

**Ministarstvo prosvete, nauke  
i tehnološkog razvoja  
Nemanjina 22-26  
11000 Beograd**

**Matični naučni odbor za  
biotehnologiju i poljoprivredu**



**Prijava tehničkog rešenja**

**Novi tehnološki postupak – Postupak za dobijanje liofilizata od kobiljeg mleka**

**Kategorija tehničkog rešenja: M 82**

**Beograd 2024**

## SADRŽAJ

1. Autori tehničkog rešenja .....	2
2. Naziv tehničkog rešenja .....	2
3. Ključne reči.....	2
4. Tehničko rešenje je rađeno za .....	2
5. Godina kada je rešenje kompletirano .....	2
6. Godina kada je rešenje počelo da se primenjuje i od koga .....	2
7. Oblast i naučna disciplina na koje se tehničko rešenje odnosi .....	2
8. Opis problema koji se tehničkim rešenjem rešava .....	3
9. Stanje rešenosti problema u svetu .....	4
10. Opis tehničkog rešenja .....	6
10.1. Uvod .....	7
10.2. Materijal i metode .....	7
<i>Prikupljanje uzoraka.....</i>	<i>7</i>
<i>Fizičko-hemijska analiza.....</i>	<i>7</i>
<i>Analiza masnih kiselina kapilarnom gasnom hromatografijom.....</i>	<i>8</i>
<i>Mikrobiološka ispitivanja.....</i>	<i>8</i>
<i>Senzorna ispitivanja.....</i>	<i>9</i>
<i>Liofilizacija.....</i>	<i>9</i>
10.3. Rezultati analiza kobiljeg mleka .....	10
10.3.1. Rezultati hemijskih ispitivanja kobiljeg mleka.....	10
10.3.2. Rezultati mikrobioloških ispitivanja kobiljeg mleka.....	12
10.3.3. Rezultati senzornih ispitivanja kobiljeg mleka.....	13
11. Tehnička dokumentacija .....	15
Autori.....	16
Literatura .....	17

U skladu sa Pravilnikom o sticanju istraživačkih i naučnih zvanja (Službeni glasnik RS br. 159/2020, 14/2023), podnosimo prijavu za ocenu tehničkog rešenja.

- 1. Autori tehničkog rešenja:** Aleksandra Nikolić, Milijana Sindić, Spomenka Đurić  
Jelena Jovanović, Mirjana Lukić, Jelena Babić  
Milijašević, Milan Milijašević
  
- 2. Naziv tehničkog rešenja:** Novi tehnološki postupk – Postupak za dobijanje  
lioofilizata od kobiljeg mleka
  
- 3. Ključne reči:** Kobilje mleko, liofilizat, masne kiseline
  
- 4. Tehničko rešenje je rađeno za:** Pružalac usluge: Institut za higijenu i tehnologiju mesa,  
Kačanskog 13, Beograd  
**Privredni subjekat:** MLEKARA M&O DOO,  
LAJKOVAC, Beogradski put bb, Lajkovac
  
- 5. Godina kada je rešenje kompletirano** 2024
  
- 6. Godina kada je rešenje počelo da se primenjuje i od koga:** 2024, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd;
  
- 7. Oblast i naučna disciplina na koje se tehničko rešenje odnosi:** Biotehničke nauke, Bezbednost hrane

## 8. Problem koji se tehničkim rešenjem rešava

Prema literaturnim podacima (Musaev i sar., 2021, Pietrzak-Fiećko i sar., 2013) kobilje mleko, pored toga što je najvažniji nutritivni resurs za ždrebac tokom prvih meseci života, takođe je jedna od najvažnijih osnovnih namirnica za ljudsku populaciju u oblastima centralne Azije (Mongolija, Kazahstan, Kirgistan, Rusija i Kina) gde se mlečno-alkoholno piće zvano Kumis i Saumal tradicionalno proizvode fermentacijom. Ovaj drevni napitak koji su skitska plemena (plemena iranskog porekla) pila pre oko 25 vekova, široko se konzumira širom Istočne Evrope i Azije, a sada se proizvodi u industrijskim regionima. U zapadnoj Evropi, gde je najvažniji proizvod uzgajanje konja i ždrebadi, studije o mleku kobila bavile su se uglavnom rastom i zdravljem ždrebeta. U poslednjih nekoliko godina povećava se interesovanje za upotrebu kobiljeg mleka za ishranu ljudi, posebno u Francuskoj, Italiji i Nemačkoj (Pikul i Wójtowski, 2008). Trenutno postoji veliko interesovanje za upotrebu kobiljeg mleka za ishranu ljudi u zapadnoj Evropi i SAD-u, jer se može davati deci i odraslima koji su alergični na kravlje mleko.

Značajan broj konja uzgaja se u nekoliko zemalja širom sveta radi proizvodnje mleka, zbog njegovih nutritivnih i terapeutskih svojstava (Danko'w i sar., 2006). Prema nekim autorima kobilje mleko konzumira 30 miliona ljudi širom sveta (Martuzzi i sar. 2024). Kobilje mleko pripada albuminskom tipu mleka (sadrži više proteina surutke), za razliku od kravljeg mleka koje pripada kazeinskom tipu (sadrži više kazeina, grube proteine) koji mogu dovesti do alergijske reakcije kod novorođenčadi. Zbog toga mleko kobila može se koristiti kao zamena kod novorođenčadi koji su alergični na kravlje mleko. Prema literaturnim podacima kobilje mleko utiče na detoksikaciju tela, usporava starenje ćelije, pomaže u uklanjanju toksičnih elemenata iz tela (Jastrzębska i sar., 2017) i ima široko antimikrobno, antivirusno (Musaev i sar., 2021) i antiinflamatorno dejstvo (Abdel-Salam i sar., 2010). Antimikrobnu aktivnost kobiljeg mleka omogućena je prisustvom lizozoma i laktoferina. Antibakterijsko dejstvo lizozoma odnosi se na gram-pozitivne bakterije, a može inhibirati i neke viruse, zatim eukariotske mikroorganizme kao što su neki paraziti (*Entamoeba histolytica* trophozoites) i gljivice (*Candida albicans*) (Musaev i sar., 2021). Kobilje mleko je zaboravljeno kao prehrambeni proizvod u Evropi dugi niz godina, iako se koristilo kao pomoćni lek kod gastrointestinalnih oboljenja (čir na želucu, ciroza jetre, holecistitis i pankreatitis) i respiratornih oboljenja (tuberkuloza, bronhitis, pertusis, astma) (Jastrzębska i sar., 2017). Postoje podaci da kobilje mleko ima pozitivan efekat kod osoba sa kardiovaskularnim oboljenjima jer olakšava i povećava apsorpciju kalijuma. Njegova upotreba kod ljudi sa dijabetesom pomaže u smanjenju doze insulina i poboljšava glikemijski indeks (Jastrzębska i sar., 2017). Neki sanatorijumi imaju svoje kobile za proizvodnju mleka i sopstvene pogone za proizvodnju kumisa. Kobilje mleko ima hranljiva, antiinflamatorna i tonirajuća svojstva, a vrlo mali potencijal za alergijskom reakcijom, pa se može koristiti i u kozmetičkoj industriji (Pieszka i sar., 2016). Proizvodi napravljeni od njega uključuju komercijalno dostupne kreme i balzame. Preko 80% populacije pati od psorijaze i problema suve kože, korišćenjem

krema, losiona, uljanih kupki za hidrataciju kože, ograničeno je samo na epidermis čime se obezbeđuje 20% hidratacije. Shodno tome osobe koje imaju ovaj problem potrebno je da uzimaju dodatak ishrani preparat koji sadrži koncentrovano kobilje mleko koje omogućava vlaženje dubljih slojeva kože (Pieszka i sar., 2016). Kobilje mleko, poput magarećeg mleka, sada se koristi kao sastojak luksuznog sapuna za žene (Jastrzębska i sar., 2017).

