0,02
Kvasac	6,99 ± 0,03
<i>Lactobacillus</i>	8,38 ± 0,08
<i>Lactococcus</i>	8,13 ± 0,01
<i>Leuconostoc</i>	7,28 ± 0,05

Izvor : Yimibesoglu i Oztruk, 2020.

4. Zaključak

Potrošnja fermentiranih mliječnih proizvoda u stalnom je porastu zbog svojih terapijskih učinaka i pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje. U tom pogledu fermentirana mlijeka magarice pokazuju potencijal za proizvodnju. Tome doprinose i činjenice da se mlijeko magarice najčešće koristi kao zamjena za humano, ali i za kravlje u osoba alergičnih na proteine kravljeg mlijeka. Fermentirano mlijeko magarice ima antimikrobni, antioksidativni, protuupalni, antivirusni učinak na ljudsko zdravlje. Unatoč tome, danas na tržištu fermentirana mlijeka magarice nisu dovoljno zastupljena.

5. Popis literature

1. Adriana, P., Socaciu, C. (2008). Probiotic activity of mixed cultures of kefir's lactobacilli and non-lactose fermenting yeast. *Bulletin UASVM, Agriculture* 65 329–334.
2. Alabiso, A., Giosuè, C., Alicata, M. L., Mazza, F., Iannolino, G. (2009). The effects of different milking intervals and milking times per day in jennet milk production. *Animal* 3: 543–47.
3. Allgeyer, L.C., Miller, M.J., Lee, S.Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science* 93:4471–9
4. Altomonte, I., Salari, F., Licitra, R., Martini, M. (2019). Donkey and human milk: Insights into their compositional similarities. *International Dairy Journal*, 89, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.09.005>. Pristupljeno 4.8.2022.
5. Araya, M., Morelli, L., Reid, G., Sanders, M.E., Stanton, C., Pineiro, M., Embarek, P.B. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London (ON, Canada) 30:1–11.
6. Aspri, M., Economou, N. and Papademas, P., (2016). Donkey milk: An overview on functionality, technology, and future prospects. *Food Reviews International*, 33(3), 316-333.
7. Aspri, M., Leni, G., Galaverna, G., Papademas, P. (2018). Bioactive properties of fermented donkey milk, before and after in vitro simulated gastrointestinal digestion, *Food Chemistry* 268:476-484 doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.119>. Pristupljeno 4.8.2022.
8. Barreto, Í., Rangel, A., Urbano, S., Bezera, J. Oliviera, C. (2019). Equine milk and its potential use in the human diet. *Food Science and Technology*, 39 (suppl 1), 1-7.
9. Bhardwaj, A., Pal, Y., Avtar Legha, R., Sharma, P., Nayan, V., Kumar, S., Tripathi, H., Tripathi, B.N. (2020). Donkey milk composition and its therapeutic applications, *Indian Journal of Animal Sciences* 90 (6): 837–841.
10. Businco, L., Gianpietro, P. G., Lucenti, P., Lucaroni, F., Pini, C., Di Felice, G. (2000). Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105, 1031-1034.
11. Carminati, D., Tidona, F. (2017). Nutritional Value and Potential Health Benefits of Donkey Milk. *Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease*, 407-414.
12. Cavalcanti, N. S. H., Pimentel, T. C., Magnani, M., Pacheco, M. T. B., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., da Silva Santana, A. M., do Egypto Queiroga, R. de C. R. (2021). Donkey milk and fermented donkey milk: are there differences in the nutritional value and physicochemical characteristics? *LWT - Food Science and Technology* 144, 111239.
13. 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(6), 481-490.
14. Chiofalo, B., Salimei, E., Chiofalo, L. (2001). Ass's milk: exploitation of an alimentary resource. *Riv. Folium* 1, 235–241.

