

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Mateja Čagalj i Andreja Brezovečki

KEMIJSKI SASTAV, FIZIKALNA SVOJSTVA I HIGIJENSKA KVALITETA

KOBILJEG MLIJEKA HRVATSKOG HLADNOKRVNJAKA

Zagreb, 2013.

Ovaj rad izrađen je u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom mentora prof. dr. sc. Nevena Antunac i predan je na Natječaj za dodjelu Rektorove nagrade, za radove studenata u akademskoj godini 2012./2013.

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU

HRN = **H**rvatska **N**orma

EN = **E**uropska **N**orma

ISO = međunarodna organizacija za standardizaciju (**I**nternational **S**tandardization
Organization)

HPA = **H**rvatska **P**oljoprivredna **A**gencija

RU = **R**adna **U**puta

FA = **F**izikalna **A**naliza

MA = **M**ikrobiološka **A**naliza

GLM = **G**eneral **L**inear **M**odels

LSM = korigirana srednja vrijednost (**L**east **S**quare **M**eans)

n = broj uzoraka

Min. = minimalna vrijednost

Max. = maksimalna vrijednost

SD = Standardna devijacija (**S**tandard **D**eviation)

SE = Standardna greška (**S**tandard **E**rror)

CV = koeficijent varijacije (**C**oefficient of **V**ariation)

g = gram

mL = mililitar

°SH = stupanj **S**oxhlet-**H**enkel

UBM = ukupan broj mikroorganizama

SCC = broj somatskih stanica (**S**omatic **C**ell **C**ount)

ST = **S**uha **T**var

MM = **M**liječna **M**ast

P = **P**roteini

K = **K**azein

SP = **P**roteini **S**irutke

NPN = neproteinski dušik (**N**on **P**rotein **N**itrogen)

L = **L**aktoza

S_{bm} = Suha tvar Bez Masti

mj. = mjesec

lak. = laktacija

pH = ionometrijska kiselost

°C = stupanj Celzija

log₁₀ = logaritam

TL = Točka Ledišta

Lit. = litra

α-La = Alfa - Laktalbumin

β-Lg = Beta - Laktoglobulin

Ig = Imunoglobulini

Lf = Laktoferin

Lyz = Lizozim

Sadržaj rada

	Stranica
1. UVOD	1
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA	3
3. MATERIJAL I METODE RADA	4
a. Uzorkovanje kobiljeg mlijeka	5
b. Analize mlijeka i metode	6
c. Statistička obrada podataka	7
4. REZULTATI	8
5. RASPRAVA	13
6. ZAKLJUČAK	17
7. ZAHVALA	18
8. POPIS LITERATURE	19
9. SAŽETAK	25
10. SUMMARY	26
11. ŽIVOTOPIS	27
12. PRILOG	28

1. UVOD

U većini zemalja svijeta, konj je cijenjen kao sportska, radna i tovna životinja, dok je u dijelovima Središnje Azije, Mongolije i Rusije cijenjen isključivo zbog proizvodnje kobiljeg mlijeka i proizvoda (*Furlič, 2011*). Procjenjuje se da oko 30 milijuna ljudi u svijetu konzumira kobilje mlijeko (*Doreau i Martin-Rosset, 2002*). Posljednjih godina, kobilje mlijeko postaje i u Hrvatskoj sve interesantniji proizvod zbog svog sastava i svojstava.

Mlijeko je sekret mliječne žlijezde specifičnog okusa i mirisa, koji se izlučuje određeno vrijeme nakon partusa. Laktacija kobile započinje sekrecijom kolostruma tijekom prvih tjedan dana, pri čemu se sastav mlijeka stabilizira u pogledu količine i udjela pojedinih hranjivih sastojaka, te traje do odbića ždrebadi u dobi od 5 do 8 mjeseci (*Ivanković, 2004*). Ograničavajući čimbenik proizvodnje kobiljeg mlijeka je mali volumen mliječne žlijezde (<2 Lit.), što iziskuje višekratne dnevne mužnje (5-7 puta/dan), koje su raspoređene u intervalima od 2 do 3 sata (*Salimei, 2011*).

Kobilje mlijeko danas je predmet brojnih istraživanja i rasprava zbog svog optimalnog omjera kazeina i proteina sirutke, te visoke probavljivosti, što ga čini prihvatljivim za prehranu dojenčadi. Prema svom kemijskom sastavu slično je humanom mlijeku, ali se značajno razlikuje od mlijeka drugih mliječnih sisavaca, primjerice, krava, koza i ovaca. Udio kazeina je puno niži od udjela albumina i globulina, što ga čini lako probavljivim i pogodnim za resorpciju u krv (*Avreljo i sur., 2009*). Kobilje mlijeko kao i humano sadrži mali udio proteina, zbog čega ždrebadi za udvostručenje svoje tjelesne mase treba od 30-60 dana, za razliku od teladi koja može udvostručiti svoju tjelesnu masu za sedam dana. Ono je lako probavljivo, bogato esencijalnim hranjivim tvarima i ima povoljan omjer kazeina i proteina sirutke, što ga čini vrlo pogodnom zamjenom za kravlje mlijeko, prvenstveno u prehrani djece (*Uniacke-Lowe, 2011*). Vrijednost kobiljeg mlijeka, te njegovo povoljno djelovanje na zdravlje ljudi, već stoljećima pozna i cijeni narod sa ruskih i zapadno azijskih područja (*Furlič, 2011*). Kobilje mlijeko ima važna prehrambena i terapijska svojstva, koja povoljno djeluju na zdravlje novorođenčadi i odraslih ljudi (*Uniacke-Lowe i sur., 2010*). Zdrava je namirnica koja može ublažiti ili spriječiti mnoge simptome bolesti, jača imunitet, povećava vitalnost i time omogućuje bolju kvalitetu

života. Visok udio laktoze utječe na slatkasti okus kobiljeg mlijeka i poboljšava crijevnu apsorpciju kalcija, što je važno za mineralizaciju kostiju u djece (*Iacono i sur, 1992*; *Carroccio i sur, 2000*). Kobilje mlijeko ima povoljan učinak na zdravlje ljudi čak i na samom početku pojave neke bolesti kao što su anemija, upala bubrega, proljev i drugi gastrointestinalni poremećaji. Učinkovito djeluje u ublažavanju kroničnih bolesti poput hepatitisa i čira na želucu. Procjenjuje se da je povoljan učinak u liječenju čira uglavnom zbog vitamina A i visokog sadržaja fosfolipida. Kobilje mlijeko također smanjuje koncentraciju želučane kiseline (*Doreau i Martin-Rosset, 2002*). Također važno je istaći da kobilje mlijeko sadrži visok udio nezasićenih masnih kiselina (čak 28%), iz kojih se sintetiziraju omega-6 i omega-3 masne kiseline, čija je vrijednost neprocjenjiva za ljudski organizam (*Avrelino i sur., 2009*). Mlijeko kobilje također ima povoljan učinak u prehrani ljudi jer zbog visokog udjela proteina sirutke povećava opskrbu organizma s esencijalnim aminokiselinama. Blagotvorno djelovanje kobiljeg mlijeka najučinkovitije je kada je mlijeko u svježem, prirodnom stanju bez prethodne toplinske obrade.