Ovo tehničko rešenje odnosi se na postupak proizvodnje Liofilizata kobiljeg mleka zbog njegovih hranljivih i terapijskih svojstava. Ispitan je hemijski i masnokiselinski sastav mleka, zatim senzorna svojstva mleka (miris, boja, konzistencija i ukus) kao i mikrobiološka ispitivanja kobiljeg mleka. Takođe ispitan je i hemijski i masnokiselinski sastav hrane za ishranu konja.

## 9. Stanje rešenosti problema u svetu

Mala popularnost kobiljeg mleka je posledica njegove ograničene dostupnosti, zbog male zapremine kobiljeg vimena i stalno prisustvo ždrebeta, neophodnog za aktiviranje refleksa za lučenje mleka. Laktacija traje od 5 do 8 meseci. Vrhunac laktacije se javlja u drugom mesecu nakon ždrebljenja. Količina izlučenog mleka tokom prvih 12 nedelja je blizu 3% od telesne težine kobile i smanjuje se na oko 2% tokom narednih 12 nedelja (Włodarczyk-Szydłowska i sar., 2005). Dnevni prinos mleka varira prema različitim literaturnim podacima (Włodarczyk-Szydłowska i sar., 2005; Pieszka i sar. 2016) od 10 kg i 29-30 kg mleka dnevno. Kobilica može da proizvede 1200 – 3000 kg mleka tokom 5 – 6 meseci laktacije (Dankow i sar., 2012). Dobijeno mleko se hladi odmah nakon muže, sipa u staklena ili plastična pakovanja i prodaje. Višak mleka se smrzava ili liofilizuje. Liofilizat se pakuje u kesice ili kapsule i prodaje u apotekama. Namenjen je direktnoj konzumaciji nakon rastvaranja u maloj količini vode ili korišćenja kao dodatak jogurtu ili kefiru (Jastrzębska i sar., 2017).

Prema literaturnim podacima, karakteristike kobiljeg mleka uključuju nizak sadržaj masti i proteina a visok sadržaj laktoze. Proteini prisutni u mleku kobilica čine 50–55% kazeina i 45% globulina i albumina (Jastrzębska i sar., 2017). Prema tome, to je mleko tipa albumina poput ljudskog mleka sa 50% globulina i albumina i razlikuje se od kazeinskog tipa mleka preživara (80% sadržaja kazeina – kravlje mleko), što ga čini fiziološki svarljivijim nego što je kravlje mleko. Kobilje mleko je dobar izvor linolne kiseline (n-6 kiseline) i  $\alpha$ -linolenske kiseline (n-3 kiseline), koje ljudsko telo ne sintetiše i koje su od suštinskog značaja za rast i razvoj nervnog sistema (Jastrzębska i sar., 2017).

U skladu sa literaturom, mlečna mast kobiljeg mleka sadrži 80-85% triglicerida, 9,5% slobodnih masnih kiselina i 5-10% fosfolipida (Stuparu i sar., 2016). Analiza sastava masnih kiselina u mleku kobilica može zavistiti od faze laktacije. Na hemijski sastav kobiljeg mleka utiče ishrana konja, rasa i brojni faktori životne sredine (Jastrzębska i sar., 2017). Kobilje mleko bogato je masnim kiselinama kratkog i srednjeg lanca. Buterna kiselina (C4:0) i kapronska kiselina (C6:0) prisutne su u malim količinama (manje od 1%), kaprilna kiselina (C8:0) predstavlja oko 3%, kaprinska (C10:0), laurinska (C12:0) i miristinska kiselina (C14:0) po oko 7,5%. Palmitinska kiselina (C16:0) predstavlja 12-28% ukupnih masnih kiselina. Specifičnost mlečne masti kobilica je vrlo niska koncentracija stearinske kiseline (C18:0), između 0.3-3%

ukupnih masnih kiselina. To se pripisuje niskom sadržaju stearinske kiseline u ishrani konja ili zbog moguće velike aktivnosti  $\Delta 9$  desaturaze, koja u vimenu pretvara stearinsku kiselinu u oleinsku (C18:1n-9). Ova poslednja hipoteza pojačana je visokim sadržajem palmitoleinske kiseline (C16:1), koja u većini eksperimenata varira između 4-8%. Kobilje mleko je bogato polinezasićenim masnim kiselinama (PUFA). Važan udeo linolne kiseline (C18:2n-6), između 5-20% ukupne masne kiseline, je zbog prisustva ovih kiselina u ishrani, koja je glavna masna kiselina u žitaricama i njihovim nus-proizvodima (Doreau i Martuzzi 2006).

Pojedini autori objavili su da mleko kobilja, hranjenih hranom koja sadrži visok procenat sena, sadrži više masti i proteina a manje laktoze, pri čemu mast sadrži više  $\alpha$ -linolenske kiseline (C18:3n-3, ALA) i manje linolne kiseline u poređenju sa mlekom od kobilja koje su hranjene koncentrovanom hranom. Međutim, glavna specifičnost mleka od kobilja je visok sadržaj ALA, u proseku 12%, između 2-26% prema autorima. Najočigledniji efekat ishrane na sastav masnih kiselina je uticaj na ALA, čiji udeo u mlečnoj masti može biti pet puta veći kada je biljna ishrana (paša) nego kod zimske ishrane. Sveža trava sadrži 1-3% masnih kiselina od kojih je više od 50% napravljeno od ALA. Gotovo sva merenja izvršena na svežoj travi daju vrednosti  $\alpha$ -linolenske kiseline između 15 i 25%, za razliku od zimske ishrane koje daju vrednosti niže od 10%. Kod zimske ishrane, ishrana sa senom je dala veći udeo ALA od ishrane sa koncentratom, verovatno zbog većeg sadržaja ALA u senu nego u koncentratu. Ishrana senom rezultira većim dnevnim lučenjem  $\alpha$ -linolenske kiseline (Doreau i Martuzzi 2006). Masne kiseline neparnog lanca, karakteristične za bakterije, prisutne su u malim količinama. Njihova koncentracija se kreće između 0,2 i 0,9% za C15:0, između 0,3-0,6% za 15:1 i 1,2% C17:0 i između 0,0-1,1% za 17:1 (Doreau i Martuzzi 2006). Sastav mleka kobilja hranjenih prevashodno senom (95% sena, 5% koncentrata), u poređenju sa mlekom kobilja hranjenih hranom bogatom koncentratom (50% seno, 50% koncentrata), imao je veći sadržaj mlečne masti i proteina te veći sadržaj linolenske kiseline i niže koncentracije linolne kiseline. Za razliku od toga, goveđe mleko sadrži prvenstveno zasićene masne kiseline zbog obimne hidrogenizacije nezasićenih masnih kiselina zbog mikroorganizmima u rumenu pre apsorpcije. Literaturni podaci pokazuju da je sastav kobiljeg mleka povezan sa ishranom kobilja, što ukazuje da dodavanje određenih sastojaka u hranu za životinje može promeniti sadržaj nekih komponenti mleka kao što su profil masnih kiselina, nivo  $\beta$ -karotena i  $\alpha$ -tokoferola (Mirowski i Didkowska, 2015).

Nutritivni kvalitet lipidne frakcije kobiljeg mleka zasniva se na malim količinama stearinske i palmitinske kiseline a velike količine linolne i linolenske kiseline (Salamo'n i sar., 2009). Važno je istaći visok sadržaj proteina (10% u proseku) koji se sastoji od imunoglobulina u 80% (Barreto i sar., 2020). Mast kolostruma je oko 20% veći od mlečne masti proizvedene u početku trećine laktacije (Pecka i sar., 2012). Bioaktivni prekursori peptida, kao što su  $\beta$ -laktoglobulini i  $\alpha$ -laktoalbumini, prisutni su u kolostrumu od kobilja u značajnim količinama (Fessas i sar., 2001). Vrednosti dobijene u sastavu kolostruma potvrđuju njegovo hranljivo bogatstvo. Mlečna mast od nepreživara (kobile i magarca) sadrži niži procenat zasićenih masnih kiselina (SFA) i mononezasićenih masnih kiselina (MUFA). Što se tiče količine polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), najveća vrednost pronađena je u kobiljem mlijeku (do 51%), a zatim u

magarećem mleku (do 30%). U poređenju sa kravljim mlekom, mleko kobilja sadrži manje masti, veće koncentracije PUFA (Barreto i sar., 2019), posebno ALA, slične koncentracije MUFA, posebno palmitoleinske i oleinske kiseline, i niže koncentracije SFA (Gregić i sar. 2022). Kobilje mleko bogato je sadržajem  $\alpha$ -linolenske kiseline (Collomb i sar. 2006; Musaev i sar. 2021), koje potiče od sena koje se koristi u ishrani konja/kobilja (Nikolić i sar., 2023). Takođe, ovo mleko sadrži velike količine laktoze, zatim kao što je već naglašeno profil proteina je drugačiji kod kobiljeg mleka u odnosu na kravlje mleko i ima manje SFA i više PUFA.

