

О. Й. Цісарик, Л. Я. Мусій

ЛІПІДИ МОЛОКА:

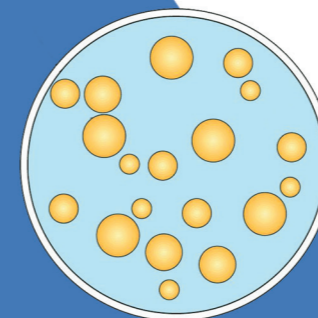
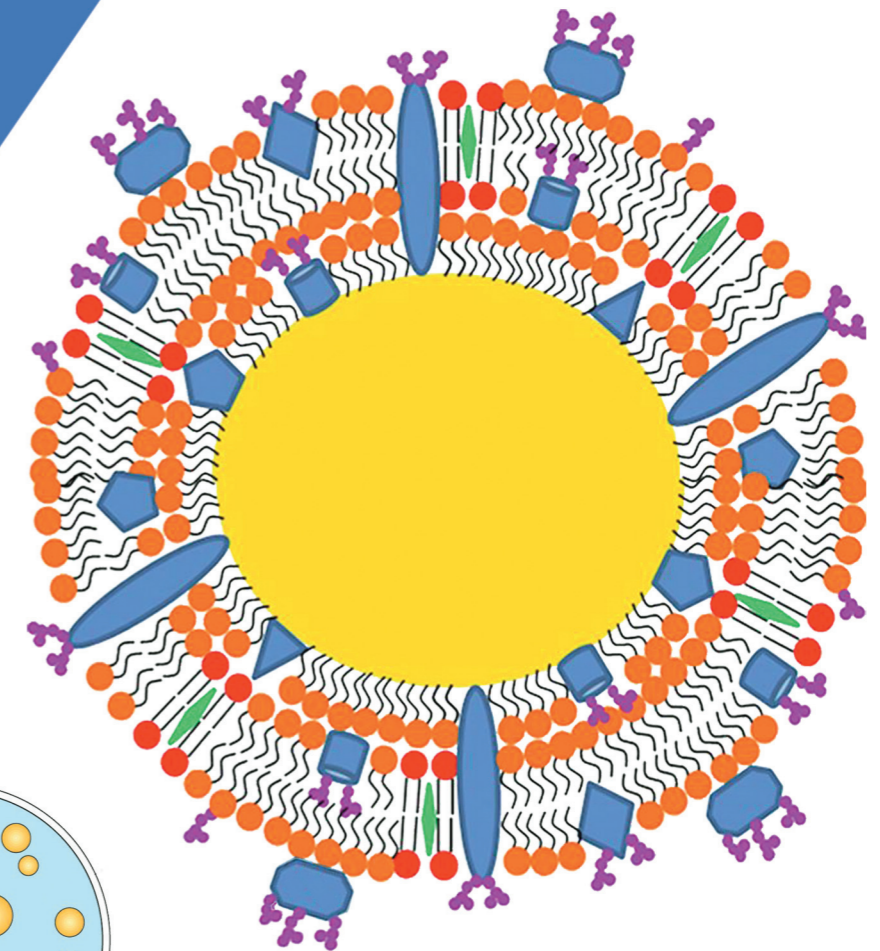
попередники, синтез, властивості



ISBN: 978-617-574-234-1



9 786175 742341



МОНОГРАФІЯ

О. Й. ЦСАРИК, Л. Я. МУСІЙ

**ЛІПДИ МОЛОКА:
ПОПЕРЕДНИКИ, СИНТЕЗ, ВЛАСТИВОСТІ**

МОНОГРАФІЯ

Видавництво "Магнолія"

Львів- 2022

УДК 664:637.14

Ц 290

Рекомендовано до друку Вченою радою Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького Міністерства освіти і науки України (протокол № 4 від 28 червня 2022 р.)

Рецензенти:

С. І. Цехмістрено, доктор сільськогосподарських наук, професор

В. Г. Юкало, доктор біологічних наук, професор

І. В. Вудмаска, доктор сільськогосподарських наук, професор

Ц 290 **Ліпіди молока: попередники, синтез, властивості** : монографія / О.Й. Цісарик ., Л. Я. Мусій .– Львів : ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького, "Магнолія 2006", 2022. – 296 с.

ISBN 978-617-574-234-1

Монографія висвітлює процеси утворення попередників молочних ліпідів, детально розглядає предстанники ліпідів молока, чинники впливу на їх жирнокислотний склад та його моделювання, а також розглядає компоненти ліпідів молока з функціональними властивостями. Проаналізовано велику кількість літературних джерел та представлено результати власних досліджень.

Видання буде корисним для науковців, аспірантів та студентів спеціальності «Харчові технології», а також для біохіміків, які працюють у цій галузі.

УДК 664:637.14

ISBN 978-617-574-234-1

© О. Цісарик, Л. Мусій, 2022

© "Магнолія 2006", 2022

ЗМІСТ

Список умовних скорочень	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. УТВОРЕННЯ ПОПЕРЕДНИКІВ МОЛОЧНИХ ЛІПІДІВ	9
1.1. Утворення летких жирних кислот у рубці	9
1.2. Коротка історія використання ліпідів в годівлі корів	12
1.3. Ліпіди вмісту рубця	14
1.3.1. Рослинні ліпіди	14
1.3.2. Ліпіди бактерій рубця	16
1.3.3. Ліпіди найпростіших	18
1.4. Метаболізм ліпідів у рубці	18
1.4.1. Ліполіз	19
1.4.2. Фактори впливу на швидкість ліполізу	21
1.4.3. Інгібування рубцевих бактерій поліненасиченими жирними кислотами	22
1.4.4. Біогідрогенування ненасичених жирних кислот рубцевою мікрофлорою	29
1.4.5. Вплив факторів на інтенсивність процесів біогідрогенування	33
1.4.6. Утворення транс-ізомерів під час біогідрогенування	38
1.4.7. Молочножирова депресія. Вплив чинників на утворення різних позиційних транс-ізомерів	44
1.4.8. Вплив довголанцюгових жирних кислот на утворення метану	55
1.5. Баланс ліпідів, що проходять через рубець	56
1.6. Регулювання дуоденального потоку ненасичених жирних кислот	56
1.7. Технології захисту ненасичених жирних кислот	58
1.8. Перетравлення жирних кислот в тонкому кишечнику	63
Література до розділу 1	67
РОЗДІЛ 2. ЛІПІДИ МОЛОКА	92
2.1. Коротка історія досліджень ліпідів молока	92
2.2. Класифікація молочних ліпідів	94
2.3. Триацилгліцероли молочних ліпідів	95
2.3.1. Структура триацилгліцеролів	95
2.3.2. Фізичні властивості триацилгліцеролів	98
2.4. Фосфоліпіди і гліколіпіди	101
2.5. Стероли	107
2.6. Жирні кислоти	108
2.7. Жиророзчинні вітаміни	117
2.8. Синтез молочних ліпідів	118