Iako u Hrvatskoj za kobilje pa ni za magareće mlijeko nisu propisani standardi kvalitete, sve je veći interes posljednjih godina za ovim vrstama mlijeka radi njihovog sastava, svojstava i terapijske vrijednosti.

Cilj ovoga rada bio je utvrditi kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu kobiljeg mlijeka, za autohtonu pasminu hrvatskog hladnokrvnjaka, iz razloga što je u Republici Hrvatskoj provedeno vrlo malo istraživanja o sastavu i svojstvima kobiljeg mlijeka, te bi se na osnovu ovih rezultata istraživanja mogli predložiti standardi kvalitete tj. granične vrijednosti pojedinih sastojaka i svojstava kobiljeg mlijeka i njihovo prihvaćanje u jednom od pravilnika.

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Provedenih istraživanja o sastavu i svojstvima kobiljeg mlijeka u Hrvatskoj gotovo da i nema, pa je i opći cilj ovoga rada bio utvrditi kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu kobiljeg mlijeka, za autohtonu pasminu hrvatskog hladnokrvnjaka.

Specifični ciljevi rada bili su utvrditi u kobiljem mlijeku:

- udio suhe tvari, mliječne masti, proteina, kazeina, laktoze i suhe tvari bez masti,
- titracijsku i ionometrijsku kiselost te točku leđišta,
- ukupan broj mikroorganizama i ukupan broj somatskih stanica,
- izračunati koeficijente korelacija između pojedinih sastojaka i svojstava,
- prikazati literaturne spoznaje o sastavu, svojstvima i značaju uporabe kobiljeg mlijeka.

3. MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje sastava i svojstava kobiljeg mlijeka provedeno je na dijelu populacije hrvatskog hladnokrvnjaka. Uzorci kobiljeg mlijeka prikupljeni su od tri različita stada, u Bjelovarsko-bilogorskoj (uzgajivač: Ivan Ivanuš), Krapinsko-zagorskoj (uzgajivač: Petar Jadek) i Sisačko-moslavačkoj županiji (uzgajivač: Miško Šklempe).

Hrvatski hladnokrvnjak (Slika 1) je hrvatska izvorna, autohtona pasmina konja. Oblikovanje ove pasmine započelo je krajem 19. stoljeća, najprije na području Međimurja, a potom se proširilo i na ostale dijelove ravničarske Hrvatske. Hrvatski hladnokrvnjak je snažan i izdržljiv radni konj s uporabnim težištem u vuči. Početak korištenja mehanizacije u poljoprivredi umanjilo je važnost ovog konja, tako da je uporabno težište ostalo na proizvodnji mesa. Hrvatski hladnokrvnjak danas se prvenstveno uzgaja radi proizvodnje mesa i specifičnih proizvoda od mesa. Također, pogodan je i za proizvodnju kobiljeg mlijeka, kao vrlo vrijedne sirovine u kozmetičkoj industriji. U pojedinim dijelovima Hrvatske, upotrebljava se još i za obavljanje šumskih radova, poput izvlačenja trupaca i nošenje drva i dr., a isto tako rado je viđen na raznim manifestacijama, poput "Đakovačkih vezova" ili "Vinkovačkih jeseni" (Ivanković, 2004). Prema *Godišnjem izvješću HPA (2009)*, u Hrvatskoj je zastupljeno 5.334 grla hrvatskog hladnokrvnjaka, od čega je 2.778 kobila, koje su najzastupljenija kategorija hrvatskog hladnokrvnjaka.



Slika 1. Kobila i ždrijebe hrvatskog hladnokrvnjaka

(Izvor: <http://www.ssuuh.hr/sites/default/files/styles/sirina640px/public/fotogalerija/slika51.jpg>)

a. Uzorkovanje kobiljeg mlijeka

Tijekom istraživačkog razdoblja provedena su tri uzorkovanja kobiljeg mlijeka, od kojih jedno u Bjelovarsko-bilogorskoj, drugo u Krapinsko-zagorskoj, a treće u Sisačko-moslavačkoj županiji. Uzorci kobiljeg mlijeka uzimani su tijekom ožujka i travnja 2013. godine, u različitim fazama laktacije, od 1. mjeseca laktacije (Sisačko-moslavačka i Bjelovarsko-bilogorska županija) do 6. mjeseca (Bjelovarsko-bilogorska županija). Količina uzorka mlijeka od svake pojedine kobile bila je minimalno 200 mL (Slika 2). Prikupljeni broj uzoraka mlijeka bio je relativno mali, no međutim od kobile je vrlo teško uzeti uzorak mlijeka pogotovo dok ždrebad nije u njihovoj neposrednoj blizini. Kobile ne izlučuju mlijeko ako ždrebad ne siše. Budući da ždrebad siše vrlo često, u pravilu svakih 15 minuta, teško je prikupiti veću količinu mlijeka koja bi bila dostatna za provođenje većeg broja analiza.



Slika 2. Uzorci kobiljeg mlijeka (Foto: Brezovečki, 2013)

b. Analize mlijeka i metode

Uzorci kobiljeg mlijeka za analizu kemijskog sastava, fizikalnih svojstava i higijenske kvalitete, prikupljeni su od ukupno 11 kobila. Analize kemijskog sastava mlijeka uključivale su određivanje udjela: suhe tvari, mliječne masti, proteina, kazeina, laktoze i suhe tvari bez masti. Udio proteina sirutke i neproteinskog dušika u mlijeku određen je računskim putem iz razlike udjela ukupnog proteina i kazeina.

Od fizikalnih svojstava određena je titracijska i ionometrijska kiselost te točka ledišta kobiljeg mlijeka. Od parametara higijenske kvalitete kobiljeg mlijeka, određen je ukupan broj mikroorganizama i broj somatskih stanica.

Također treba naglasiti da su sve analize kemijskog sastava, fizikalnih svojstava i higijenske kvalitete kobiljeg mlijeka provedene najprije referentnim metodama radi umjeravanja analitičkih instrumenata a potom i standardnim metodama. Pojedine analize kobiljeg mlijeka (g, h, j) napravljene su prema akreditiranim radnim uputama Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode, budući za njih ne postoje normirane metode.

Analize mlijeka izvršene su u Referentnom laboratoriju Zavoda za mljekarstvo, akreditiranog prema *HRN EN ISO/IEC 17025 (2007)*. Za analize kobiljeg mlijeka korištene su slijedeće metode:

- a) ukupna količina suhe tvari, referentnom metodom, prema HRN ISO 6731:1999,
- b) udio mliječne masti, gravimetrijskom-referentnom metodom, prema HRN EN ISO 1211:2010,
- c) udio laktoze, enzimatskom metodom, prema HRN ISO 5765-1:2003,
- d) udio mliječne masti, bjelančevina, laktoze, suhe tvari, standardnom metodom infracrvene spektrometrije, prema HRN ISO 9622: 2001,
- e) udio kazeinskog dušika, direktnom metodom, prema HRN ISO 17997-2:2010,
- f) ukupan broj mikroorganizama, brojanjem kolonija na 30°C, prema HRN EN ISO 4833:2008,
- g) titracijska kiselost mlijeka, Soxhlet-Henkel metodom, prema RU 4.2-1-FA-02,
- h) pH vrijednost mlijeka, ionometrijskom metodom, prema RU 4.2-1-FA-03,
- i) točka ledišta mlijeka, termistorsko-krioskopskom metodom, prema HRN EN ISO 5764:2010,
- j) ukupan broj mikroorganizama, metodom protočne citometrije, na instrumentu Bactoscan FC, prema RU 4.2-1-MA-02,
- k) broj somatskih stanica, fluoro-opto-elektronskom metodom, prema HRN EN ISO 13366-2:2007.