Organoleptički, kobilje mleko je bistro, beličasto i slađe od kravljeg mleka, što ga čini sličnim ljudskom mleku, ima ukus kokosa i miris na seno (Potocnik i sar., 2011). Zbog visokog sadržaja laktoze kobilje mleko ima slatkast ukus. Koncentracije Ca i P su tri puta veće nego u majčinom mleku a duplo manje nego u kravljem mleku (Gaucheron, 2005). Koncentracije K, Na i Mg su slične onima u ljudskom mleku, a značajno variraju tokom laktacije (Fantuz i sar., 2012). Kobilje mleko sadrži sličan nivo vitamina (A, D3, E) rastvorljivih u masti kao onom u kravljem mleku, a viši nivo vitamina C, iako je dosta niži u odnosu na nivo vitamina C u ljudskom mleku (Salamon i sar., 2009). Kobilje mleko ima veoma dobar higijensko-sanitarni status. Razlikuje se od mleka drugih farmskih životinja po tome što ima najmanji sadržaj somatskih ćelija i veoma nizak ukupan broj mikroorganizama (Dankow i sar., 2006; Kulisa i sar., 2010). Pasterizacija mleka obezbeđuje mikrobiološku bezbednost i održivost proizvoda. Međutim, najčešći način skladištenja i konzervisanja kobiljeg mleka jeste smrzavanje i hlađenje, što usporava rast prisutnih mikroorganizama i promene hemijskih parametara ali ne garantuje inaktivaciju svih patogenih mikroorganizama (Claeys i sar., 2014; Gražyna i sar. 2018). Kobilje mleko može da se čuva 72 sata u frižideru pri temperaturi od +4°C, bez narušavanja mikrobiološkog kvaliteta (Gražyna i sar., 2018). Kobilje mleko je ispitivano na prisustvo bakterija mlečne kiseline, na ukupan broj bakterija, na prisustvo *Salmonella* i koliformnih bakterija (Gražyna i sar., 2018). Patogene *Salmonella* spp, kao ni koliformne bakterije nisu utvrđene u kobiljem mleku. Sadržaj vitamina C ostao je relativno stabilan tokom jednonedeljnog skladištenja. Antibakterijska aktivnost laktoferina široko je dokumentovana *in vitro* i *in vivo* za Gram-pozitivne bakterije (*Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium* sp., *Haemophilus influenza*) i gram-negativne bakterije (*Listeria monocytogenes*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*).

## 10. Opis tehničkog rešenja

Cilj ovog tehničkog rešenja jeste dobijanje liofilizata kobiljeg mleka zbog njegove nutritivne vrednosti koje su potvrđene ispitivanjima: hemijskog i masnokiselinskog sastava kobiljeg mleka za potrebe deklarisanja kobiljeg mleka, kao i mikrobiološka i senzorna ispitivanja.

### 10.1. Uvod

Organoleptička svojstva kobiljeg mleka ogledaju se u izrazito beloj boji, retkoj konzistenciji i slatkom ukusu. Kobilje mleko može se zamrzavati i pri tome ne gubi svoja

svojstva. U zamrznutom stanju može se čuvati i do 9 meseci. Međutim, prilikom odmrzavanja često dolazi do promene ukusa, najčešće usled kratkog izlaganja visokim temperaturama.

Sušenje zamrzavanjem (liofilizacija) jedan je od postupaka tehnološke obrade mleka koji se danas sve češće koristi kao alternativa zamrzavanju za očuvanje kvaliteta. Liofilizacija je definisana kao proces stabilizacije matriksa u kome se supstanca prvo zamrzava i onda se sadržaj rastvarača redukuje sublimacijom (primarno sušenje), a zatim desorpcijom (sekundarno sušenje) do vrednosti koja više ne podržava hemijske reakcije i rast prisutnih mikroorganizama. Prednosti liofilizacije obuhvataju: 1) izbegavanje efekta koncentrisanja (npr. proteina), pri čemu distribucija hranljivih sastojaka tokom sušenja i nakon sušenja ostaje ista; 2) sadržaj vlage liofilizovanog proizvoda smanjuje se na oko 2-3% što proizvod čini stabilnim; 3) redukcija oksidativne denaturacije, obzirom da se liofilizovano mleko hermetički pakuje u vakumu; 4) smanjenje mase liofilizovanog mleka usled gubitka vlage što se reperkutuje na smanjene troškove transporta; 5) smanjenje mogućnosti kontaminacije obzirom da se proces sprovodi u kontrolisanim uslovima radne sredine i 6) laka rekonstitucija liofilizovanog mleka u digestivnom traktu usled formiranja porozne strukture.

## 10.2. Materijali i metode

### *Prikupljanje uzoraka*

Za sva istraživanja korišćeno je zbirno kobilje mleko „FRIZIJSKE“ rase uzeto iz konjskog kluba „MIRELA“, Belegiš. Uzorci su smešteni u prenosive rashladne kontejnere i poslani su u laboratoriju u roku od 2 h gde su čuvani pri temperaturi od  $4 \pm 1$  °C do početka ogleada. Uzorci (12) su prikupljeni u periodu od 6 meseci laktacije.

### *Fizičko-hemijska analiza*

Za ispitivanje korišćeni su uzorci kobiljeg mleka prikupljeni u periodu od 6 meseci laktacije, a analize su rađene u dva ponavljanja. Standardne ISO metode korišćene su za određivanje hemijskih parametara (vlaga, mast, proteini, pepeo, laktoza, minerali). Vlažnost je određena sušenjem uzoraka do konstantne mase referentnom metodom navedena u međunarodnom standardu (SRPS ISO 6731:2013), sadržaj masti – acido-butirometrijski (Gerberova metoda) (SRPS ISO 19662:2020), proteini su određeni Kjeldahl metodom na aparatu (SRPS EN ISO 8968-1:2016), pepeo je određen sagorevanjem uzoraka u peći za žarenje (Carić i sar., 2000), određivanje sadržaja laktoze tečnom hromatografijom visokih performansi (SRPS ISO 22662:2013) i određivanje hemijskih elemenata (As, Hg, Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Sn, Cr, Mn, Se, Ni, Co, Sb, Na, K, Ca, Mg) primenom induktivno kuplovane plazme sa masenom detekcijom (ICP MS) (Millour i sar., 2011; Nardi i sar., 2009).

U okviru hemijskih ispitivanja održivosti proizvoda "**Kobilje mleko**", praćena je promena pH vrednosti („aktivna kiselost“) i kiselost po Soxhlet-Henkelu („titraciona kiselost“), primenom sledećih metoda:

- pH vrednost je određena potenciometrijski, na laboratorijskom pH- metru, model Cyber Scan, pH 510 Meter, EUTECH Instruments, Holandija,
- kiselost po Soxhlet-Henkeli je određena volumetrijski, prema Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i metodama hemijskih i fizičkih analiza mleka i proizvoda od mleka (Sl. list SFRJ br. 32/83), metoda II/2.