2.8.1. Синтез жирних кислот	126
2.8.2. Регуляція синтезу жирних кислот	134
2.8.3. Біосинтез триацилгліцеролів і головних фосфоліпідів	136
2.9. Жирові кульки та їх мембрани	138
2.9.1. Склад і структура мембран жирових кульок	138
2.9.2. Розмір жирових кульок	146
2.9.3. Фактори стабільності жирової емульсії	148
2.9.4. Перетравлення молочного жиру	149
2.10. Екзосоми	151
Література до розділу 2	153
РОЗДІЛ 3. ФАКТОРИ ВПЛИВУ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МОЛОЧНИХ ЛІПІДІВ ТА ЙОГО МОДЕЛЮВАННЯ	175
3.1. Вплив чинників на жирнокислотний склад молочного жиру	175
3.1.1. Вплив генетичних чинників	175
3.1.2. Вплив стадії лактації	178
3.2. Напрями моделювання жирнокислотного складу молочних ліпідів	179
3.3. Моделювання жирнокислотної композиції за допомогою годівельних факторів	180
3.3.1. Жирнокислотний склад залежно від системи годівлі	181
3.3.2. Вплив вмісту жиру в раціонах на жирнокислотний склад	182
3.3.3. Вплив жирнокислотного складу кормових ліпідів на вміст жирних кислот у молочному жирі	183
3.3.4. Вплив різних форм жирових добавок на жирнокислотний склад молочних ліпідів	184
3.4. Шляхи підвищення рубцевої кислоти у складі молочного жиру	192
3.5. Вплив згодовування насіння ріпаку на жирнокислотний склад молочних ліпідів	202
3.6. Вплив захисту поліненасичених жирних кислот від рубцевого біогідрогенування на склад жирних кислот молочних ліпідів	214
Література до розділу 3	218
РОЗДІЛ 4. КОМПОНЕНТИ ЛІПІДІВ МОЛОКА З ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ	234
4.1. Вплив молочних ліпідів на здоров'я людини	234
4.1.1. Вплив споживання середньоланцюгових жирних кислот	236
4.1.2. Вплив транс-ізомерів жирних кислот молочного жиру	237
4.2. Джерела і фізіологічна роль рубцевої кислоти	241
4.2.1. Джерела рубцевої кислоти	242

4.2.2. <i>Фізіологічна роль рубцевої кислоти</i>	243
4.2.3. <i>Забезпечення рубцевою кислотою</i>	250
4.2.4. <i>Засвоюваність і модифікація вмісту рубцевої кислоти в тканинах людини</i>	258
4.3. <i>Фізіологічна роль масляної кислоти</i>	259
4.4. <i>Роль розгалужених і непарних жирних кислот для здоров'я</i>	260
4.5. <i>Біологічна роль компонентів мембран жирових кульок</i>	261
Література до розділу 4	270

Список умовних скорочень

13-МТДК – 13-метилтетрадеканова кислота
АПБ – ацилпереносний білок
ВК – вакценова кислота, транс-11 С18:1
КЛК – кон'югована лінолева кислота
ЛЖК – леткі жирні кислоти
МЖД – молочножирова депресія
МЖК – мембрани жирових кульок
НЕЖК – неестерифіковані жирні кислоти
ПЕШ – подвійний електричний шар
ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти
РК – рубцева кислота, цис-9, транс-11 С18:2
СР – суха речовина
ТАГ – триацилгліцероли
АСВР – ацил-СоА зв'язуючий протеїн
АРА – арахідонова кислота
ВТН – бутирофілін
СОХ-2 – циклооксигеназа
сPLA2 – цитоплазматична фосфоліпаза А2
DGAT1 – диацилгліцерол О-ацилтрансфераза
FABP – зв'язуючий жирні кислоти протеїн
FAOP – продукти окиснення жирних кислот
FASN – синтаза жирних кислот
GPAT – гліцеролфосфатидилтрансфераза
IL-10 – інтерлейкін-10
iPLA2 – кальцій-незалежна фосфоліпаза А2
PG – простагландини
PPAR – ядерні рецептори, що активуються пероксисомальними проліфераторами
SCD – стеароїл-СоА десатураза
SREBF1 – стерол регуляторний елемент-зв'язуючий фактор транскрипції
TNF α – фактор некрозу пухлин

ВСТУП

Здорове харчування, як одна із найважливіших складових здорового способу життя, входить у свідомість щораз більшого кола людей, що охоплює не тільки науковців і спеціалістів у галузі медицини, але й виробництва харчових продуктів чи їх створення.

Створення їжі для здоров'я передбачає різні підходи: додавання різних інгредієнтів із певною біологічною активністю, усунення компонентів, що можуть здійснювати шкідливу дію, здійснення технологічних операцій, що підсилюють вміст чи дію компонентів з корисними властивостями. Однак, є натуральні продукти, які наділені властивостями, що забезпечують організм людини усім необхідним – поживними і біологічно активними компонентами у найкритичніший період розвитку після народження і в перші місяці життя. Таким продуктом є молоко. Звичайно, що ідеальним для кожного виду ссавців є молоко відповідного виду. Людина після завершення періоду грудного вигодовування вживає молоко сільськогосподарських тварин, насамперед, корів. Коров'яче молоко є основною сировиною для виробництва молочних продуктів великого асортименту. За складом і властивостями молоко корів відрізняється від жіночого молока, однак, є багато спільного, а деякі компоненти наділені додатковими корисними властивостями як, наприклад, певні жирні кислоти молочного жиру.

Довгий час, аналізуючи корисні властивості коров'ячого молока, основна увага зосереджувалась на його білках, вітамінах, мінеральних речовинах, насамперед, високому вмісту кальцію. Натомість, молочному жиру приділялась увага, в основному, як компоненту із шкідливими властивостями через високий вміст холестеролу, а також насичених жирних кислот, зокрема, середньоланцюгових. Ситуація щодо шкідливості молочних ліпідів істотно змінилась в останні десятиріччя, поштовхом до цього послугували відкриття Парізи і колег в 90-х роках минулого століття унікальних властивостей мінорних компонентів молочних ліпідів, а саме кон'югованої лінолевої кислоти (цис-9, транс-11 C18:2), яка проявляє різноманітні оздоровчі властивості. Велику роль у дослідженнях молочних ліпідів також зіграли можливості інструментальних досліджень, які на зламі століть пережили революційну модернізацію. Це забезпечило можливість дослідження компонентів, які є в дуже малих, а то й у слідових концентраціях.

Цікавим і важливим об'єктом досліджень в останні роки стали й сотні компонентів оболонки жирових кульок, які наділені цінними біологічними властивостями. Крім того, оболонки жирових кульок проявляють важливі біологічні ефекти і на структурному рівні.

Ліпіди молока відіграють велику роль як суто з практичної точки зору, так і з біологічної. Молочний жир є головним енергетичним компонентом молока і молочних продуктів, він вирізняється найприємнішим з-посеред усіх природних жирів смаком і ароматом, забезпечує структуру і консистенцію молочних продуктів і гарний колір. З біологічної точки зору молочний жир містить сотні компонентів, наділених певними фізіологічними функціями, що проявляється на різних рівнях – як організму в цілому, так і на клітинно-молекулярному.

Зусилля науковців сьогодні спрямовані як на розшифрування біологічної активності компонентів молочних ліпідів, так і на шляхах підвищення цих компонентів у молоці-сировині і в молочних продуктах. Мова йде про природний шлях підвищення цих компонентів – підбір відповідних кормів у годівлі корів, а також технологічні прийоми при виробництві молочних продуктів, як от склад заквашувальних препаратів із молочнокислими культурами, здатними перетворювати чи навіть синтезувати певні сполуки.