Ukupan broj mikroorganizama kao i broj somatskih stanica u kobiljem mlijeku logaritmirani su (\log_{10}), radi dobivanja normalne distribucije vrijednosti. Svi sastojci mlijeka određeni su referentnim i standardnim metodama, radi umjeravanja analitičkog instrumenta Milkoscan FC.

c. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka izvršena je primjenom procedure GLM, programskog sustava *SAS* (1999). Izračunate su: korigirane srednje vrijednosti (LSM), minimalne (Min.) i maksimalne (Max.) vrijednosti, standardne devijacije (SD), standardne greške (SE) i koeficijenti varijacije (CV) za pojedine sastojke i svojstva. Između pojedinih sastojaka i svojstava mlijeka, izračunati su koeficijenti korelacija, korištenjem procedure CORR (*SAS*, 1999).

4. REZULTATI

Kvaliteta kravljeg pa tako i kobiljeg mlijeka određena je kemijskim sastavom, fizikalnim svojstvima, higijenskom kvalitetom. U tablici 1 prikazani su rezultati analiza kemijskog sastava, koji uključuju udio suhe tvari, mliječne masti, proteina, kazeina, laktoze i suhe tvari bez masti. Također su prikazani udjeli proteina sirutke i neproteinskog dušika.

Tablica 1. Kemijski sastav kobiljeg mlijeka

Uzorak/ (mj. lak)	ST (g/100 g)	MM (g/100 g)	P (%)	K (%)	K* (%)	SP- NPN (%)	SP- NPN** (%)	L (g/100 g)	Sbm (g/100 g)
1 (1. mj)	10,27	1,24	1,80	1,03	57,22	0,77	42,78	6,28	8,91
2 (1. mj)	12,29	3,02	1,99	0,51	25,63	1,48	74,37	6,05	8,89
3 (1. mj)	10,44	1,21	2,03	0,99	48,77	1,04	51,23	6,09	9,02
4 (1. mj)	9,91	1,17	1,61	0,18	11,18	1,43	88,82	6,02	8,56
5 (2. mj)	10,51	1,42	1,73	1,00	57,80	0,73	42,2	6,27	8,88
6 (2. mj)	10,10	0,64	1,83	1,03	56,28	0,8	43,72	6,54	9,18
7 (2. mj)	10,73	1,37	1,86	0,96	51,61	0,9	48,39	6,49	9,15
8 (2. mj)	10,86	1,72	1,72	0,90	52,33	0,82	47,67	6,38	8,97
9 (3. mj)	9,12	0,76	1,82	0,97	53,30	0,85	46,7	6,51	9,12
10 (6. mj)	9,13	0,38	1,64	0,13	7,93	1,51	92,07	6,13	8,63
11 (6. mj)	8,91	0,57	1,31	0,11	8,40	1,2	91,6	6,09	8,28
LSM	10,21	1,23	1,76	0,71	39,13	1,05	60,87	6,26	8,87
n	11	11	11	11	11	11	11	11	11
Min.	8,91	0,38	1,31	0,11	7,93	0,73	42,2	6,02	8,28
Max.	12,29	3,02	2,03	1,03	57,80	1,51	92,07	6,54	9,18
SD	0,96	0,72	0,20	0,39	21,15	0,30	21,15	0,20	0,28
SE	0,29	0,22	0,06	0,12	6,38	0,09	6,38	0,06	0,08
CV	9,45	58,93	11,20	55,47	54,06	28,97	34,75	3,14	3,13

*Udio kazeina u odnosu na ukupni udio proteina u kobiljem mlijeku

**Udio proteina sirutke i neproteinskog dušika u odnosu na ukupni udio proteina u kobiljem mlijeku

Kobilje mlijeko u prosjeku je sadržavalo 10,21% suhe tvari. Najniži udio suhe tvari (8,91%) utvrđen je u 6. mjesecu laktacije a najviši (12,29%) u 1. mjesecu laktacije. Mlijeko je u 1. mjesecu laktacije sadržavalo u prosjeku više suhe tvari u odnosu na ostatak laktacije.

Mliječna mast je najvarijabilniji sastojak mlijeka što je potvrđeno visokim koeficijentom varijacije (59%) i u ovom istraživanju. Mlijeko je u prosjeku sadržavalo 1,23% mliječne masti, s rasponom od 0,38% do 3,02%. U 1. mjesecu laktacije mlijeko je u prosjeku također sadržavalo i više mliječne masti u odnosu na ostatak laktacije.

Prosječni udio proteina u kobiljem mlijeku (1,76%) bio je veći od prosječnog udjela mliječne masti (1,23%). Mlijeko je u 1. mjesecu laktacije također sadržavalo neznatno više proteina nego li u ostalom dijelu laktacije. Udio kazeina u kobiljem mlijeku bio je vrlo nizak (0,71%), što je i razlogom da se kobilje mlijeko ubraja u tzv. albuminska mlijeka. Raspon kazeina varirao je od 0,11% (minimum) do 1,03% (maksimum). Koeficijent varijacije za udio kazeina bio je vrlo visok (55,47 %).

Kobilje mlijeko se ubraja u albuminska mlijeka, budući je udio kazeina u odnosu na ukupni udio proteina manji od 75%. Iz tablice 1 vidljivo je, da je najmanji udio kazeina bio 7,93% a najveći nije bio veći od 57,8%. Udio proteina sirutke i neproteinskog dušika u ukupnom proteinu, varirao je od 42,2% do 92,7%. Najveći prosječni udio proteina sirutke i neproteinskog dušika (91,84%) utvrđen je u 6. mjesecu laktacije.

Osnovni ugljikohidrat u kobiljem mlijeku je laktoza, s prosječnim udjelom od 6,26%, što je znatno više nego li u kravljem, kozjem ili ovčjem mlijeku. Zbog visokog udjela laktoze, kobilje mlijeko ima izražen slatkasti okus.

Prosječni udio suhe tvari bez masti u kobiljem mlijeku bio je 8,87%, što je slično udjelu u kravljem mlijeku, iako je prosječni udio suhe tvari bio znatno niži (10,21%). Visokom udjelu suhe tvari bez masti doprinosi u znatnoj mjeri i visoki udio laktoze.

U tablici 2 prikazane su vrijednosti fizikalnih svojstava kobiljeg mlijeka.