15. Chiofalo, B., Dugo, P., Bonaccorsi, IL., Mondello, L. (2011). Comparison of major lipid components in human and donkey milk: new perspectives for a hypoallergenic diet in humans. *Journal of Immunopharmacology Immunotoxicology*, 1(12):1-13.
16. Claeys, W.L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., Herman, L. (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 42, 188–201.
17. Codex Alimentarius. (2003). Codex Standard 243. Codex Standard for fermented milk. 2nd ed. FAO/WHO Rome (Italy).
18. Correia, I., Nunes, A., Duarte, I.F., Barros, A., Elgadillo, I. (2004). Sorghum fermentation followed by spectroscopic techniques. *Food Chemistry*, 90:853–9.
19. Cosenza G, Mauriello R, Garro G, Auzino B, Iannaccone M, Costanzo A, Chianese L and Pauciullo A. 2019. Casein composition and differential translational efficiency of casein transcripts in donkey's milk. *Journal of Dairy Research*, 86(2): 201–07.
20. Cunsolo, V., Costa, A., Saletti, R., Muccilli, V., Foti, S. (2007). Detection and sequence determination of a new variant β -lactoglobulin II from donkey. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 21(8), 1438–1446.
21. D'Alessandro, A. G., Martemucci, G., Faccia, M. (2021). Effects of microbial transglutaminase levels on donkey cheese production. *Journal of Dairy Research*, 88:351–356. <https://doi.org/10.1017/S0022029921000601>. Pristupljeno 7.8.2022.
22. D'Alessandro, A. G., Martemucci, G., Loizzo, P., Faccia M. (2019). Production of cheese from donkey milk as influenced by addition of transglutaminase. *Journal of Dairy Science*, 102:10867–10876. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16615>. Pristupljeno 7.8.2022.
23. Donkor, O.N., Henriksson, A., Singh, T.K., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007). ACE-inhibitory activity 441 of probiotic yoghurt. *International Dairy Journal* 17:1321–31.
24. 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. Pristupljeno 6.8.2022.
25. Fantuz, F., Salimei, E., Papademas, P. (2016). Macro-and micronutrients in non-cow milk and products and their impact on human health. U knjizi Tsakalidou, E., Papadimitrou, K. *Non-(2016) Bovine Milk and Milk Products*, Elsevier, 209–261.
26. Fantuz, F., Vincenzetti, S., Polidori, P., Vita, A., Polidori, F., Salimei, E. (2001). Study on the protein fractions of donkey milk. U: *Proceedings of 14th Congress ASPA (Associazione Scientifica di Produzioni Animali)*, Firenze, Italy
27. FAOSTAT. (2021). FAO Statistics Division. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> pristupljeno 19.7.2022.
28. Fiorda F.A., Pereira G.V.D., Tomaz-Soccol, V., Rakshit, S.K., Pagnoncelli, M.G.B. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiology*; 66: 86-95. doi: 10.1016/j.fm.2017.04.004. Pristupljeno 10.8.2022.