#### *Analiza masnih kiselina kapilarnom gasnom hromatografijom*

U ovoj analizi, derivati masnih kiselina, kao što su metil estri masnih kiselina (FAMES) (Christie i sar., 2001) otkriveni su gasno-tečnom hromatografijom (GLC, Shimadzu 2010, Japan) u kombinaciji sa detektorom plamene jonizacije i kapilarnim HP-88 kolonama (dužina 100m, i.d. 0.25mm, debljina filma 0,20  $\mu\text{m}$ ). Temperature injektora i detektora su održavane pri temperaturi od 250°C do 280°C. Kao gas nosač korišćen je azot pri brzini protoka od 1,87 mL min<sup>-1</sup>. Odnos podele injektora postavljen je na 1:50, a zapremina ubrizgavanja bila je 1  $\mu\text{L}$ . Da bio se postiglo potpuno odvajanje ispitivanih jedinjenja, primenjena je programirana temperatura peći u koloni koja počinje pri temperaturi od 50°C a završava se pri temperaturi od 230°C. Ukupno vreme analize je 63,12 minuta. Hromatografski pikovi u uzorcima su identifikovani upoređivanjem sa FAMES pikova sa pikovima u Supelco 37 Component FAME mix standardu (Supelco, Bellefonte, PA), kome je dodata smeša od 5 mg ml<sup>-1</sup> konjugovane linolne kiseline (CLA) (O5632, Sigma Aldrich).

#### *Mikrobiološka ispitivanja*

Mikrobiološka ispitivanja kobiljeg mleka vršena su u skladu sa sledećim standardnim ISO metodama:

1. SRPS ISO 11290-1: 2017 - Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* Deo 1: Metoda otkrivanja;
2. SRPS ISO 21528-2:2017 – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* Deo 2: Metoda brojanja kolonija;
3. SRPS ISO 6579-1:2017 – Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp;
4. SRPS ISO 15214:1998 – Horizontalna metoda za određivanje broja mezofilnih bakterija mlečne kiseline - Tehnika brojanja kolonija na 30°C;
5. SRPS ISO 16649-2:2008 – Horizontalna metoda za određivanje broja  $\beta$ - glukuronidaza pozitivne *Escherichia coli* Deo 2: Tehnika brojanja kolonija na 44 °C pomoću 5-bromo-4-hloro-3 indolil-  $\beta$ -D- glukuronida;
6. SRPS ISO 4833- 1:2014 – Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - Tehnika brojanja kolonija na 30 °C;
7. SRPS ISO 6888-1:2009 – Horizontalna metoda za određivanje broja koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste) Deo 1: Tehnika upotrebom agara po Baird Parkeru;
8. SRPS ISO 15213: 2011 – Horizontalna metoda za određivanje broja sulfitoredukujućih bakterija koje rastu u anaerobnim uslovima;

### *Senzorna ispitivanja*

Uzorci su dostavljeni u ohlađenom stanju. U senzorskoj oceni učestvovalo je pet ocenjivača, čija su čula testirana odgovarajućim senzorskim testovima: SRPS ISO 3972:2016 – Senzorske analize – „Metoda utvrđivanja osećaja ukusa”; SRPS ISO 5496:2014 – Senzorske analize – “Upućivanje i obučavanje ocenjivača za otkrivanje i prepoznavanje mirisa”; SRPS ISO 4120:2012 – Senzorske analize – “Test trougla”, test za ispitivanje sposobnosti ocenjivača da razlikuje različite koncentracije modela rastvora. Pomoću „Kvantitativno deskriptivnog testa“ (SRPS ISO 6658:2018) na numeričko-deskriptivnoj skali (**tabela 1**), ocenama od 1 do 5 ocenjena su senzorna svojstva proizvoda, a vrednosti su iskazane kao srednje vrednosti od pet ocenjivača.

**Tabela 1.** Numeričko deskriptivna skala za ocenu senzorskih svojstava:

<b>Brojčana ocena</b>	<b>Opisna ocena</b>
5	izuzetno prihvatljiva
4	veoma prihvatljiva
3	prihvatljiva
2	na granici prihvatljivosti
1	neprihvatljiva

### *Liofilizacija*

Uzorci mleka zagrevani su u vodenom kupatilu pri temperaturi od 45° C tokom 10 minuta, a zatim homogenizovani korišćenjem homogenizatora visokog pritiska (Emusiflek-c3, Avestin, Otava, ON, Kanada) na 150 bara. Homogenizovani uzorci kobiljeg mleka alikvotirani su u silikonske kalupe od 1 mL i zamrznuti pri temperaturi od -80°C, a zatim su osušeni tokom naredna 24 sata u liofilizatoru (Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Nemačka). Glavna faza sušenja izvršena je pri temperaturi od -75°C na 3 mbar potpritiska. Finalna faza sušenja izvršena je pri temperaturi od -8 °C na 0,001 mbar. Ukupna procedura trajala je 48 sati. FD („Freeze dried“ – liofilizovani ili osušeni zamrzavanjem) uzorci su držani pri temperaturi od -80 °C do analize.



**Slika 1. Liofilizovani uzorci kobiljeg mleka u finalnoj formi**

### 10.3. Rezultati analiza kobiljeg mleka

#### 10.3.1. Rezultati hemijskih ispitivanja kobiljeg mleka

U **tabeli 2.** može se videti hemijski sastav kobiljeg mleka, ispitivanog tokom 6 meseci laktacije. Kobilje mleko karakteriše nizak sadržaj proteina 2,22% i masti od 0,77%, a visoko prisustvo laktoze od 6,15%.

**Tabela 2. Hemijski sastav kobiljeg mleka**

Nutrijent	100 g
Proteini, g	2.22
Masti, g	0.77
Laktoza, g	6.15
Minerali, g	0.31
Energetska vrednost, kcal	39.79
Energetska vrednost, kJ	169.14
Linolna kiselina, mg	92.05
$\alpha$ - linolenska kiselina, mg	22.78

Kobilje mleko bogato je masnim kiselinama kratkog i srednjeg lanca. Buterna kiselina (C4:0) i kapronska kiselina (C6:0) prisutne su u malim količinama (manje od 1%), kaprilna kiselina (C8:0) prisutna je sa 1,79%, kaprinska (C10:0), laurinska (C12:0) i miristinska kiselina (C14:0) zastupljene su sa oko 4%. Palmitinska kiselina (C16:0) predstavlja 24,29% ukupnih masnih kiselina. Specifičnost mlečne masti kobilja je u vrlo niskoj koncentraciji stearinske kiseline (C18:0), koja čini 1,68% od ukupnih masnih kiselina, dok je  $\alpha$ -linolenska kiselina

zastupljena (C18:3n-3, ALA) sa oko 3,12%. Masno-kiselinski sastav kobiljeg mleka prikazan je u tabeli 3.

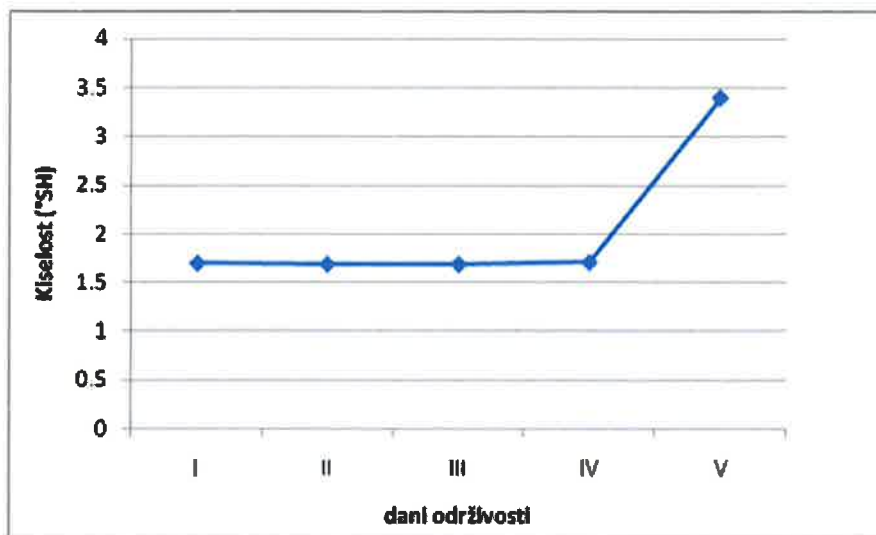
**Tabela 3. Sastav masnih kiselina kobiljeg mleka**