Tablica 2. Fizikalna svojstva kobiljeg mlijeka

Uzorak/ (mj. lak)	Titracijska kiselost (°SH)	pH-vrijednost	Točka ledišta (°C)
1 (1. mj)	2,94	6,91	-0,5343
2 (1. mj)	3,61	6,90	-0,5423
3 (1. mj)	3,41	6,95	-0,5391
4 (1. mj)	1,69	7,17	-0,5317
5 (2. mj)	2,23	7,04	-0,5221
6 (2. mj)	2,63	7,00	-0,5344
7 (2. mj)	2,43	7,09	-0,5338
8 (2. mj)	2,80	6,94	-0,5286
9 (3. mj)	2,83	6,96	-0,5337
10 (6. mj)	1,69	6,91	-0,5266
11 (6. mj)	1,35	7,08	-0,5237
LSM	2,51	7,00	-0,5318
n	11	11	11
Min.	1,35	6,90	-0,5423
Max.	3,61	7,17	-0,5221
SD	0,72	0,09	0,006
SE	0,22	0,03	0,002
CV	28,68	1,27	-1,16

Prema svom okusu, kobilje mlijeko karakterizira slatkasti okus što potvrđuju i niske vrijednosti titracijske kiselosti, od 1,35°SH (minimum) do 3,61°SH (maksimum). S obzirom da su uzorci kobiljeg mlijeka uzeti u različitim fazama laktacije, variranja njihovih vrijednosti bila su značajna, što potvrđuju i visoki koeficijent varijacije (28,68%). Početkom laktacije (1. mjesec), prosječna kiselost mlijeka bila je viša (2,91%) u odnosu na ostatak laktacije. Ionometrijska kiselost prikazana kao pH-vrijednost mlijeka bila je vrlo ujednačena, što potvrđuje i niska vrijednost koeficijenta varijacije (1,27%).

U stručnoj literaturi podataka o točki ledišta kobiljeg mlijeka ima vrlo malo, te se na osnovu rezultata provedenih analiza može zaključiti da su njihove vrijednosti bile prilično ujednačene. Prosječna vrijednost točke ledišta mlijeka iznosila je – 0,5318°C.

Vrlo važan parametar kvalitete mlijeka je i njegova higijenska ispravnost određena ukupnim brojem mikroorganizama i brojem somatskih stanica. U tablici 3 prikazani su rezultati analiza higijenske kvalitete kobiljeg mlijeka.

Tablica 3. Higijenska kvaliteta kobiljeg mlijeka

Uzorak/ (mj. lak)	UBM (x 10 ³ /mL)	Log ₁₀ UBM	SCC (x 10 ³ /mL)	Log ₁₀ SCC
1 (1. mj)	1,2	3,08	10	4,00
2 (1. mj)	6,75	3,83	22	4,34
3 (1. mj)	58	4,76	12	4,08
4 (1. mj)	19	4,28	27	4,43
5 (2. mj)	23	4,36	19	4,28
6 (2. mj)	9	3,95	12	4,08
7 (2. mj)	16	4,20	29	4,46
8 (2. mj)	35	4,54	25	4,40
9 (3. mj)	19	4,28	25	4,40
10 (6. mj)	0,3	2,48	20	4,30
11 (6. mj)	0,5	2,70	47	4,67
LSM	17,07	3,86	22,55	4,31
n	11	11	11	11
Min.	0,3	2,48	10	4,00
Max.	58	4,76	47	4,67
SD	17,38	0,77	10,35	0,20
SE	5,24	0,23	3,12	0,06
CV	101,81	19,87	45,90	4,57

Na osnovu rezultata analiza prikazanih u tablici 3, vidljivo je da je ukupan broj mikroorganizama varirao od minimalnih 300/mL do maksimalnih 58.000/mL. U usporedbi s ostalim vrstama mlijeka (kravlje, kozje i ovčje), to je vrlo nizak broj, što upućuje na vrlo dobru mikrobiološku kvalitetu mlijeka. Koeficijent varijacije za ukupan broj mikroorganizama u kobiljem mlijeku bio je znatno viši (101,81 %) od onoga za broj somatskih stanica (45,90 %), na što najvjerojatnije utječu higijenski uvjeti pri samoj mužnji.

Također i broj somatskih stanica u kobiljem mlijeku bilježi vrlo niske vrijednosti, od minimalnih 10x10³/mL do maksimalnih 47x10³/mL.

U tablici 4 prikazani su koeficijenti korelacija između pojedinih sastojaka mlijeka odnosno pojedinih svojstava.

Tablica 4. Koeficijenti korelacija

	MM	P	K	L	Sbm	SH	pH	TL	UBM	Log ₁₀ UBM	SCC	Log ₁₀ SCC
ST	0,94***	0,66*	0,33	-0,77	0,51	0,41	-0,26	-0,56	0,23	0,44	-0,32	-0,23
MM	-	0,52	0,15	-0,23	0,22	0,64	-0,24	-0,51	0,23	0,44	-0,32	-0,23
P	-	-	0,66*	0,23	0,82**	0,90**	-0,48	-0,80**	0,46	0,57	-0,73*	-0,63*
K	-	-	-	0,70*	0,88**	0,65*	-0,28	-0,29	0,44	0,59	-0,59	-0,58
L	-	-	-	-	0,74**	0,18	-0,06	0,01	-0,01	0,27	-0,19	-0,16
Sbm	-	-	-	-	-	0,71*	-0,33	-0,52	0,37	0,61*	-0,62*	-0,54
SH	-	-	-	-	-	-	-0,63*	-0,80**	0,43	0,50	-0,60	-0,56
pH	-	-	-	-	-	-	-	0,35	-0,001	0,18	0,53	0,52
TL	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,22	-0,33	0,44	0,42
UBM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,81**	-0,26	-0,21
Log ₁₀ UBM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,26	-0,14
SCC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,96***

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$

Značajni i pozitivni koeficijenti korelacija utvrđeni su između udjela suhe tvari i mliječne masti (0,94) odnosno proteina (0,66). Također pozitivni koeficijenti korelacija utvrđeni su između udjela proteina i kazeina (0,66) te između udjela laktoze i suhe tvari bez masti (0,74). Zbog pufernog kapaciteta mlijeka odnos između titracijske ($^{\circ}$ SH) i ionometrijske (pH) kiselosti mlijeka je obrnuto proporcionalan, što potvrđuje i negativni koeficijent korelacije (-0,63). Za određivanje točke ledišta mlijeka, uzorak mora biti u svježem stanju pa je koeficijent korelacije između titracijske ($^{\circ}$ SH) kiselosti i točke ledišta mlijeka bio -0,80. Značajni i pozitivni koeficijenti korelacija utvrđeni su između ukupnog broja mikroorganizama i njihovog logaritmiranog broja (0,81) kao i između broja somatskih stanica i njihovog logaritmiranog broja (0,96).

5. RASPRAVA

Lipidi su u kobiljem mlijeku emulgirani u obliku masnih globula, prosječnog promjera 2-3 μm (*Welsch i sur., 1988*). Kobilje mlijeko je u prosjeku sadržavalo 1,23% mliječne masti, s rasponom od 0,38% do 3,02%. Većina autora navodi niže udjele mliječne masti u mlijeku Halfinger kobilja 1,04% (*Salamon i sur., 2009*), Hucul kobilja 0,92% (*Pieszka i sur., 2011*) i u Wielkopolski kobilja 0,8% (*Pieszka i sur., 2011*).