Монографія висвітлює процеси утворення попередників молочних ліпідів, детально розглядає представники ліпідів молока, чинники впливу на їх жирнокислотний склад та його моделювання, а також розглядає компоненти ліпідів молока з функціональними властивостями. Проаналізовано велику кількість літературних джерел та представлено результати власних досліджень

РОЗДІЛ 1

УТВОРЕННЯ ПОПЕРЕДНИКІВ МОЛОЧНИХ ЛІПІДІВ

Основними складовими ліпідів молока є жирні кислоти, які за походженням поділяються на дві групи: синтезовані *de novo* у тканині молочної залози та поглинуті із крові. Перша група – це коротколанцюгові і частково середньоланцюгові жирні кислоти, вони утворюються із попередників, якими є леткі жирні кислоти (ЛЖК), утворені в рубці при ферментації органічних сполук кормів. Друга група – це частина середньоланцюгових та довголанцюгові жирні кислоти гуморального походження, які, в основному, вивільняються із ліпідів кормів у рубці, де піддаються певним трансформаціям. Незначна частина жирних кислот другої групи за певних метаболічних ситуацій організму мобілізується із жирових депо.

1.1. Утворення летких жирних кислот у рубці

Леткі жирні кислоти утворюються в рубці мікроорганізмами рубця, які продукують ензими, що розщеплюють поживні речовини кормів, в основному вуглеводи. Головними представниками мікробної популяції рубця є анаеробні бактерії, їх кількість сягає 10^{10} /мл рубцевої рідини, кількість найпростіших становить 10^7 /мл, а анаеробних грибів – 10^6 /мл (Vuccioni et al., 2012).

Серед бактерій виявлено приблизно 200 видів, які беруть участь у процесах травлення. Бактерії рубця представлені грампозитивними коками (*Streptococcus bovis*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* та ін); грамнегативними коками (*Megasphaera elsdenii*); грампозитивними паличками (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus vitulinus*, *Eubacterium ruminantium*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Bifidobacterium thermophilum*); грамнегативними паличками (*Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica*, *Succinomonas amylolytica*, *Succinovibrio dextrinosolvens*) (Hobson & Stewart, 1997).

Залежно від здатності розщеплювати вуглеводи бактерії рубця поділяються на три групи: здатні розщеплювати структурні вуглеводи; здатні розщеплювати структурні вуглеводи і цукри; здатні розщеплювати цукри. Бактерії двох останніх груп розглядаються як вторинні ферментери, тобто вони використовують цукри, які утворилися в результаті розщеплення складних вуглеводів первинними ферментерами (Янович & Сологуб, 2000).

Бактерії розщеплюють наявні в кормах складні вуглеводи, в тому числі структурні вуглеводи клітинних стінок рослин (целюлозу, геміцелюлози,

пектинові сполуки). Розщеплення полісахаридів у рубці каталізується ензимами мікроорганізмів, у результаті чого утворюються оліго- і моносахариди (при розщепленні крохмалю, целюлози, геміцелюзи) і уронові кислоти (при розщепленні пектинів), які мікроорганізми використовують в енергетичних процесах. Наприклад, крохмаль і целюлоза розщеплюються до глюкози. Моносахариди використовуються у процесах ферментації (бродиння), за рахунок енергії синтезованого АТФ забезпечується ріст і розмноження мікроорганізмів, а утворений піруват є попередником коротколанцюгових жирних кислот, які є основним джерелом метаболічної енергії в тканинах тварин. Дві пари водню, що звільняються в результаті перетворення гексоз у піруват, забезпечують відновлення NAD у NADH, який є джерелом протонів і електронів для реакцій відновлення при утворенні метану, відновленні пірувату у лактат, а також біогідрогенування поліненасичених жирних кислот. У середньому в рідині рубця утворюється 65, 20 і 15% оцтової, пропіонової і масляної кислот, кількість яких становить приблизно біля 95% загальної кількості коротколанцюгових жирних кислот (Янович & Сологуб, 2000). Кислоти ізомасляна, валеріанова, ізовалеріанова та 2-метилмасляна утворюються в значно менших кількостях (Dijkstra, 1994). Крім цих кислот утворюються лактат, сукцинат, форміат, етанол та ін. (Dijkstra, 1994).

Наприклад, ацетат у кількостях понад 1 мекв/100 мл рідини продукують бактерії *Ruminococcus albus*, *Veillonella alcalescens*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Anaerovibrio lipolytica*, *Clostridium clostridiiforme*, *Bacteroides ruminicola*. Бутират у подібних кількостях утворюють *Megasphaera elsdenii*, *Fusobacterium*, а пропіонат – *Propionibacterium acnes*, *Selenomonas ruminantum*. Ізобутират, ізовалеріат у кількостях менше 1 мекв/100 мл рідини рубця продукує *Bacteroides ruminicola*, а *Megasphaera elsdenii* в подібних кількостях продукує валеріат та ізовалеріат. Ацетат, бутират, пропіонат, ізобутират, валеріат та ізовалеріат слугують попередниками для синтезу *de novo* жирних кислот в молочній залозі корів (Ogimoto & Imai, 1981). За добу в рубці корів утворюється 3-4 кг коротколанцюгових жирних кислот.

З однієї молекули глюкози утворюється по дві молекули оцтової і пропіонової кислот і по одній молекулі масляної кислоти. Перетворення піровиноградної кислоти в оцтову проходить через стадію ацетил-СоА або через стадію ацетилфосфату. Перетворення піровиноградної кислоти в пропіонову проходить через стадії утворення фосфоенолпіровиноградної, щавлевооцтової, яблучної, фумарової і янтарної кислот, або акриловим шляхом – через стадії утворення молочної кислоти, лактил-СоА, акрил-СоА, пропіоніл-СоА.

Перетворення піровиноградної кислоти у масляну також проходить двома шляхами. Першим шляхом дві молекули оцтової кислоти конденсуються за рахунок енергії АТФ. Другий шлях передбачає синтез ацетооцтової кислоти в реакції між ацетил-СоА і малоніл-СоА і відновлення її до масляної кислоти (Янович & Сологуб, 2000).

Інфузорії також продукують ЛЖК, наприклад, інфузорії роду *Epidinium* здатні перетворювати крохмаль у коротколанцюгові жирні кислоти, частка яких може доходити до 10% від їх загальної кількості у рідині рубця. Основними метаболітами при ферментації цукрів у голотріх є молочна, масляна і оцтова кислоти, а також незначна кількість мурашиної і пропіонової кислот (Янович & Сологуб, 2000).

Продукція окремих летких жирних кислот залежить від багатьох чинників, насамперед, від структури раціону і хімічного складу кормів, а також від ступеню деполімеризації субстратів, субстратних преференцій та ферментативної стратегії окремих видів мікроорганізмів, присутніх у рубці, що, в свою чергу, визначають значення рН в рубці і окисно-відновний потенціал (Tamminga & Van Vuuren, 1988).

Збільшення частки клітковини в раціоні призводить до підвищення продукції оцтової і масляної кислот, а збільшення частки крохмалю – до підвищення утворення пропіонової кислоти (Янович & Сологуб, 2000).

Марфі (Murphy, 1984) було проаналізовано вплив двох типів раціону (з високим вмістом грубих кормів – понад 60% і з часткою грубих кормів менше 40% на утворення окремих ЛЖК при ферментації п'яти субстратів – целюлози, геміцелюлози, протеїну, крохмалю і розчинних вуглеводів.