29. 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.
30. Galleher, J.J., Hollender, R., Peterson, D.G., Roberts, R.F., Coupland, J.N. (2005). Effect of composition and antioxidants on the oxidative stability of fluid milk supplemented with an algae oil emulsion. *International Dairy Journal* 15:333–41.
31. Gomes, R., Bezerra, M., Macedo, C., Olivera, I., Borba, L., Urbano, S., Anaya, K., Chagas, B., Andrade Neto, J., Oliveira, J., Rangel, A. (2022). Chemical evaluation of donkey milk yoghurt mixed with milk from different animal species. *Food Science and Technology*, 42.
32. Gomez-Ruiz, J., Lopez-Exposito, I., Pihlanto, A., Ramos, M., Recio, I. (2008). Antioxidant activity of ovine casein hydrolysates: identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *European Food Research and Technology* 227:1061–7.
33. Gubić, J., Tasić, T., Tomić, J., Torbica, A. (2014) Determination of whey proteins profile in Balkan donkey's milk during lactation period. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, volume 8, 178-180.
34. Gubić, J.M., Šarić, L.Ć., Šarić, B.M., Mandić, A.I., Jovanov, P.T., Plavšić, D.V., Okanović, Đ.G., (2014). Microbiological, chemical and sensory properties of domestic donkey's milk from autochthones Serbian Breed. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(9), 633–637.
35. Guo, H.I., Pang, K., Zhang, X.Y., Zhao, L., Chen, S.W., Dong, M.L., Ren, F.Z. (2007). Composition, physiochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. *Journal of Dairy Science*, 90, 1635–1643.
36. Hayes, M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Stanton, C. (2007). Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part I: overview. *Biotechnology Journal*, 2(4), 426-434.
37. Hekmat S, Soltani H, Reid G. (2009). Growth and survival of *Lactobacillus reuteri* RC-14 and *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 in yogurt for use as a functional food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10:293–6.
38. Iacono, G., Carroccio, A., Cavataio, F., Montalto, G., Soresi, M., Balsamo, V. (1992). Use of ass' milk in multiple food allergy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 14(2), 177–181.
39. Ivanković, A., Potočnik, K., Ramljak, J., Baban, M., Antunac, N. (2014): *Mlijeko kobilica i magarica*. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb, 2014.
40. Jin, S.L. (1999). Ancient but new style milk beverage-kefir. *China Dairy Industry* 27, 18–23.
41. John, S.M., Deeseenthum S. (2015) Properties and benefits of kefir-A review. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*; 37 (3): 275-282.
42. Kudoh, Y., Matsuda, S., Igoshi, K., Oki, T. (2001). Antioxidative peptide from milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 48:44–55.

43. Kunz, C., Rudolff, S. (2006). Health promoting aspects of milk oligosaccharides. *International Dairy Journal* 16, 1341–1346.
44. Madhusudan, N.C., Ramachandra, C.T., Udaykumar, N., Sharnagouda, H., Nagraj, N. (2017) Composition, Characteristics, Nutritional value and Health Benefits of Donkey Milk-A Review. *Dairy Science and Technology*, EDP sciences/Springer hal-01538532
45. Martemucci, G., D'Alessandro, A.G. (2012). Fat content, energy value and fatty acid profile of donkey milk during lactation and implications for human nutrition. *Lipids in Health and Disease*. 11, 113–127.
46. Miao, W., He, R., Feng, L., Ma, K., Zhang, C., Zhou, J. (2020). Study on processing stability and fermentation characteristics of donkey milk. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-Food Science and Technology*, 124, 109151. [https://doi.org/ 10.1016/j.lwt.2020.109151](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109151). Pristupljeno 4.8.2022.
47. Papademas, P., Mousikos, P., Aspri, M. (2022). Valorization of donkey milk: Technology, functionality, and future prospects. *JDS Communications*, 3(3), 228-233.
48. Pena-Ramos, E.A., Xiong, Y. (2001). Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in liposomal system. *Journal of Dairy Science*, 84:2577–83.
49. Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., Gambacorta, E. (2015). Donkey Milk for Manufacture of Novel Functional Fermented Beverages. *Journal of Food Science*, 80 (6) s1352-s1359.
50. Perna, A., Simonetti, A., Gambacorta, E. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 74-81.
51. Polidori, P., Vincenzetti, S. (2012). Milk Protein, In Tech Publisher. 215-232.
52. Prasad, B. (2020). Nutritional and Health Benefits of Donkey Milk. *Journal of Food Science and Nutrition Therapy*, 6 (1) 022-025.
53. Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.K., Je, J.Y., Kim, S.K. (2005). Purification of aradical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38:175– 82.
54. Sa, A., Krishnaa, R.S., Pavithrab, V., Hemalathab, V., Ingalea, P. (2011). Production and antibacterial activity of bacteriocin by *Lactobacillus paracasei* isolated from donkey milk. *International Journal of Current Science*, 1, 109–115.
55. Salimei, E., Fantuz, F. (2012). Equid milk for human consumption, *International Dairy Journal*, 24, 130-142. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.11.008. Pristupljeno 4.8.2022.
56. Salimei, E., Fantuz, F., Coppola, R., Chiofalo, B., Polidori, P., Varisco, G. (2003). Composition and characteristics of ass's milk. *Animal Research*, 53(1), 67–78.
57. Samaržija, D. (2015). Fermentirana mlijeka, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb
58. Samaržija, D. (2016). Korištenje mlijeka kobile i magarice u proizvodnji fermentiranih mlijeka . Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