U ovom radu utvrđeno je smanjenje udjela mliječne masti u kobiljem mlijeku od početka prema kraju laktacije, iako je u istraživanje bio uključen relativno mali broj uzoraka mlijeka. *Doreau i Martuzzi (2006)* također navode da se udio mliječne masti u kobiljem mlijeku smanjivao tijekom laktacije, od početnih 1,5-2,5% do 0,5-1,5% na kraju laktacije. Ono po čemu se lipidi kobiljeg mlijeka razlikuju od lipida kravljeg mlijeka je i manji udio triacilglicerola (oko 80%), za razliku od 98% triacilglicerola u kravljem mlijeku (*Jensen i sur., 1992*). Međutim kobilje mlijeko sadrži više fosfolipida (oko 5%) i slobodnih masnih kiselina (oko 9%) u usporedbi s humanim i kravljim mlijekom.

Kobilje mlijeko je albuminsko mlijeko, budući sadrži manje od 70% kazeina u odnosu na ukupni udio proteina. Iz tablice 1 je vidljivo da je udio kazeina u prosjeku iznosio 71% a proteina sirutke i neproteinskog dušika 29%. Neproteinski dušik (NPN) u mlijeku sastoji se prvenstveno od ureje, peptida, aminokiselina i amonijaka a njegov udio u kobiljem mlijeku iznosi od 10-15% u odnosu na ukupni dušik (*Walstra, Wouters, i Geurts, 2006*). Mlijeko hrvatskog hladnokrvnjaka u prosjeku je sadržavalo 1,76% proteina, što je više od udjela 1,17% u pasmine Wielkopolski (*Pieszka i sur., 2011*), 1,15% u pasmine Poljski konik (*Pieszka i sur., 2011*) odnosno 1,6% u pasmine Poljski hladnokrvnjak (*Markiewicz-Kęszycka i sur., 2013*).

Mlijeko hrvatskog hladnokrvnjaka u prosjeku je sadržavalo 1,05% proteina sirutke i neproteinskog dušika, što predstavlja udio od 60,87%. *Malacarne i sur., (2002)* navode manji udio ukupnog proteina sirutke i neproteinskog dušika (50%) u kobiljem mlijeku u usporedbi s rezultatima ovoga istraživanja. Zbog većeg udjela proteina sirutke, kobilje mlijeko je bogat izvor esencijalnih aminokiselina i pogodno je za prehranu ljudi (*Malacarne i sur., 2002*). Isti autori dalje navode da je udio proteina sirutke u kobiljem mlijeku veći u usporedbi s kravljim mlijekom a manji nego li u humanom mlijeku.

Međutim, koncentracija proteina sirutke je veća u kobiljem nego li u humanom mlijeku, radi većeg udjela sirovih proteina.

Osnovni proteini sirutke u kobiljem mlijeku su β -laktoglobulin (β -Lg), α -laktalbumin (α -La), imunoglobulini (Ig), albumini krvnog seruma, laktoferin (LF) i Lizozim (Lyz). U ovom istraživanju nisu izvršene analize pojedinih proteina sirutke. Prema literaturnim podacima, kobilje mlijeko sadrži manje β -Lg i više α -La i Ig u odnosu na kravlje mlijeko (*Bell sur., 1981., Uniacke-Lowe i sur., 2010*). Glavna antimikrobna komponenta u kobiljem mlijeku je lizozim te u manjoj mjeri i laktoferin.

Za sve proteine sirutke karakteristično je da su osjetljivi na denaturaciju djelovanjem topline. β -laktoglobulin i α -laktalbumin u kobiljem mlijeku su stabilniji pri višim temperaturama za razliku od istih u kravljem mlijeku (*Bonomi i sur., 1994*). U kobiljem mlijeku β -laktoglobulin je termički stabilniji od α -laktalbumina, dok je u kravljem mlijeku α -laktalbumin termički stabilniji od β -laktoglobulina (*Civardi i sur., 2007*). Viša toplinska stabilnost β -Lg u kobiljem mlijeku može biti povezana s nedostatkom sulfhidrilnih skupina, uslijed čega β -laktoglobulin ne može proći sulfhidril-disulfidnu reakciju (razdvajanje polipeptidnog lanca i izloženost sulfhidrilnih skupina, nakon čega slijedi samoudruživanje ili razmjena s drugim proteinima preko sulfhidrilnih-disulfida). Kobilji α -La i β -Lg su također manje osjetljivi na visoki tlak uzrokovan denaturacijom proteina mlijeka (*Uniacke-Lowe i Huppertz, neobjavljeni podaci*).

Tri vrste imunoglobulina predstavljaju prirodnu obranu organizma od infekcija, koje se nalaze u mlijeku su: imunoglobulin G (IgG), A (IgA) i M (IgM). IgG često je podijeljen u dva podrazreda, IgG₁ i IgG₂ (*Madureira i sur., 2007*). Relativni odnosi imunoglobulina u mlijeku znatno se razlikuju između vrsta, pa je tako npr. IgG glavni imunoglobulin u kobiljem kolostrumu a IgA u kobiljem mlijeku. U kravljem kolostrumu mlijeku, IgG je glavni imunoglobulin. U žena se npr. IgG prenosi preko fetusa u maternici i crijeva su uglavnom nepropusna kod novorođenčeta. Međutim, u kobila se IgG ne prenosi preko fetusa u maternici te je važno da ga mladunčad dobije preko kolostruma (*Widdowson, 1984*).

U kobiljem mlijeku nalazi se i glikoprotein laktoferin, koji se sastoji od jednog polipeptidnog lanca, koji može vezati i transportirati ione željeza (*Conneely, 2001*).

Najveće koncentracije laktoferina se nalaze u kolostrumu dok se manje količine nalaze u mlijeku, suzama, slini itd. Kobilje, humano i kravlje mlijeko sadrže oko 0,6 g, 1,6 g i 0,1 g laktoferina/kilogramu.

Važnu ulogu u sintezi laktoze ima protein sirutke α -laktalbuminu (α -La), koji se sintetizira u endoplazmatskom retikulumu, odakle se transportira u Golgijev aparat, gdje ima regulatornu funkciju u sintezi laktoze. Zajedno s β -1,4 galaktozil transferazom (katalitička komponenta enzima laktoza-sintetaze), α -La povećava enzimski afinitet za glukozu 1000 puta u fazi sinteze laktoze, kada je glukoza vezana s galaktozom (Neville, 2009). α -La kobiljeg mlijeka sadrži 123 aminokiseline što je slično α -La u kravljem, kozjem, ovčjem i humanom mlijeku (Brew, 2003).

Najznačajnija fizikalna svojstva mlijeka su gustoća, kiselost i točka ledišta mlijeka. U ovom istraživanju utvrđena je prosječna pH vrijednost 7,00 što je sukladno s rezultatima koje navode Küçükçetin i sur., (2003), dok su Pagliarini i sur., (1993) utvrdili nešto višu pH vrijednost (7,2). U istraživanjima koja su proveli Mariani i sur., (2001), pH vrijednost kobiljeg mlijeka postupno se povećavala tijekom laktacije, od 6,6 (neposredno nakon partusa) do 6,9 (20. dana) odnosno do 7,1 (180. dana). Na osnovu dobivenih rezultata analiza kao i potrebnim provođenjem dodatnih analiza većeg broja uzoraka, moći će se predložiti standardne granične pH vrijednosti za kobilje mlijeko.