Встановлено, що на першому типі раціону при ферментації целюлози продукується оцтової, пропіонової, масляної і валеріанової кислот, в моль/моль субстрату 1,32; 0,17; 0,23 і 0,03, тоді як на другому – 1,58; 0,12; 0,06 і 0,09 відповідно. При ферментації протеїну на першому типі раціону утворюється оцтової, пропіонової, масляної і валеріанової кислот, в моль/моль субстрату 0,40; 0,13; 0,08 і 0,33 відповідно, подібні кількості утворюються і на другому типі раціону. Ферментація крохмалю на першому типі раціону спричиняє утворення оцтової, пропіонової, масляної і валеріанової кислот, в моль/моль субстрату 1,19; 0,28; 0,20 і 0,06, тоді як на другому – в півтора рази меншу кількість ацетату, вдвічі більшу – пропіонату і подібні кількості бутирату і валеріату. Найбільша кількість ацетату (1,38 моль/моль субстрату) утворюється на першому типі раціону при ферментації розчинних цукрів, при цьому утворюється велика кількість пропіонату (0,41 моль/моль субстрату), невелика – бутирату

(0,10 моль/моль субстрату) і не утворюється валеріат. Ферментація розчинних цукрів на другому типі раціону викликає продукцію значно меншої кількості ацетату (0,90 моль/моль субстрату) та більшої бутирату (0,30 моль/моль субстрату).

Постачання окремих ЛЖК істотно впливає на молочну продуктивність і склад молока (Thomas & Martin, 1988). Збільшене надходження оцтової кислоти сприяє підвищенню надоїв і вмісту жиру в молоці, подібно впливає і підвищене надходження масляної кислоти. При цьому збільшення надходження пропіонової кислоти негативно впливає на вміст жиру в молоці, але позитивно – на вміст білка в молоці. Ці результати пояснюють глюкогенну або кетогенну природу ЛЖК і перерозподіл їх ефектів через гормональні зміни. Напрямок цих змін були підтверджені у експериментах на коровах, які отримували раціони, що призвело до високого вмісту пропіонової кислоти та низьких пропорцій оцтової або масляної кислоти в рубці (Sutton, 1985).

1.2. Коротка історія використання ліпідів в годівлі корів

На вміст жиру в молоці і його склад великою мірою впливають годівельні чинники, зокрема вміст і склад кормових ліпідів (Murphy et al., 1990; Shingfield et al., 2006; Tsisaryk, 2004; Цісарик, 2009; Цісарик та ін., 2009, Цісарик, 2010а; б; Pirondind et al., 2015).

Концепція щодо використання ліпідів у годівлі дійних корів в історичному аспекті сягає кінця 19 століття, коли в 1894 році Вудом було повідомлено, що згодовування бавовняної, пальмової, оливкової і кокосової олії, а також кукурудзяного крохмалу і стеарину призводить до підвищення вмісту жиру в молоці. Однак, в наступні десятиліття увага дослідників була прикута до вуглеводної складової раціонів, оскільки було встановлено, що жир молока може синтезуватись із вуглеводів, також увага дослідників фокусувалась на ролі протеїну в раціонах. Ліпіди раціону розглядали як замінний енергетичний їх компонент. У 30-40-х роках минулого століття за результатами досліджень вчених з Корнелльського університету в США було показано, що якщо в раціонах частка ліпідів замінюється ізоенергетичною кількістю крохмалу, то надої молока знижуються. Також в цей період було показано, що якщо насіння олійних замінити олією, то знижується вміст жиру в молоці. Дослідники фокусували увагу також на композиції молочного жиру при згодовуванні ліпідних добавок. Публікації, датовані цими роками, свідчили, що згодовування насичених жирів викликає підвищення вмісту жиру в молоці, тоді як ненасичених – навпаки, і при цьому зростає йодне число молочних ліпідів, тобто

в них збільшується частка ненасичених жирних кислот. У 1945 році вченим Муром було встановлено, що ненасичені жирні кислоти гідрогенізуються перед їх всмоктуванням, однак великі їх кількості не можуть бути сприйняті коровами, що повністю узгоджується із сучасними результатами. Після другої світової війни, коли ціни на жири істотно знизились, зросла увага до використання їх у годівлі корів. Особливо багато використовували й, відповідно, досліджували згодовування насіння олійних – бавовни, сої, соняшника, ріпаку (Palmquist et Jenkins, 1986; Murphy et al., 1990; Reveneau et al., 2005; Tsisaryk, 2004, 2008; Цісарик та ін., 2009). Їх розглядали не тільки як джерело ліпідів, але й як джерело протеїнів (Palmquist & Jenkins, 2017).

Процеси рубцевої ферментації почали детально вивчатися в 60-70 рр. минулого століття, особлива увага зосереджувалась на біогідрогенізації ненасичених жирних кислот у рубці. У 1991 році Шінгоете і Каспер підсумували результати використання ліпідних добавок, які засвідчили, що згодовування екструдованого насіння сої і соняшника сприяє підвищенню молочної продуктивності, однак при цьому знижується вміст жиру в молоці, хоча його продукція зростає. Це зумовлено вивільненням вільної олії в результаті екструдування і негативним її впливом на рубцеву ферментацію. Однак, цільне або механічно подрібнене насіння сприятливо впливає як на молочну продуктивність, так і на вміст жиру в молоці. Дослідження щодо використання ліпідних добавок активно проводились і на початку нинішнього століття, чому присвячено багато праць і декілька оглядів. Велике зацікавлення дослідників викликали й викликають питання моделювання жирнокислотного складу ліпідів молока за допомогою ліпідних добавок для підвищення біологічної цінності молочного жиру (Цісарик, 2009, 2010 б; Palmquist & Jenkins, 2017).

Висока молочна продуктивність корів через обмеженість об'єму рубця не може бути забезпечена без використання високоенергетичних кормів, тобто ліпідних добавок. Крім того, ліпідні добавки здійснюють вплив на збільшення біоактивних жирних кислот родини n-3 і транс-11 ізомерів у складі молочних ліпідів, що надає їм оздоровчих властивостей, на чому сьогодні фокусується головна увага науковців. Тому важливо проаналізувати, як здійснюється метаболізм ліпідів у жуйних.

Використання в раціонах годівлі корів ліпідних добавок, в тому числі рослинних жирів, здійснює позитивний вплив на молочну продуктивність, інтенсивність росту, оплату корму, харчову і біологічну цінність молока та яловичини, що підтверджується результатами багатьох досліджень (Янович & Лагодюк, 1991; Янович & Сологуб, 2000, Цісарик, 2007, Цісарик, 2008, Цісарик,

2009, Цісарик та ін., 2009). Вплив ліпідних добавок пояснюється їхньою високою енергетичною цінністю, азотзберігаючою дією в органах і тканинах тварин та позитивним впливом на регуляцію і перебіг синтетичних і енергетичних процесів в організмі (Гарр и др., 1987; Vargo et al., 2003, Цісарик та ін., 2009).

Ліпідні добавки можуть бути різної природи – насіння олійних рослин, рослинні олії, морські водорості, тваринні жири. Найчастіше використовують повноскладове насіння олійних культур – бавовни, сої, соняшника, ріпаку та продукти його перероблення. В багатьох країнах світу, зокрема, й в Україні, важливою олійною рослиною є ріпак. Насіння ріпаку може стати важливим компонентом раціонів для корів – поповнити дефіцит енергії, повноцінного протеїну, біологічно активних речовин, забезпечити баланс між жирними кислотами n-9/n-6/n-3 родин (Цісарик, 2007, 2008, 2009; Tsisaryk, 2009; Цісарик та ін., 2009).