Masne kiseline	Kobilje mleko (n = 12)
C4:0	0.08±0.01
C6:0	0.43±0.02
C8:0	1.79±0.09
C10:0	3.89±0.18
C12:0	4.16±0.24
C14:0	5.81±0.23
C15:0	0.39±0.01
C16:0	24.94±0.29
C16:1	7.27±0.16
C17:0	0.45±0.04
C18:0	1.68±0.07
C18:1trans-11	5.66±0.83
C18:1cis-9	28.65±0.93
C18:2n-6	12.65±0.51
C20:0+C18:3n-6	0.59±0.10
C18:3n-3	3.12±0.22
c9t11CLA	0.74±0.03
C20:2n-6	0.35±0.01
C20:4n-6	0.16±0.01
C20:5n-3	0.05±0.01
C22:6n-3	0.07±0.01
SFA	43.63±0.71
MUFA	40.05±0.60
PUFA	16.32±0.27
SCFA	6.19±0.30
MCFA	42.57±0.92
LCFA	48.64±2.34
VLCFA	5.08±0.26

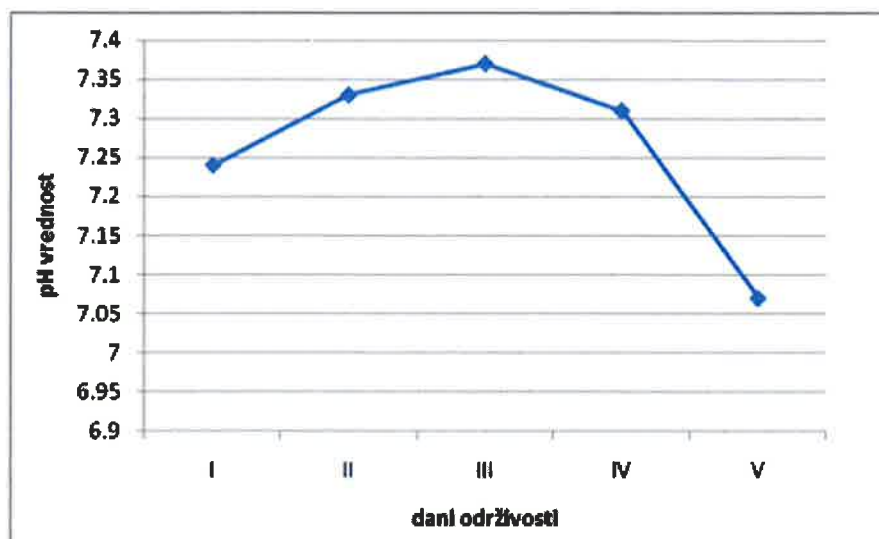
Vrednosti predstavljaju srednju vrednost ±SEM, n – broj uzoraka, SFA – zasićene masne kiseline, MUFA – monenezasićene masne kiseline, PUFA – polinezasićene masne kiseline, SCFA – kratkolančane masne kiseline (< C11:0), MCFA – srednjelančane masne kiseline (C12:0-C17:0), LCFA – dugolančane masne kiseline (C18-C19), VLCFA – veoma dugolančane masne kiseline (> C19:0).

Vrednost titracione kiselosti po Soxhlet-Henkeli (°SH) bila je približno konstantna od prvog do četvrtog dana ispitivanja. Prosečna vrednost je bila 1,70 °SH. pH vrednost u istom periodu od prvog do četvrtog dana ispitivanja nije se smanjivala. Prosečna pH vrednost je bila 7,31. Titraciona kiselost naglo se povećala petog dana ispitivanja na vrednost 3,40 °SH što se vidi na **grafikonu 1.**, a pH vrednost se smanjila peti dan na 7,07 (**grafikon 2.**). U skladu sa

hemijskim ispitivanjima, kobilje mleko je održivo do četvrtog dana ispitivanja, što odgovara petom danu održivosti kobiljeg mleka, jer je ispitivanje krenulo od drugog dana održivosti.



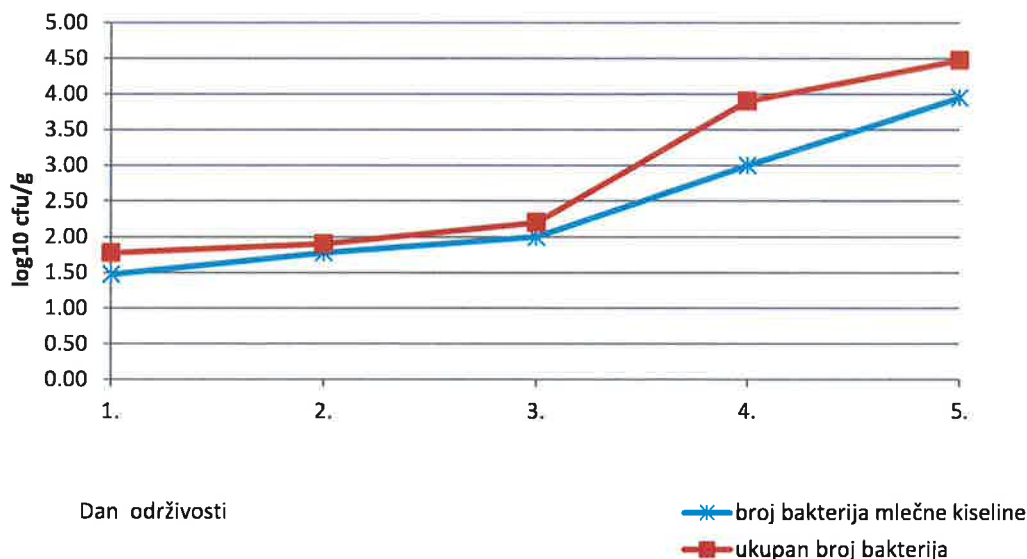
**Grafik 1. Promena kiselosti po danima ispitivanja**



**Grafik 2. Promena pH vrednosti po danima ispitivanja**

### 10.3.2. Rezultati mikrobioloških ispitivanja kobiljeg mleka

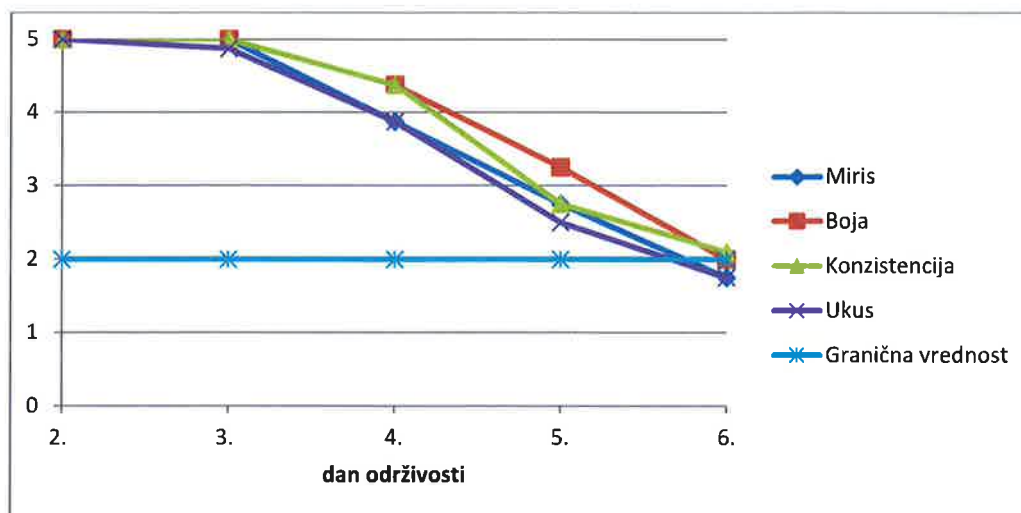
Kobilje mleko je ispitivano od prvog do petog dana na pristustvo mikroorganizama. Rezultati mikrobioloških ispitivanja ukazuju da tokom celog ispitivanog perioda u uzorcima pod nazivom **SIROVO KOBILJE MLEKO**, nije utvrđeno prisustvo *L.monocytogenes*, *Salmonella* spp, a broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* i broj *E.coli*, koagulaza-pozitivnih stafilokoka i sulfitoredujućih klostridija je manji od 10 cfu/g. Ukupan broj bakterija pokazivao je postepen rast tokom celog perioda ispitivanja od prvog do petog dana, sa maksimumom od 4,5 log<sub>10</sub> CFU/g (5.dan ispitivanja). Broj bakterija mlečne kiseline pokazivao je takođe postepen trend rasta tokom celog perioda ispitivanja od prvog do petog dana, sa maksimumom od 3,9 log<sub>10</sub> CFU/g (5.dan ispitivanja). Rezultati kinetike ispitivanih mikroorganizama prikazani su na **Grafikonu 3**. Prikazane vrednosti su prosečna vrednost za svaki dan ispitivanja svih uzoraka.