Utvrđivanje granične vrijednosti točke ledišta kobiljeg mlijeka je vrlo značajno, radi njegove visoke cijene koštanja (250 kn/Lit), koja je i nekoliko desetaka puta viša od cijene kravljeg mlijeka (2,5 kn/Lit). To je razlog zbog kojeg postoji mogućnost miješanja kobiljeg i kravljeg mlijeka. Točka ledišta mlijeka izravno je povezana s koncentracijom tvari topljivih u vodi (laktoze, citrata, fosfata). Masne globule i proteini imaju zanemariv utjecaj na točku ledišta, dok glavni utjecaj imaju laktoza i mineralne tvari. Prosječna vrijednost točke ledišta mlijeka utvrđena u ovom istraživanju bila je $-0,5318^{\circ}\text{C}$, s rasponom od $-0,5423^{\circ}\text{C}$ (minimum) do $-0,5221^{\circ}\text{C}$ (maksimum). Na osnovu koeficijenta varijacije (1,16%), može se zaključiti da je točka ledišta u kobiljem mlijeku bila prilično ujednačena. Prema literaturnim podacima, točka ledišta kobiljeg mlijeka iznosi $-0,554^{\circ}\text{C}$ (Pagliarini i sur., 1993). Niže ledište kobiljeg mlijeka vjerojatno je zbog višeg sadržaja laktoze.

Većina autora navodi znatno niži ukupan broj mikroorganizama (UBM) u uzorcima mlijeka u usporedbi s ostalim vrstama mlijeka. I u ovom istraživanju u kobiljem mlijeku utvrđen je relativno nizak broj mikroorganizama, od $30 \times 10^3/\text{mL}$ do $58 \times 10^3/\text{mL}$, što ukazuje na vrlo dobro zdravstveno stanje vimena i visoku higijenu pri samom uzorkovanju mlijeka. Do sličnih vrijednosti došli su i drugi autori pa su tako npr. *Dankow i sur.*, (2006) u kobiljem mlijeku neposredno nakon partusa (5. dana) utvrdili od $42-54 \times 10^3/\text{mL}$ mikroorganizama, a od 15-150. dana je taj broj bio još i niži ($37 \times 10^3/\text{mL}$). Tako nizak broj mikroorganizma omogućuje konzumaciju mlijeka bez prethodne pasterizacije. *Manteufel* (1989) navodi da ukupan broj mikroorganizama u kobiljem mlijeku odgovara njihovom broju u pasteriziranom kravljem mlijeku. To bi se moglo pripisati činjenici da je kobilje mlijeko iznimno bogato lizozimom, enzimom koji posjeduje antibakterijska svojstva, u usporedbi s drugim vrstama mlijeka. Razlog niskog broja mikroorganizama u kobiljem mlijeku svakako leži i u činjenici da je veličina vimena u kobilja puno manja nego li npr. u krava te u manjem broju sisa (2) u kobilja te je zbog toga manje izloženo mogućim infekcijama i posljedično tome mastitisu.

Broj somatskih stanica u kobiljem mlijeku bio je relativno nizak i iznosio je od $10 \times 10^3/\text{mL}$ (minimum) do $47 \times 10^3/\text{mL}$ (maksimum). Uzimajući u obzir broj somatskih stanica u ostalim vrstama mlijeka (kravlje, kozje i ovčje), može se zaključiti da je njihov broj u kobiljem mlijeku bio mnogo niži nego li u ostalim vrstama mlijeka. Vrlo slične vrijednosti ($46 \times 10^3/\text{mL}$) utvrdili su u kobiljem mlijeku *Dankow i sur.*, (2003), dok je najveći broj ($19 \times 10^3/\text{mL}$) utvrđen neposredno nakon ždrijebljenja.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti:

1. Mlijeko hrvatskog hladnokrvnjaka u prosjeku je sadržavalo 10,21% suhe tvari, 1,23% mliječne masti, 1,76% proteina, 0,71% kazeina, 6,26% laktoze i 8,87% suhe tvari bez masti.

2. Udio proteina sirutke i neproteinskog dušika u mlijeku bio je 1,05% što je u ukupnom udjelu proteina iznosilo 60,87%.

3. Korigirane srednje vrijednosti titracijske i ionometrijske kiselosti kobiljeg mlijeka iznosile su 2,51°SH i 7,00 pH, a točka leđišta -0,5318°C.

4. Za ukupan broj mikroorganizama u mlijeku utvrđena je srednja logaritmirana vrijednost (\log_{10}) 3,86 a za broj somatskih stanica (\log_{10}) 4,31.

5. Između pojedinih sastojaka i svojstava mlijeka utvrđeni su značajni pozitivni odnosno negativni koeficijenti korelacija.

6. U posljednjih pet godina, interes za korištenjem kobiljeg mlijeka u Hrvatskoj sve je veći, pa bi se na osnovu dobivenih rezultata istraživanja, uz provedbu dodatnih analiza, mogle predložiti standardne vrijednosti sastava i svojstava kobiljeg mlijeka, koje bi trebale biti sastavnim dijelom jednog od pravilnika.

7. Kobilje mlijeko je radi svog sastava i svojstava postalo sve traženije, osobito među odabranom populacijom djece i odraslih.

7. ZAHVALA

Ovom prigodom izražavamo veliku zahvalnost mentoru prof. dr. sc. Nevenu Antunac na trudu, pomoći, korisnim savjetima i vremenu uloženom u izradi ovog rada.

Zahvaljujemo se i djelatnicima Referentnog laboratorija Zavoda za mljekarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, za pomoć prilikom izvođenja analiza kobiljeg mlijeka.

Zahvaljujemo se i uzgajivačima hrvatskog hladnokrvnjaka: Ivanu Ivanuš, Mišku Šklembe i Petru Jardek, što su nam osigurali uzorke kobiljeg mlijeka.

I na kraju, još se jednom iskreno zahvaljujemo svima koji su nam pomogli tijekom izrade ovog istraživačkog rada, jer bez Vaše suradnje i stručne pomoći ne bismo mogle provesti ovo istraživanje.

8. POPIS LITERATURE

Avreljo, D., Baban, M., Mijić, P., Antunović, Z., Ernoić, M., Antunović, B. (2009) Mogućnosti proizvodnje i korištenja kobiljeg mlijeka. *Krmiva: časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*. 51, 6, 343-350.

Bell, K., McKenzie, H.A., Muller, V., Roger, C., Shaw, D.C. (1981) Equine whey proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology - B*, 68, 225-236.

Bonomi, F., Iametti, S., Pagliarini, E., Solaroli, G. (1994) Thermal sensitivity of mares' milk proteins. *Journal of Dairy Research*, 61, 419-422.