1.3. Ліпіди вмісту рубця

Аналіз вмісту ліпідів у окремих фракціях вмісту рубця показав, що біля 80% ліпідів міститься в частинках корму, близько 20% загальних ліпідів зв'язано з популяціями найпростіших (16%) і бактерій (4%), як в нейтральній формі, так і в формі фосфоліпідів, здійснюючи таким чином значний вклад в ліпідне забезпечення тварини-господаря (Harfoot, 1978). За даними Алієва (Алиев, 1980) приблизно 40% ліпідів міститься на частинках корму, 16% у найпростіших, 40% у бактеріях. Деякі автори приводять інші дані, зокрема, про те, що 11,7-18,8% (Листунов, 1971), 17-26% (Алиев, Куницев, 1973) ліпідів міститься у змішаній фракції мікроорганізмів рубця.

Ацил-ефірні зв'язки ліпідів в рубці швидко гідролізуються, а утворені неестерифіковані жирні кислоти (НЕЖК) адсорбуються на частинках корму. Оскільки процес гідрогенізації НЕЖК також протікає швидко, ліпіди, які осідають на частинках корму, в основному, складаються з НЕЖК (Harfoot & Hazlewood, 1988).

Бактерії відповідальні за процеси біогідрогенування, тоді як роль у цих процесах найпростіших і грибів дуже незначна (Lourenço et al., 2010).

1.3.1. Рослинні ліпіди

Раціони дійних корів звичайно містять 4-5% жиру, переважно рослинного походження. Рослинні ліпіди поділяються на структурні та резервні. Структурні ліпіди в листі вищих рослин становлять до 7% в сухій речовині, вони, в свою чергу, поділяються на поверхневі (покривні) і структурні компоненти клітин,

зокрема, хлоропластів (Гарр, 1987). 90% жирних кислот ліпідів структурних компонентів клітин – це пальмітинова, олеїнова, лінолева і α -ліноленова. α -ліноленова кислота є домінуючою (Ferlay et al., 2017). Поверхневі ліпіди містять жирні кислоти з довжиною ланцюга від C10 до C30 (Гарр, 1987).

Рослини нагромаджують енергію у вигляді вуглеводів у спеціальних тканиних (в сім'ядолях або плодах), в яких ліпіди можуть бути фосфоліпідами і гліколіпідами (як структурні ліпіди) або триацилгліцеролами (ТАГ), незначна кількість яких є в зерні гороху, пшениці, ячменю. В інших рослинах енергетичні запаси нагромаджуються за рахунок ліпідів, головним чином ТАГ в плодах – в екзокарпії (авокадо, плодах пальми), ендоспермі (плодах пальми) або в насінні (соняшник, ріпак, соя). Жирні кислоти ТАГ рослинних олій різноманітніші, порівнюючи із жирними кислотами структурних ліпідів і, звичайно, специфічні для певних видів рослин.

У таблиці 1.1 представлено склад жирних кислот насіння ріпаку різних сортів, який вирощують в Західній Україні (Цісарик, 2008, 2009; Цісарик & Дроник, 2007; Цісарик та ін., 2007, 2009). Натуральні ТАГ мають стереоспецифічне розташування жирних кислот по трьох позиціях в молекулі гліцеролу, аналіз показав, що насичені жирні кислоти займають позицію 1, а ненасичені – позицію 2 (Weber et al., 1971).

Таблиця 1.1

Хімічний склад насіння ріпаку сортів Жет-Неф, Тисменицький і Дангал

Показники	Жет-Неф	Тисменицький	Дангал
Сирий жир, %	37,0	37,5	44,6
Жирні кислоти, г/кг повітряно-сухої маси	327,8	326,4	345,07
Окремі жирні кислоти, %			
C12:0	0,03	0,006	0,014
C14:0	–	0,11	0,032
C15:0	–	0,033	0,009
C16:0	3,80	5,09	3,32
C16:1	–	3,17	0,24
C18:0	1,20	1,43	1,34
C18:1	44,80	47,78	47,67
C18:2	26,50	25,12	25,86

<i>Продовження табл. 1.1</i>			
C18:3	21,20	9,72	16,89
C20:0	–	3,2	–
C20:1	–	0,18	3,49
C20:2	0,57	0,15	–
C20:3	–	0,31	–
C22:0	–	0,35	–
цис-13 C22:1	1,90	3,34	1,18

Гессом в результаті десятирічного вивчення впливу ліпідних добавок у вигляді рослинних олій на процеси рубцевої ферментації було встановлено, що вони можуть бути додані до основного раціону в кількості, що не перевищує 3% від сухої речовини (СР) (Hess, 2007).

1.3.2. Ліпіди бактерій рубця

Вміст ліпідів в бактеріях становить від 10 до 15% у сухій речовині (СР), менший вміст у бактеріях, асоційованих з рідиною, ніж у асоційованих з осадом (Baumchart et al., 1990).

Бактеріальні ліпіди походять із екзогенного джерела (поглинуті довголанцюгові жирні кислоти раціону) і ендогенного (синтезовані *de novo*), внесок вклад кожного із цих джерел залежить від вмісту ліпідів в раціоні і видового складу рубцевої популяції бактерій (Harfoot & Hazlewood, 1988). Збільшення концентрації ліпідів в раціоні приводить до зростання частки екзогенних ліпідів шляхом поглинання мікробними клітинами з утворенням цитоплазматичних ліпідних включень (Baumchart et al., 1990).

Класи ліпідів в рубцевих бактеріях охарактеризовані не повністю. Наприклад, є дані, що 30% загальних ліпідів, екстрагованих із суміші рубцевих бактерій, становлять НЕЖК, 20% – фосфатидилетаноламін, 5,6% – фосфатидилсерин і 0,4% – фосфатидилхолін (Viviani et al., 1968). Таким чином, близько 43% ліпідів не враховано. Значну частину неврахованих ліпідів можуть складати сфінголіпіди, кількість яких складає близько 50% загальних ліпідів в *Bacteroides ruminicola* (Kunzman, 1973). Крім того, в бактеріях рубця також містяться гліколіпіди (Keeney, 1970).

Встановлено, що до складу загальних жирних кислот входять кислоти: міристинова – 3,9%, пентадеканова – 8,0%, пальмітинова – 31,0%, маргарінова – 1,6%, стеаринова – 15%, олеїнова – 6,0%, лінолева – 2,7% та інші кислоти з

розгалуженим ланцюгом, кількість яких може становили 15,8% (Viviani et al., 1968).

Жирні кислоти, синтезовані *de novo*, представлені, головним чином, C18:0 і C16:0 у співвідношенні 2:1, вони синтезуються з ацетату чи глюкози. Значна кількість міченого за [^{14}C] ацетату і [^{14}C] глюкози включається в мікробні ліпіди у вигляді прямолінійного ланцюга з парною кількістю карбонів жирних кислот (Harfoot & Hazlewood, 1988). Пропіонат чи валеріат заміняють ацетат у побудові довголанцюгових жирних кислот з непарною кількістю карбонів. Розгалужені жирні кислоти (ізо- і антеізо-) можуть утворюватися шляхом утилізації ізобутирату, ізовалеріату і 2-метилбутирату.

Розгалужені жирні кислоти і кислоти з непарною кількістю атомів карбону (C15:0, C15:0 ізо, C15:0 антеізо, C17, C17:0 ізо, C17:0 антеізо і C17:1) є маркерами синтезованих рубцевими мікроорганізмами сполук в дуоденальному потоці (Kim et al., 2005; Vlaeminck et al., 2005). Вказані жирні кислоти з непарною кількістю атомів карбону і розгалуженим ланцюгом є складовими мембранних ліпідів рубцевих бактерій.