59. Schaafsma, G. (2003). Nutritional significance of lactose and lactose derivatives. In: Encyclopedia of Dairy Science (Roginski, H., Furquay, J.W., Fox, P.F. Eds.), Academic Press, London, 1529–1533.
60. Schrezenmeir, J., de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73:361S–4S.
61. Shah, N.P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83:894–907.
62. Tafaro, A., Magrone, T., Jirillo, F., Martemucci, G., D'alessandro, A., Amati, L., Jirillo, E. (2007). Immunological properties of donkey's milk: its potential use in the prevention of atherosclerosis. *Current Pharmaceutical Design*, 13(36), 3711–3717.
63. Tidona, F., Charfi, I., Povoio, M., Pelizzola, V., Carminati, D., Contarini, G. (2015). Fermented beverage emulsion based on donkey milk with sunflower oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(12), 2644–2652. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12936>. Pristupljeno 8.8.2022.
64. Tsakali, E., Bosdra, K., Giannopoulos, N.R., Tsaknis, J. (2016). Development of fermented products from donkey milk. Technological Educational Institute of Athens, Greece; International Conference on Food Chemistry and Hydrocolloids, Toronto 2016
65. Uniacke-Lowe, T., Huppertz, T., Fox P.F. (2010). Equine milk proteins: chemistry, structure and nutritional significance. *International Dairy Journal*, 20(9), 609–629.
66. 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, 22.
67. 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
68. Vieira, C. P., Alvares, T. S., Gomes, L. S., Torres, A. G., Paschoalin, V. M. F., Conte, C. A. (2015). Kefir grains change fatty acid profile of milk during fermentation and storage. *PloS One*, 10 (10), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139910>. Pristupljeno 7.8.2022.
69. Vincenzetti, S., Pucciarelli, S., Santini, G., Klimanova, Y., Polzonetti, V., Polidori, P. (2020). B-Vitamins determination in donkey milk. *Beverages*, 6:46. <https://doi.org/10.3390/beverages6030046>. Pristupljeno 4.8.2022.
70. Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., Korhonen, H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 102:106–115.
71. Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M. A. J. S. (1999). Milk composition. U knjizi: Dairy Technology-Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker, INC., New York, 27-105.

72. Ward, P.P., Paz, E., Conneely, O.M. (2005). Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Molecular Life Science*, 62 (22):2540-2548.
73. Yirmibesoglu, S.;Tefon Özturk, B. (2020). Comparing microbiological profiles, bioactivities, and physicochemical and sensory properties of donkey milk kefir and cow milk kefir. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 44(4), 774-781.
74. Zelazowski, P., Wszolek, M., Filioczak-Fiutak, M. (2016). Quality of donkey milk koumiss, *Nauka, Technologia. Jakość*, 4 (107), 66 – 79.

Životopis

Ema Milat rođena je 18. prosinca 1998. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu (2013). Svoje srednjoškolsko obrazovanje započela je u zagrebačkoj 18. gimnaziji gdje je pohađala smjer dvojezični francuski. Nakon završetka srednje škole, 2017. upisuje preddiplomski studij (Bs) Animalnih znanosti na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu koji završava 2020. te upisuje diplomski studij (Ms) Proizvodnja i prerada mlijeka na istom fakultetu. Tečno govori i piše engleski (C1) i francuski jezik iz kojeg ima položenu DELF2 (B2) diplomu. U slobodno vrijeme bavi se jahanjem za koje posjeduje dozvolu za daljinsko jahanje, pjevanjem, putuje i voli provoditi vrijeme u prirodi i sa životinjama.