Brew, K. (2003) α -Lactalbumin. In: P.F. Fox, P.L.H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry, vol 1: Proteins* (3rd ed.) (387-419). New York, NY, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Carroccio, A., Cavataio, F., Montalto, G., D'Amico, D., Alabrese, L., Iacono, G. (2000) Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. *Clinical and Experimental Allergy*, 30, 1597-1603.

Civardi, G., Curadi, M.C., Orlandi, M., Cattaneo, T.M.P., Giangiacomo, R. (2007) Mare's milk: monitoring the effect of thermal treatments on whey proteins stability by SDS capillary electrophoresis (CE-SDS). *Milchwissenschaft*, 62, 32-35.

Conneely, O. (2001) Antiinflammatory activities of lactoferrin. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, 389-395.

Danków, R., Cais-Sokolińska, D., Pikul, J., Wójtowski, J. (2003) Jakość cytologiczna mleka koziego. *Medycyna Wet.* 59, 1, 77-80.

Danków, R., Wójtowski, J., Pikul J., Niżnikowski R., Cais-Sokolińska D. (2006) Effect of lactation on the hygiene quality and some milk physicochemical traits of the Wielkopolska mares. *Arch Tierz., Dummerstorf 49, Special Issue*, 201-206.

Doreau, M., Martin-Rosset, W. (2002) Dairy-Animals/Horse. Encyclopedia of Dairy Sciences. Institut National de la Recherche Agronomique, Saint-Genès Champanelle, France, 630-637.

Doreau, M., Martuzzi, F. (2006) Mare milk composition: recent findings about protein fractions and mineral content. In N. Margilia, & W. Martin-Rosset (Eds.), *Nutrition and Feeding of the Broodmare* – EAAP publication No. 20 (65-76). Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.

Furlič, M., (2011) Sestava in posebnosti kobiljega mleka. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta. Ljubljana.

Godišnje izvješće HPA (2009) Izvješće za 2008 godinu. Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci.

Horvat, A. (2008) Analiza rezultatov mlečno profilnega testa na osnovi tedensko odvzetih bazenskih vzorcev mleka. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta. Ljubljana.

HRN ISO (1999) Mlijeko, vrhnje i evaporirano mlijeko – određivanje ukupne količine krutina, referentna metoda. Broj 6731. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN ISO (2001) Punomasno mlijeko – određivanje udjela mliječne masti, bjelančevina i laktoze. Uputstva za rad MID-Infrared instrumentima. Broj 9622. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN ISO (2003) Mlijeko u prahu, mješavina sladoleda u prahu i prerađeni sir – određivanje sadržaja laktoze, 1. dio: enzimatska metoda uporabom glukoze preko laktoze. Broj 5765-1. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN EN ISO (2007) Mlijeko – određivanje broja somatskih stanica, 2. dio: Upute za rad na fluoro-opto-elektronskim brojačima. Broj 13366-2. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN EN ISO/IEC 17025 (2007) Opći zahtjevi za osposobljenost ispitnih i umjernih laboratorija. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN EN ISO (2008) Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Horizontalna metoda za brojenje mikroorganizama – tehnika brojenja kolonija na 30°C. Broj 4833. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN EN ISO (2010) Mlijeko – određivanje udjela masti – gravimetrijska metoda – referentna metoda. Broj 1211. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN EN ISO (2010) Mlijeko – određivanje točke leđišta – termistorsko krioskopskom metodom. Broj 5764. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

HRN ISO (2010) Mlijeko – određivanje kazeinskog dušika. 2. dio: Direktna metoda. Broj 17997-2. Hrvatski zavod za norme. Zagreb.

<http://www.ssuuh.hr/sites/default/files/styles/sirina640px/public/fotogalerija/slika51.jpg>

Hussain, I., Alistair, J.Y., Grandison, S., Bell, A.E. (2012) Effects of gelation temperature on Mozzarella-type curd made from buffalo and cows' milk: 2. Curd yield, overall quality and casein fractions. *Food Chemistry*, 135, 1404–1410.

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, 177-181.

Ivanković, A. (2004) Konjogojstvo. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.

Jensen, R.G., Ferris, A.M., Lammi-Keefe, C.J. (1992) Lipids in human milk and infant formulas. *Annual Review of Nutrition*, 12, 417–441.

Küçükçetin, 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.

Lönnerdal, B. (2003) Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American journal of Clinical Nutrition*, 77, 1537S-43S.

Madureira, A.R., Pereira, C.I., Gomes, A.M.P., Pintado, M.E., Malcata, F.X. (2007) Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International*, 40, 1197-1211.

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, 869-897.

Manteufel, N. (1989) Anwendungsmöglichkeiten einiger ausgewählter chemischer, physikalischer und mikrobiologischer Untersuchungsmethoden aus dem Bereich der Eutergesundheit des Rindes für die Untersuchung von Stutenmilch. *Dissertation Vet. – Med. Hannover*, 1-112.

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

Mariani, P., Summer, A., Martuzzi, F., Formaggioni, P., Sabbioni, A., Catalano, A.L. (2001) Physicochemical properties, gross composition, energy value and nitrogen fractions of Halflinger nursing mare milk throughout 6 lactation months. *Animal Research*, 50, 415-425.

Markiewicz-Kęszycka, M., Wójtowski, J., Kuczyńska, B., Puppel, K., Czyżak-Runowska, G., Bagnicka, E., Strzałkowska, N., Jóźwik, A., Krzyżewski J. (2013) Chemical composition and whey protein fraction of late lactation mares' milk. *International Dairy Journal*, 31, 2, 62-64.

Martuzzi, F., Summer, A., Formaggioni, P., Mariani, P. (2004) Milk of Italian Saddle and Haflinger nursing mares: physico-chemical characteristics, nitrogen composition and mineral elements at the end of lactation. *Italy Journal Animal Science*, 3, 293-299.

Minjigdorj, N., Baldorj, O., Austbø, D. (2012) Chemical composition of Mongolian mare milk. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*, 62, 2, 66-72.

Neville, M.C. (2009) Introduction: alpha-lactalbumin, a multifunctional protein that specifies lactose synthesis in the Golgi. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 14, 211-212.

Pagliarini, E., Solaroli, G., Peri, C. (1993) Chemical and physical characteristics of mare's milk. *Italian Journal of Food Science*, 4, 323-332.

Pieszka, M., Huszczyński, J., Szeptalin A. (2011) Comparison of mare's milk composition of different breeds. *Nauka Przyroda Technologie*, 5, 6, 112.

RU 4.2-1-FA-02 (2012) Određivanje titracijske kiselosti mlijeka Soxhlet-Henkel metodom. Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo, Referentni laboratorij za mlijeko i mliječne proizvode. Zagreb.

RU 4.2-1-FA-03 (2012) Određivanje pH vrijednosti mlijeka i mliječnih proizvoda ionometrijskom metodom. Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo, Referentni laboratorij za mlijeko i mliječne proizvode. Zagreb.

RU 4.2-1-MA-02 (2012) Određivanje broja mikroorganizama u mlijeku metodom protočne citometrije. Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo, Referentni laboratorij za mlijeko i mliječne proizvode. Zagreb.