Мононенасичені жирні кислоти, вміст яких становить 15-20% бактеріальних жирних кислот, синтезуються анаеробним шляхом (Fulco, 1983). Згідно із цим шляхом, β -гідроокси-C10 попередник піддається дегідратації з утворенням в β , γ позиціях цис-3 подвійного зв'язку замість транс-2 подвійного зв'язку. У випадку такої позиції подвійного зв'язку, не може відбутися наступного кроку – відновлення за участю C10-еноїл редуктазою, як це має місце, коли подвійний зв'язок має транс-2 конфігурацію. В подальшому ланцюг видовжується, і відповідно, утворюється C16:1 або C18:1 чи інші кінцеві продукти. Один подвійний зв'язок також може утворюватися в результаті дії анаеробної десатурази рубцевої бактерії на стеаринову кислоту (Harfoot & Hazlewood, 1988).

Насичені жирні кислоти утворюються шляхом дегідратації β -гідроокси-C10 попередника з утворенням транс-2 деценоату, відновлення його у деканоат і наступною елонгацією з утворенням C16:0 або C18:0 (Harfoot & Hazlewood, 1988).

Поліненасичені жирні кислоти, в основному, не синтезуються бактеріями, за винятком ціанобактерій. Таким чином, поліненасичені жирні кислоти, які є в рубцевих мікроорганізмах, є результатом екзогенного поступлення змінених жирних кислот корму (Harfoot & Hazlewood, 1988).

1.3.3. Ліпіди найпростіших

Ліпіди, екстраговані із суміші найпростіших рубця овець, мають такий склад: НЕЖК – 10,1%, моноацилгліцероли – 1,4%, диацилгліцероли – 1,0%, ТАГ – 1,0%, фосфоліпіди – 85,5%, ефіри, стероли, воски – 0,7% (Harfoot & Hazlewood, 1988). Основними фосфоліпідами є фосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін, які становлять 36 і 18% за масою (Dawson & Kemp, 1967). Також визначений склад загальних жирних кислот в суміші найпростіших рубця: пентадеканова – 3,4%, пальмітинова – 43,1%, стеаринова – 9,3%, олеїнова – 1%, а інші жирні кислоти з розгалуженими ланцюгами – 4,9% (Harfoot & Hazlewood, 1988).

1.4. Метаболізм ліпідів у рубці

Жуйні тварини відзначаються особливостями будови травного тракту – наявністю передшлунків, в яких за участі симбіотичної мікрофлори здійснюються складні ферментативні процеси перетравлення поживних речовин корму, і тому використання ліпідних добавок у жуйних теж відзначається значними відмінностями, порівнюючи з моногастричними тваринами.

Ненасичені ліпіди, додані до раціонів жуйних, можуть сильно порушувати ферментацію в рубці, викликаючи зниження перетравлення неліпідних енергетичних джерел. Про зниження перетравності клітковини повідомляється в ряді робіт (Kowalchuk et al., 1977; Eastridge & Firkins, 1991; Harvatine & Allen, 2004). Це зниження супроводжується зниженням продукції метану, гідрогену і летких жирних кислот (ЛЖК), включаючи зниження співвідношення ацетат:пропіонат (Ikwuegbu & Sutton, 1982; Черкавский & Клаппертон, 1987; Johnson et al., 2002).

Увага останніх досягнень у дослідженні рубцевого метаболізму ліпідів була сфокусована в двох напрямках: 1 – контроль за антимікробним ефектом жирних кислот з метою нівелювання негативного впливу на процеси ферментації та перетравлення і 2 – регуляція мікробного біогідрогенування з метою змінити абсорбцію окремих жирних кислот для зниження насиченості ліпідів молока і м'яса та підвищення їхньої біологічної цінності, насамперед, завдяки транс-11 ізомерам С18 жирних кислот (Jenkins, 1993). Інформація про досягнення у вивченні рубцевого метаболізму ліпідів викладена в декількох оглядах (Wu et al., 1991; Jenkins, 1993; Harfoot & Hazlewood, 1999; Dewanckele et al., 2020).

Механізм, за яким ліпіди взаємодіють із рубцевою популяцією мікроорганізмів, є комплексною моделлю, яка включає взаємодію ліпідів із клітинними мембранами мікробних клітин, потенційні можливості пошкодження мембран і порушення функцій клітин, фізичне прикріплення

мікробних клітин до поверхні частинок корму, експресію і активність мікробіальних ензимів.

В рубці здійснюються два важливі процеси мікробної трансформації ліпідів – ліполіз і біогідрогенування. Ліполіз полягає у звільненні вільних жирних кислот із естерифікованих рослинних ліпідів, після чого відбувається біогідрогенування, завдяки якому зменшується кількість подвійних зв'язків (Wu et al., 1991). Швидкість ліполізу і гідрогенізації ліпідів залежить від багатьох факторів, найважливішими серед яких є склад і якість корму, площа поверхні частинок корму в рубці і структурна модифікація ліпідних молекул, які пригнічують атаку бактеріальних ізомераз. Крім того, мікроорганізми синтезують жирні кислоти *de novo* із вуглеводних попередників, як було зазначено вище. Таким чином, ліпідний потік до дуоденуму складається із жирних кислот, що походять з двох джерел – ліпідів корму і ліпідів мікроорганізмів, а також ліпідів відпрацьованих клітин епітелію рубця і ентероцитів.

1.4.1. Ліполіз

Естерифіковані рослинні ліпіди після споживання гідролізуються мікробними ліпазами, при цьому вивільняються вільні жирні кислоти. Ефективність гідролізу кормових ліпідів у вмістимому рубця є високою – понад 85% (Harfoot & Hazlewood, 1997). В ранніх дослідженнях вказувалось, що ліполіз відбувається дуже швидко в рубці (Garton et al., 1958). Ця гіпотеза не враховувала відмінностей між результатами експериментів *in situ* та *in vitro*.

Однак, недавніми експериментами, в яких уперше було описано тривалість лаг-фази біогідрогенування, яка корелює з тривалістю ліполізу, встановлено, що, насправді, її тривалість в умовах *in situ* є в межах 2 годин, тоді як в умовах *in vitro* – близько нуля (Enjalbert et al., 2003). Найбільш вираженою ліполітичною активністю характеризується рубцева бактерія *Anaerovibrio lipolytica*, яка продукує позаклітинні ліпази і естерази (Harfoot & Hazlewood, 1988).

A. lipolytica – грампозитивна паличка, розміром 0,3-0,8 на 2,0-4,0 мкм, яка виявляється у вигляді поодиноких або парних клітин. Бактерія має один джгутик, є строгим анаеробом. Ліпаза є екстрацелюлярним ензимом, запакованим в частинки мембран із протеїнами, ліпідами і нуклеїновими кислотами (Henderson & Hodgkins, 1973). Ліпаза гідролізує ацилгліцероли, які містять середньо- і довголанцюгові жирні кислоти повністю, а також фосфоліпіди до гліцеролу і вільних жирних кислот із незначним нагромадженням моно- і диацилгліцеролів (Hawke & Silcock, 1970). Гліцерол швидко піддається ферментації з утворенням

пропіонової кислоти як головного кінцевого продукту (Garton et al., 1961). З цукрів *A. lipolytica* використовує в процесах метаболізму фруктозу і рибозу, здатна також використовувати лактат. Цукри зброджуються до оцтової і пропіонової кислот і CO₂ (Янович & Сологуб, 2000).