**Grafikon 3. Kinetika mikroorganizama u uzorcima SIROVO KOBILJE MLEKO**

### 10.3.3. Rezultati senzornih ispitivanja kobiljeg mleka

Ispitivanjem senzornih svojstava, za sve parametre u smislu ispitivanja održivosti, tokom drugog i trećeg dana ispitivanja, ocenjena su kao „izuzetno prihvatljiva“. Četvrtog dana ispitivanja održivosti, sva senzorna svojstva su ocenjena kao „veoma prihvatljiva“. Petog dana ispitivanja održivosti, sva ispitivana senzorna svojstva ocenjena su kao „prihvatljiva“. Šestog dana ispitivanja održivosti, boja proizvoda je ocenjena kao „prihvatljiva“, dok su ostala ispitivana senzorna svojstva: miris, konzistencija i ukus ocenjeni kao „neprihvatljivi“. U okviru senzornih ispitivanja proizvoda, ocenjivana su senzorska svojstva: miris, boja, konzistencija i ukus. Srednje vrednosti ocena su prikazane na **grafikonu 4**.



**Grafikon 4. Sensorska ocena tokom ispitivanja održivosti**

Na osnovu analiza, može se videti da kobilje mleko ima visok mikrobiološki kvalitet, povoljan hemijski sastav i dobru održivost prvih pet dana, što ga čini potencijalnim proizvodom u kategoriji funkcionalne hrane. Takođe, na osnovu ispitanih parametara, održivost mleka je 5 (pet) dana, pri temperature fižidera od +4°C. Nakon toga mleko se može liofilizovati i koristiti kao dodatak ishrani ljudi.

Zahvaljujući novom tehnološkom postupku (proces liofilizacije), dobijeni proizvod (liofilizat kobiljeg mleka), istog je kvaliteta koji odgovara svežem proizvodu (sveže kobilje mleko), sa svim hemijskim i masnokiselinskim svojstvima i očuvanim senzornim i mikrobiološkim karakteristikama. Nutritivna vrednost dobijenog proizvoda prikazano je u tabeli 4. Dobijeni proizvod može se rastvoriti u malo vode i koristiti kao dodatak u ishrani ljudi.

**Tabela 4. Nutritivna vrednost liofilizata kobiljeg melka**

Nutrijent	100g
Energetska vrednost, kcal	43.48
Proteini, g	0.42
Masti, g	0.22
Ugljeni hidrati, g	0.002
Zasićene masne kiseline, g	0.12
So	0.006

## **11. Tehnička dokumentacija**

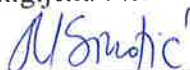
U prilogu dostavljamo sledeću tehničku dokumentaciju:

1. Spisak korišćene literature
2. Lista ranije prihvaćenih tehničkih rešenja za svakog autora pojedinačno
3. Ugovor o poslovnoj saradnji u oblasti uvođenja novog tehnološkog postupka u proizvodni pogon (fotokopija). Ugovor su zaključili MLEKARA M&O DOO, LAJKOVAC, Beogradski put bb, Lajkovac i Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Srbija.
4. Dokaz o komercijalizaciji tehničkog rešenja

**Podnosioci prijave za ocenu tehničkog rešenja (autori tehničkog rešenja):**



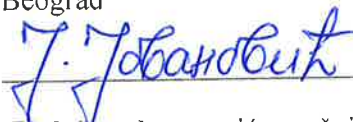
Dr Aleksandra Nikolić, naučni saradnik, Institut  
za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd



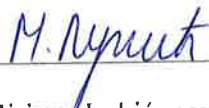
Dr Milijana Sinđić, naučni saradnik, Fakultet  
veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu,  
Beograd.



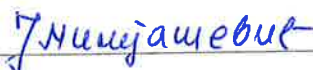
Dr Spomenka Đurić, docent, Fakultet  
veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu,  
Beograd



Dr Jelena Jovanović, naučni saradnik, Institut  
za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd



Dr Mirjana Lukić, naučni saradnik, Institut  
za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd



Dr Jelena Babić Milijašević, viši naučni  
saradnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa,  
Beograd



Dr Milan Milijašević, viši naučni saradnik,  
Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

Beograd, 05.12.2024. godine

## PRILOG 1 - Spisak korišćene literaure

Abdel-Salam, A. M., Al-Dekheil, A., Babkr, A., Farahna, M., Mousa, H. M. (2010). High fiber probiotic fermented mare's milk reduces the toxic effects of mercury in rats. *North American Journal of Medical Sciences*, 2(12), 569.

Barreto, Í. M. L. G., Rangel, A. H. D. N., Urbano, S. A., Bezerra, J. D. S., Oliveira, C. A. D. A. (2019). Equine milk and its potential use in the human diet. *Food science and technology*, 39, 1-7.

Barreto, Í. M., Urbano, S. A., Oliveira, C. A., Macêdo, C. S., Borba, L. H., Chags, B. M., Rangel, A. H. (2020). Chemical composition and lipid profile of mare colostrum and milk of the quarter horse breed. *PLoS One*, 15(9), e0238921.

Carić, M., Milanović, S., Vucelja, D. (2000). Standardne metode analize mleka i mlečnih proizvoda. "Prometej" Novi Sad, 47.

Christie, W. W., Sébédio, J. L. & Juanéda, P. (2001). A practical guide to the analysis of Conjugated linoleic acid (CLA). *Inform*, 12, 147–152.

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.

Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D., Ryhanen, E-L. (2006). Review: Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects, *International Dairy Journal*, 16, 1347–136.

Czyżak-Runowska, G., Wójtowski, J., Niewiadomska, A., Markiewicz-Keszyccka, M. (2018). Quality of fresh and stored mares' milk. *Mljekarstvo: časopis za unapređenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 68(2), 108-115.

Dankow R., Pikul J., Osten-Sacken N., Treichert J. (2012): Characteristics and salubrious properties of mare milk. *Nauka Przyroda Technologie*, 6, 1–12.

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*, 49, 201-206.

Doreau, M., Martuzzi, F. (2006). Milk yield of nursing and dairy mares. *Nutrition and feeding of the broodmare*, 57-64.

Elene P. Nardi, Fabio S. Evangelista, Luciano Tormen, Tatiana D. SaintPierre, Adilson J. Curtius, Samuel S. de Souza, Fernando Barbosa Jr., The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples, *Food Chemistry* 112 (2009) 727-732.

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.

Fessas, D., Iametti, S., Schiraldi, A., Bonomi, F. (2001). Thermal unfolding of monomeric and dimeric  $\beta$ -lactoglobulins. *European Journal of Biochemistry*, 268(20), 5439-5448.