Salamon, R., Csapo, J., Salamon, Sz., Csapo-Kiss, Zs. (2009) Composition of mare's colostrum and milk. I. Fat content, fatty acid composition and vitamin contents. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*, 2, 1, 119-131.

Salimei, E. (2011) Animals that produce dairy foods – Donkey. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., (Eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2nd ed.), Vol. 1, Academic Press, San Diego, CA, USA, 365–373.

SAS (1999) SAS System Software Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Shi, Y., Sun, G., Zhang, Z., Deng, X., Kang, X., Liu, Z., Mac, Y., Sheng, Q. (2011) The chemical composition of human milk from Inner Mongolia of China. *Food Chemistry*, 127, 1193–1198.

Uniacke-Lowe, T., Huppertz, T., Fox, P.F. (2010) Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance. *International Dairy Journal*, 20, 609-629.

Uniacke-Lowe, T. (2011) Studies on equine milk and comparative studies on equine and bovine milk systems. PhD Thesis, University College Cork.

Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J. (2006) *Dairy Science and Technology* (2nd Ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

Welsch, U., Buchheim, W., Schumacher, U., Schinko, I., Patton, S. (1988) Structural, histochemical and biochemical observations on horse milk-fat-globule membranes and casein micelles. *Histochemistry*, 88, 357–365.

Widdowson, E.M. (1984) Lactation and feeding patterns in different species, in, *Health Hazards of Milk*, D.L.M. Freed, ed., Baillière Tindall, London. 85-90.

9. SAŽETAK

Mateja Čagalj i Andreja Brezovečki

KEMIJSKI SASTAV, FIZIKALNA SVOJSTVA I HIGIJENSKA KVALITETA

KOBILJEG MLIJEKA HRVATSKOG HLADNOKRVNJAKA

Kobilje mlijeko od uvijek je bilo cijenjeno zbog svojih ljekovitih svojstava, zbog čega se danas sve više koristi u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji, te kao zamjena humanom mlijeku za prehranu novorođenčadi. Tijekom 2013. godine provedeno je istraživanje koje je imalo za cilj utvrditi kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu kobiljeg mlijeka, za pasminu hrvatskog hladnokrvnjaka. Kobilje mlijeko je u prosjeku sadržavalo 10,21% suhe tvari, 1,23% mliječne masti, 1,76% proteina, 0,71% kazeina, 6,26% laktoze. Korigirana srednja pH vrijednost iznosila je 7,0, titracijska kiselost 2,51°SH i točka leđišta -0,5318°C. Prosječan ukupan broj mikroorganizama u kobiljem mlijeku bio je 17.068/mL, a broj somatskih stanica 22.545/mL. Volumen kobiljeg vimena i okolišni uvjeti (odsutnost ždrebeta) značajno utječu na sekreciju mlijeka. Na osnovu rezultata istraživanja mogu se predložiti kriteriji fizikalno-kemijskih i higijenskih parametara kvalitete kobiljeg mlijeka. Mogućnosti primjene mlijeka hrvatskog hladnokrvnjaka su mnogobrojne, ali se ono za sada u Hrvatskoj gotovo i ne koristi, zbog nedovoljne informiranosti i educiranosti potencijalnih potrošača.

Ključne riječi: *kobilje mlijeko, albuminsko mlijeko, kemijski sastav, fizikalna svojstva, higijenska kvaliteta,*

10. SUMMARY

Mateja Čagalj and Andreja Brezovečki

CHEMICAL COMPOSITION, PHYSICAL PROPERTIES AND HYGIENIC QUALITY OF CROATIAN COLDBLOOD MARE'S MILK

Mare's milk has always been prized for its medicinal properties, which are now increasingly used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries, as well as replacement of human milk for human babies. During the 2013th a survey was conducted which aimed to determine the chemical composition, physical properties and hygienic quality of mare's milk, the breed Croatian Coldblooded. Mare's milk is, on average, contained 10.21% solids, 1.23% fat, 1.76% protein, 0.71% casein, 6.26% lactose. The average pH value was 7.0, titratable acidity of 2.51°SH and freezing point - 0.5318°C. The average total number of microorganisms in the mare's milk was 17.068/mL and somatic cell 22.545/mL. Volume mare's udder and environmental conditions (absence foal) significantly affect the secretion of milk. Based on the survey results, physical-chemical and hygienic quality parameters of mare's milk can be set up for future reference/control. Application possibilities milk Croatian Coldblooded is numerous, but in Croatia so far it is not used in any purpose, due to lack of awareness and education of potential consumers.

Keywords: *mare's milk, milk albumin, chemical composition, physical properties, hygienic quality,*

11. ŽIVOTOPIS

Mateja Čagalj rođena je 23.05.1989. godine u Zagrebu, gdje je završila osnovnu i srednju Veterinarsku školu. Preddiplomski (Bs) studij *Animalnih znanosti* na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, upisala je a.g. 2008./2009., a diplomski (Ms) studij *Proizvodnja i prerada mlijeka* a.g. 2011./2012. na istoimenom fakultetu. Sudjelovala je u izradi istraživačkog rada naslova „Linearno ocjenjivanje bikova Charolais pasmine“ 2011. godine, koji je bio izložen na 47. Hrvatskom i 7. Međunarodnom Simpoziju agronoma u Opatiji. Studentica pokazuje veliki interes za područje mljekarstva i trenutno radi na stručnom projektu koji obuhvaća svojstva i osobine devinog mlijeka.

Andreja Brezovečki rođena je 08.10.1989. godine u Zagrebu, gdje je završila osnovnu i srednju Veterinarsku školu. Preddiplomski (Bs) studij *Animalnih znanosti* na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, upisala je a.g. 2008./2009., a diplomski (Ms) studij *Proizvodnja i prerada mlijeka* a.g. 2011./2012. na istoimenom fakultetu. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala je u izradi istraživačkog rada naslova „Utjecaj brojnosti kopnenih puževa na pojavu malog metilja u ovaca“ 2008. godine, koji je bio izložen na Državnoj smotri mladih biologa u Podgori, gdje je rad osvojio 2. mjesto. Studentica je tijekom preddiplomskog studija sudjelovala u izradi istraživačkog rada naslova „Linearno ocjenjivanje bikova *Charolais* pasmine“ 2011. godine, koji je izložen na 47. Hrvatskom i 7. Međunarodnom Simpoziju agronoma u Opatiji. Također, na diplomskom studiju nalazi se među 10% najuspješnijih studenata. Studentica je iznimno zainteresirana za područje mljekarstva i trenutno radi na stručnom projektu koji obrađuje svojstva i osobine devinog mlijeka.

12. PRILOG

Popis slika

<i>Slika 1. Kobilica i ždrijebe hrvatskog hladnokrvnjaka</i>	5
<i>Slika 2. Uzorci kobiljeg mlijeka (Foto: Brezovečki, 2013)</i>	6

Popis tablica

<i>Tablica 1. Kemijski sastav kobiljeg mlijeka</i>	8
<i>Tablica 2. Fizikalna svojstva kobiljeg mlijeka</i>	10
<i>Tablica 3. Higijenska kvaliteta kobiljeg mlijeka</i>	11
<i>Tablica 4. Koeficijenti korelacija</i>	12