Незважаючи на високу ліпазну активність, загальна естеразна активність *A. lipolytica* є меншою, ніж багатьох неліполітичних бактерій. Ідентифіковано 74 штами рубцевих бактерій, що проявляють здатність гідролізувати естерні зв'язки п-нітрофенілпальмітату (Fay et al., 1990). Встановлено, що велика кількість видів рубцевих бактерій, включаючи 30 штамів *Butyrivibrio fibrisolvens*, проявляє естеразну активність, проте лише кілька видів бактерій можуть гідролізувати зв'язки з залишками довголанцюгових жирних кислот (Hespell & O'Bryan-Stah, 1988).

B. fibrisolvens – це грамнегативні палички, розміром 0,3-0,8 на 1,0-5,0 мкм, які розташовуються поодинокі, парно або ланцюжками, строгі анаероби. Вид має багато підвидів, які характеризуються різною здатністю до використання цукрів. *B. fibrisolvens* гідролізують геміцелюлозу, целодекстрини, гірше целюлозу, в них виявлено також гідролази глікозидів, а також позаклітинні протеази. Кінцевими продуктами життєдіяльності бактерій цього виду є форміат, бутират, ацетат, а також лактат і сукцинат. Важливою особливістю бактерій цього виду є продукування редуктаз, які гідрогенізують поліненасичені жирні кислоти (Янович & Сологуб, 2000).

Гідроліз рослинних галактоліпідів і фосфоліпідів забезпечується великою кількістю галактозидаз і фосфоліпаз (включаючи фосфоліпазу А, фосфоліпазу С, лізофосфоліпазу і фосфодіестеразу), які також продукуються рубцевими мікроорганізмами (Harfoot & Hazlewood, 1988). Причому ліпаза бактерій *A. lipolytica* не гідролізує ацил-ефірні зв'язки в галактозилгліцерилах (Henderson, 1971).

Основний шлях гідролізу галактозилгліцеролів включає стадію початкового розщеплення зв'язків ацилового ефіру під дією галактоліпази із наступним звільненням галактози із дигалактозилгліцеролу чи моногалактозилгліцеролу (Dawson & Hemington, 1974). Встановлено, що галактозидази найпростіших гідролізують дигалактозилгліцерили до галактози і диацилгліцеролу (Howard, 1963). Утворені таким чином диацилгліцерили можуть після цього гідролізуватись ліпазами бактерій *A. lipolytica*. Інші бактерії рубця, включаючи *B. fibrisolvens*, здатні гідролізувати фосфатидилхолін, лізофосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін (Hazlewood & Dawson, 1975). Ліпази і фосфоліпази, які містяться в рослинах, можуть сприяти гідролізу

ацильних зв'язків в рубці (Harfoot & Hazlewood, 1988). У вмістимому рубця активність ліпаз досить висока, що, мабуть, зумовлено кооперативною дією різних бактерій і дією ліпаз рослинного походження (Янович & Сологуб, 2000).

1.4.2. Фактори впливу на швидкість ліполізу

Швидкість ліполізу визначається багатьма факторами, зокрема вмістом ліпідів у рубцевому вмістимому. Так, при зростанні частки ліпідів в культуральному середовищі від 2 до 10% швидкість ліполізу знижується від 41,4 до 22,6%/год. (Beam et al., 2000). Вона залежить також від природи доданих ліпідів. Наприклад, швидкість ліполізу ліпідів сала становить 7%/год., тоді як для триолеїну вона становить 47,1, 48,6 і 28,3%/годину при концентрації цього субстрату 460, 900 і 1330 мг/л культурального середовища, відповідно (Beam et al., 2000). Про низьку швидкість ліполізу ліпідів сала вказують й інші дослідники, вона становить лише 18% від швидкості ліполізу суміші рослинно-тваринних ліпідів (Palmquist & Kinsey, 1994).

Із зменшенням частки грубих кормів (з 42,8 до 19,5%) і зростанням частки крохмалю (з 12,2 до 36,7%) в раціонах годівлі овець швидкість ліполізу знижується приблизно на 50% (Gerson et al., 1983). На швидкість ліполізу здійснює вплив рН середовища, при рН<6 ліполіз пригнічується (Gerson et al., 1985; Qiu et al., 2004a). Знижується швидкість ліполізу при малих кількостях нітрогену в раціонах (Gerson et al., 1983; Qiu et al., 2004a) і збільшенні розміру частинок корму (Gerson et al., 1988).

Швидкість ліполізу залежить від вегетативної зрілості рослин, що входять до складу грубого корму – споживання свіжої трави інтенсифікує ліполіз порівняно із споживанням сухої трави (Ribeiro et al., 2005), від швидкості відтоку рубцевої рідини – вона зменшується із зростанням швидкості відтоку (Qiu et al., 2004a).

Також великий вплив здійснює рівень утворення солей в рубцевій рідині, що залежить від розчинності кальцію в раціоні, від вмісту ліпідів в раціоні, рубцевого рН (із зниженням рН більше вільних кислот), насиченості жирних кислот і довжини їх ланцюга (Palmquist et al., 1986).

Нами проведені дослідження швидкості ліполізу залежно від розміру частинок насіння ріпаку і значення рН в умовах *in vitro*. Насіння ріпаку має тверду лігніфіковану оболонку, тому необхідною умовою є її руйнування, а одним із способів є механічне подрібнення. Ми подрібнювали насіння ріпаку з отриманням дерті (розмір частинок біля 1 мм) та борошна (дрібний помел). Встановлено меншу інтенсивність ліполізу для ріпакової дерті за 6 годин

інкубації при рН 6,5 і 7,0, а при рН 7,5 – значення майже однакові (рис. 1.1, а). Середній ступінь розщеплення за всіх значень рН для насіння грубого помелу становив 17,8% за 4 години інкубації та 21,8% – за 6 годин, тоді як для дрібного 18,7 та 25,4% відповідно. В умовах *in situ* нами не встановлено істотних відмінностей інтенсивності ліполізу для дерті та борошна (рис. 1.1) при їх інкубації впродовж 4 годин, однак за 6 годин зареєстровано досить чітку тенденцію до меншої його інтенсивності для дерті (рис. 1.1, б) (дані не опубліковані).

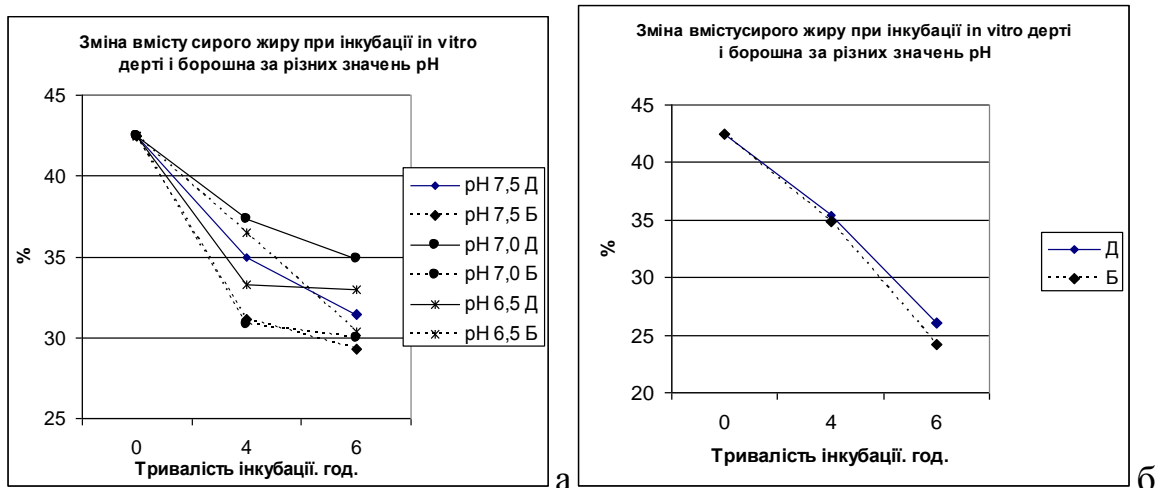


Рис. 1.1. Інтенсивність розщеплення сирого жиру насіння ріпаку при інкубації в умовах *in vitro* (а) та *in situ* (б) за різного ступеня помелу (Д – дерть, Б – борошно)

Результати цих досліджень вплинули на вибір нами форми ріпакової ліпідної добавки, в подальших дослідженнях ми використовували ріпакову дерть. Повільніше вивільнення ненасичених жирних кислот сприятиме зменшенню можливого їх токсичного впливу на мікрофлору рубця.