- Gaucheron F. (2005). The minerals of milk. *Reproduction Nutrition Development*, 45, 473-483.
- Gregić, M., Mijić, P., Baban, M., Aladrović, J., Pađen, L., Gantner, V., Bobić, T. (2022). Changes in the fatty acid composition of milk of Lipizzaner mares during the lactation period. *Metabolites*, 12(6), 506.
- Jastrzębska, E., Wadas, E., Daszkiewicz, T., PIETRZAK-FIEĆKO, E. (2017). Nutritional value and health-promoting properties of mare's milk-a review. *Czech Journal of Animal Science*, 62(12).
- Kulisa M., Makiela K., Hofman J. (2010): Somatic cell content of mare's milk as related to breed, age, lactation number and month of lactation. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 37, 131–135.
- Martuzzi, F., Franceschi, P., Formaggioni, P. (2024). Fermented Mare Milk and Its Microorganisms for Human Consumption and Health. *Foods*, 13(3), 493.
- Mirowski A., Didkowska A. (2015): Colostrum and mare's milk. Part II. Milk – chemical composition and importance in foal nutrition. *Zycie Weterynaryjne*, 90, 38–40.
- Musaev, A., Sadykova, S., Anambayeva, A., Saizhanova, M., Balkanay, G., Kolbaev, M. (2021). Mare's milk: composition, properties, and application in medicine. *Archives of Razi Institute*, 76(4), 1125.
- Nikolić, A., Jovanović, J., Đorđević, V., Trbović, D., Sinđić, M., Babić Milijašević, J., Milićević, D. (2023). Influence of feed for horse nutrition on the chemical parameters and fatty acid composition of mare's milk. *Meat Technology*, 64(2), 422-426.
- Pecka, E., Dobrzański, Z., Zachwieja, A., Szulc, T., Czyż, K. (2012). Studies of composition and major protein level in milk and colostrum of mares. *Animal Science Journal*, 83(2), 162-168.
- Pieszka, M., Łuszczynski, J., Zamachowska, M., Augustyn, R., Długosz, B., Hędrzak, M. (2016). Is mare milk an appropriate food for people?—a review. *Annals of Animal Science*, 16(1), 33-51.
- Pietrzak-Fiećko, R., Tomczyński, R., Smoczyński, S. S. (2013). Effect of lactation period on the fatty acid composition in mares' milk from different breeds. *Archives Animal Breeding*, 56(1), 335-343.
- Pikul, J., Wójtowski, J. (2008): Fat and cholesterol content and fatty acid composition of mares' colostrums and milk during five lactation month. *Livestock Science* 113 (2-3), 285-290.
- Potočnik, K., Gantner, V., Kuterovac, K., Cividini, A. (2011). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 61(2), 107-113.
- Salamon R.V., Salamon S., Csapo-Kiss Z., Csapo J. (2009). Composition of mare's colostrum and milk I. Fat content, fatty acid composition and vitamin contents. *Acta Univ. Sapiientiae, Alimentaria*, 2: 119–131.
- Sandrine Millour, Laurent Noel, Ali Kadar, Rachida Chekri, Christelle Vastel, Thierry Guerin, Simultaneous analysis of 21 elements in foodstuffs by ICP-MS after closed-vessel microwave digestion: Method validation, *Journal of Food Composition and Analysis* 24 (2011) 111-120.

SRPS EN ISO 11290-1:2017 (2017). Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i *Listeria spp.* – Deo 1: Metoda otkrivanja, Evropski standard.

SRPS ISO 15213:2011 (2011) - Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje broja sulfitoredujućih bakterija koje rastu pod anaerobnim uslovima, Međunarodni standard.

SRPS ISO 15214:1998 (1998) - Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees C, International Standard.

SRPS ISO 16649-2:2008 (2008) – Horizontalna metoda za određivanje broja  $\beta$ -glukuronidaza pozitivne *Escherichia coli* Deo 2: Tehnika brojanja kolonija na 44 °C pomoću 5-bromo-4-hloro-3 indolil- $\beta$ -D- glukuronida, Međunarodni standard.

SRPS ISO 19662:2020, (2020). Млеко - Одређивање садржаја масти – Ацидобутирометријска метода (метода по Герберу), Међународна организација.

SRPS ISO 21528-2:2017 (2017) – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*, Part 2: Colony-count technique, International Standard.

SRPS ISO 22662:2013, (2013). Milk and milk products — Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (Reference method), International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

SRPS ISO 3972:2016 (2016) - Senzorske analize – Metodologija – Metoda utvrđivanja osetljivosti čula ukusa, Međunarodni standard.

SRPS ISO 5496:2014/A1:2021 (2021) -. Senzorske analize — Metodologija — Upućivanje i obučavanje ocenjivača za otkrivanje i prepoznavanje mirisa, Međunarodni standard.

SRPS ISO 6579-1:2017 (2017) – Mikrobiologija lanca hrane - Horizontalna metoda za otkrivanje, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella spp.* - Deo 1: Otkrivanje *Salmonella spp.*, Evropski standard.

SRPS ISO 6658:2018 (2018) – Sensory analysis – Methodology – General guidance, International Standard.

SRPS ISO 6731:2013, (2013), Mleko, pavlaka i kondenzovano mleko — Određivanje ukupne suve materije (referentna metoda), Međunarodna organizacija.

SRPS ISO 8968-1:2016, (2016). Mleko - Određivanje sadržaja azota - Deo 1: Metoda po Kjeldalu, Evropski standard.

SRPS EN ISO 4120:2012 (2012) – Sensory analysis – Methodology – Triangle test, European Norm.

SRPS EN ISO 4833-1:2014/A1: 2022 (2022) – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique – Amendment 1: Clarification of scope, European Norm.

SRPS EN ISO 6888-1:2009 (2009) - Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje broja koagulaza pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste) Deo 1: Tehnika upotrebom agara po Baird Parkeru, Evropski standard.

Stuparu, A. A., Strugariu, C. E., OROIAN, T. (2016). Pharmaceuticals and dietary supplements extracted from mare's milk. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies*, 73(1).

Włodarczyk-Szydłowska, A., Gniazdowski, A., Gniazdowski, M., Nowacki, W. (2005). Lactation of mare and behaviorism of foal (in Polish). *Życie Wet.*, 80, 548–551.

**PRILOG 2 – SPISAK RANIJE PRIHVAĆENIH TEHNIČKIH REŠENJA ZA SVAKOG AUTORA POJEDINAČNO:**

Dr Jelena Jovanović, naučni saradnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

- Petronijević R., Lukić M., **Jovanović J.**, Parunović N., Trbović D., Karabasil N., Ćirić J. (2020). „Brza metoda za određivanje dodate boje u fino usitnjenim barenim kobasicama na osnovu merenja boje preseka u CIE L\*A\*B\* sistemu“. Tehničko rešenje: kategorija – Novo tehničko rešenje primenjeno na međunarodnom nivou.
- Korićanac V., Lilić S., Janković V., Petronijević R., **Jovanović J.**, Mitrović R., Nikolić D. (). Ćufte u paradajz sosu – pripremljeno jelo od mesa sa smanjenim sadržajem natrijum hlorida. Tehničko rešenje: kategorija – Bitno poboljšano tehničko rešenje na nacionalnom nivou.
- Borović B., Lilić S., Babić Milijašević J., Lukić M., Baltić T., Parunović N, **Jovanović J.** (2020). „Pileći ćevapčići sa smanjenim sadržajem natrijum hlorida“. Tehničko rešenje: kategorija – Bitno poboljšano tehničko rešenje na nacionalnom nivou.

Dr Mirjana Lukić, naučni saradnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

- Lilić S., Branković Lazić I., Vranić D., **Lukić M.**, Janković S., Lakićević B., Milijašević M. (2017). „Suvo svinjsko meso sa smanjenim sadržajem natrijuma“. Tehničko rešenje: kategorija – Bitno poboljšano tehničko rešenje na nacionalnom nivou.
- Petronijević R., **Lukić M.**, Jovanović J., Parunović N., Trbović D., Karabasil N., Ćirić J. (2020). „Brza metoda za određivanje dodate boje u fino usitnjenim barenim kobasicama na osnovu merenja boje preseka u CIE L\*A\*B\* sistemu“. Tehničko rešenje: kategorija – Novo tehničko rešenje primenjeno na međunarodnom nivou.
- Milijašević M., Branković Lazić I., Babić Milijašević J., Rašeta M., Petronijević R., **Lukić M.**, Baltić B. (2020) . „Tunino salama od fileta tune“. Tehničko rešenje: kategorija – Novo tehničko rešenje primenjeno na međunarodnom nivou.
- Borović B., Lilić S., Babić Milijašević J., **Lukić M.**, Baltić T., Parunović N., Jovanović J. (2020). „Pileći ćevapčići sa smanjenim sadržajem natrijum hlorida“. Tehničko rešenje: kategorija – Bitno poboljšano tehničko rešenje na nacionalnom nivou.

- Simunović S., Knežević D., Simunović S., Milojević L., Jovanović J., **Lukić M.**, Janković S. (2023). „Određivanje mikotoksina primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije sa masenom detekcijom (HPLC-MS/MS)”. Tehničko rešenje: kategorija – Novo tehničko rešenje primenjeno na međunarodnom nivou.

Dr Jelena Babić Milijašević, viši naučni saradnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

- Milijašević M., Branković Lazić I., **Babić Milijašević J.**, Rašeta M., Petronijević R., Lukić M., Baltić B. (2020) . Tunino salama od fileta tune. M81 (2020)
- Borović B., Lilić S., **Babić Milijašević J.**, Lukić M., Baltić T., Parunović N., Jovanović J. Pileći ćevapčići sa smanjenim sadržajem natrijum hlorida. M84 (2020)
- Borović B., Lilić S., **Babić Milijašević J.**, Branković Lazić I., Milijašević M., Baltić T., Mitrović R. Posebna kobasica - fino usitnjena barena kobasica sa smanjenim sadržajem natrijum hlorida. M84 (2018).
- Đinović-Stojanović J, Janković S, Đorđević V, **Babić Milijašević J**, Spirić D, Nastasijević I, Parunović N. Određivanje piretroida primenom gasne hromatografije M81 (2018)
- Memiši N, Vesković S, Đukić D, Kurćubić V, **Babić J**, Milijašević M, Mašković P, Kureljušić J, Kureljušić B. Sveži sir sa 0 % mlečne masti M82 (2018)
- Lilić S., Branković Lazić I., Rašeta M., Borović B., Velebit B., **Babić J.**, Stefanović S. Fermentisana suva kobasica sa smanjenim sadržajem natrijuma. M84 (2017).

Dr Milan Milijašević, viši naučni saradnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

- Đinović-Stojanović, J., Janković, S., Đorđević, V., Stefanović, S., **Milijašević, M.**, Baltić, T., Petrović, Z. (2019). Određivanje policikličnih aromatičnih ugljovodonika primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije (HPLC). M81
- Memiši, N., Vesković, S., Đukić, D., Kurćubić, V., Babić, J., **Milijašević, M.**, Mašković, P., Kureljušić, J., Kureljušić, B. Sveži sir sa 0 % mlečne masti. M82

- Nastasijević, I., Đorđević, V., Parunović, N., Velebit, B., Petrović, Z., Petronijević, R., Milićević, D., Stefanović, S., Baltić, T., Trbović, D., Janković, S., **Milijašević, M.**, Teodorović, V., Karabasil, N., Dimitrijević, M., Mirilović, M. (2016). Novi pristup kontroli tehnološkog procesa barenih proizvoda od mesa. M84
- Lilić, S., Branković Lazić, I., Vranić, D., Đorđević, V., Janković, S., Lakićević, B., **Milijašević, M.** (2017). Suvo svinjsko meso sa smanjenim sadržajem natrijuma. M84
- **Milijašević, M.**, Branković, I., Babić Milijašević, J., Rašeta, M., Petronijević, R., Lukić, M., Baltić, B. (2020). Tunino salama od fileta tune. M81
- **Milan Milijašević**, Jelena Babić Milijašević, Vesna Đorđević, Jasna Đinović-Stojanović, Ivana Branković Lazić, Zoran Petrović, Mirjana Lukić. (2024). Кобасица од меса рибе у типу конзерве од меса у комадима - тунино стишњени филети туне. M82
- Borović, B., Lilić, S., Babić Milijašević, J., Branković Lazić, I., **Milijašević, M.**, Baltić, T., Mitrović, R. (2019). Posebna kobasica – fino usitnjena barena kobasica sa smanjenim sadržajem natrijuma hlorida. M84

## PRILOG 3 – Ugovor o poslovnoj saradnji

### УГОВОР о пословној сарадњи у области увођења новог технолошког поступка у производни погон

ИНСТИТУТ ЗА ХИГИЈЕНУ  
И ТЕХНОЛОГИЈУ МЕСА  
Бр. 3755  
30.08. 2014 год.  
БЕОГРАД

закључују:

1. Млекар М&О, ДОО, Лајковац, (у даљем тексту: Наручилац), који заступа директор Обрад Бабић
- и
2. Институт за хигијену и технологију меса, Београд, Каћанског 13 (у даљем тексту: Извршилац), који заступа директор др Весна Ђорђевић.

#### Члан 1.

Предмет овог уговора је увођење новог технолошког поступка у производни погон: „Поступак за добијање лиофилизата од кобињег млека“, чија су аутори: др Александра Николић, Милијана Синђић, Споменка Ђурић, Јелена Јовановић, Мирјана Лукић, Јелена Бабић Милијашевић, Милан Милијашевић.

#### Члан 2.

Овим уговором уговорне стране регулишу права и обавезе везане за увођење у производњу и комерцијализацију новог технолошког поступка из чл.1. Уговора.

#### Члан 3.

Извршилац се обавезује да ће за потребе Наручиоца у производни погон Наручиоца увести нови технолошки поступак из чл.1. Уговора.

#### Члан 4.

Уговорне стране се обавезују на трајно чување тајности информација и података који им буду доступни у вези извршења овог уговора, те ће, у супротном, сносити сву директну и индиректну штету, која настане другој уговорној страни.

#### Члан 5.

На име накнаде за увођење новог технолошког поступка из члана 2 овог Уговора, Наручилац ће, након што Извршилац уведе у производњу, платити износ од 300 еура.

#### Члан 6.

Овај уговор се закључује на одређено време у трајању од 2 месеца у ком року ће Извршилац увести поступак у производни процес Наручиоца.

#### Члан 7.

Уговорне стране могу раскинути уговор, у писаној форми, и то споразумно или откидом у случају неиспуњавања уговорених обавеза.

Отказни рок је 30 (тридесет) дана и почиње теги даном предаје препоручено поштом.

**Члан 8.**

У случају спора о правима и обавезама из овог уговора, који се не реши споразумно, надлежан је суд у Београду.

**Члан 9.**

Овај уговор закључен је у четири (4) истоветна примерка и то по два (2) за сваку уговорну страну.

Број:  
Датум:

За Наручиоца:  
Директор  
Др Весна Борданић  
Научни савјетник



Број:  
Датум: 29.08.2024.

За Наручиоца:  
Директор  
Обрал Бабић



## PRILOG 4- Potvrda (Dokaz o komercijalizaciji tehničkog rešenja)



Млекара М&О ДОО  
14124 Лајковци, Београдски пут бб, Тел: 014/3433-304  
mlo@kovic@gmail.com  
ПИБ: 110544948  
Мат.број: 21361267  
Рачун број: 160-600000071821-23, Intesa банка, Лајковац  
Делатност: Прерада млека и производња сирева

### ПОТВРДА

Кајом, у име предузећа Млекара М&О ДОО, Београдски пут бб, потврђујем да у редовној производњи користи нови технолошки поступак који је произашао из техничког решења: „Поступак за добијање лиофилизата од кобиљег млека“.

У Лајковцу,  
29.08.2024.год.

За Млекара М&О ДОО

Директор

Обрад Бабић