Слід зазначити, що більшість експериментів дослідження інтенсивності ліполізу проводились в умовах *in vitro*, і його інтенсивність виражалась в міру зникнення нейтральних ліпідів, без визначення лаг-фази. Тому, як було зазначено вище, на думку Енджальберті і співавторів приводяться дані, які значно перевершують результати, отримані *in situ* (Enjalbert et al., 2003).

1.4.3. Інгібування рубцевих бактерій поліненасиченими жирними кислотами

Дослідження впливу чотирьох типів С18 жирних кислот (18:0, 18:1, 18:2 і 18:3) у різних кількостях (0; 3,5 і 7% від СР) на рубцеву ферментацію показало, що додавання С18 жирних кислот має незначний вплив на рН, загальну

продукцію ЛЖК і амонійного нітрогену. Однак, при цьому значно змінюються ферментативні шляхи – зменшується частка ацетату і збільшується пропіонату із зростанням дози і ненасиченості ЖК. Частка найпростіших в загальній популяції бактерій знижується під впливом лінолевої і ліноленової кислот, більш істотно ліноленової. Ці кислоти також інгібують ріст фібролітичних бактерій (Zung et al., 2007).

При включенні до раціонів лактуючих корів добавок, що містять рослинні олії з високим вмістом ненасичених жирних кислот (ріпакова, соєва, соняшникова, лляна і ін.), спостерігається пригнічення рубцевих бактерій. Ріст більшості грампозитивних рубцевих бактерій інгібується при додаванні в середовище поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), до них чутливі також і деякі грамнегативні бактерії. Щодо дози ПНЖК, яка є безпечною для рубцевої мікрофлори, то встановлено, що їх кількість 4% від СР не здійснює інгібуючого впливу (Qiu et al., 2004b).

Кількість ненасичених жирних кислот в рубці залежить від кількості і типу жиру, а також швидкості ліполізу, біогідрогенування і утворення солей. Висока концентрація ТАГ в раціоні збільшує загальний рівень ліпідів в рубці, однак пул ненасичених жирних кислот в рубці може бути зниженим, якщо ліполіз є послабленим, або коли є велика здатність утворювати солі. Вплив ліпідів на рубцеву ферментацію також великою мірою залежить від композиції основного раціону, наприклад, від кількості клітковини в раціоні і її співвідношення із кількістю концентратів.

Запропоновано кілька теорій для пояснення впливу ліпідів на рубцеву ферментацію: теорія фізичного обволікання частинок клітковини жирною оболонкою; теорія антимікробного ефекту в результаті поверхнево активних впливів жирних кислот на поверхню мікробних клітин (ці теорії вважаються найбільш справедливими); теорія токсичного впливу, в результаті чого зазнає модифікації рубцева популяція, пов'язана із перетравленням клітковини; теорія зниженої доступності катіонів, зокрема кальцію, для потреб мікроорганізмів як наслідок утворення нерозчинних сполук з довголанцюговими жирними кислотами. Рубцеве перетравлення структурних вуглеводів знижується на 50% і більше при додаванні 10% жиру до раціонів, менший вплив доданий жир здійснює на перетравлення неструктурних вуглеводів (Jenkins, 1993).

Гарфут і співавтори показали, що ростучі бактерії в чистій культурі абсорбують більше ніж 90% жирних кислот перед додаванням частинок корму, після цього 60% і більше вільних жирних кислот асоціюється з кормовими частинками (Harfoot et al., 1974).

Теорія обволікання пояснює зниження ферментації наявністю ліпідної оболонки на кормових частинках, яка інгібує перетравлення целюлози. Ліпідне покриття запропоноване як причина головного ефекту перешкоджання тісного контакту мікробної клітини чи гідролітичних ферментів із кормовими частинками, оскільки безпосередній фізичний їх контакт є необхідною умовою для перетравлення целюлози в рубці (Cheng et al., 1991). Розчин олеату натрію сприяє активному відокремленню бактерій від кормових часточок із втратою життєздатності клітин (Barsuhn et al., 1988), причому, життєздатність не відновлюється навіть, коли бактерії поміщають в середовище целюлози без жиру на тривалий період. Це свідчить, що втрата життєздатності пов'язана із руйнуванням клітин більше, ніж з тимчасовим відокремленням від часточок корму.

В дослідженнях *in vivo* встановлено, що додавання жиру до раціонів не викликає зменшення кількості мікроорганізмів, коли вони міцно прикріплені до кормових частинок (Legay-Carmier & Vauchart, 1989). Навіть якщо жир не впливає на прикріплення бактерій до кормових частинок, він може впливати на взаємодію бактеріальної целюлази і целюлози. Встановлено, що наявність вільних жирних кислот у суміші рубцевої целюлази і карбоксиметилцелюлози послаблює взаємодію ензиму і субстрату, що приводить до зниження активності целюлази (Immig et al., 1991).

Механізм антимікробного впливу ПНЖК не до кінця зрозумілий, однак відомо, що першою мішенню є клітинні мембрани бактерій і процеси, які відбуваються на поверхні мембран і в мембранах. Бактерії потребують насичених жирних кислот для мембранного синтезу, подвійні зв'язки змінюють форму молекул і руйнують структуру ліпідного бішару (Keweloh & Heiprieger, 1996). Антимікробний ефект ліпідів у рубці має багато подібного до цитотоксичного ефекту жирних кислот на функції мембран в еукаріотичних клітинах, зокрема, виключення окиснювального фосфорилування (Luvisetto et al., 1987).

Довголанцюгові жирні кислоти швидко прикріплюються до ліпідного бішару в біологічних мембранах, завдяки їхнім гідрофобним і амфіфільним властивостям. Ідентифіковано 10 різних шляхів, завдяки яким жирні кислоти можуть змінювати функції біологічних мембран. Згідно з Грубером і Лоу, негативний ефект довголанцюгових жирних кислот полягає у їхній здатності плавити, розширяти, згущувати, розріджувати чи диспергувати функціонально важливу ліпідну фазу поблизу мембранних протеїнів. Жирні кислоти є в три рази

більш потужними пошкоджувачами аніонного обміну протеїнів у мембранах еритроцитів людини, ніж спирти (Gruber & Low, 1988).

Заміна карбоксильної групи в жирних кислотах на інші функціональні групи, такі як спиртові чи альдегідні, істотно знижують негативний вплив на рубцеву ферментацію *in vivo* (Cherkawski et al., 1966) та *in vitro* (Jenkins, 1993). Висновок про те, що вільна карбоксильна група є необхідною для порушення функцій мембран є можливим поясненням, чому використання ТАГ, кальцієвих солей (Jenkins & Palmquist, 1984) чи амідів (Fotouhi & Lenkins, 1992) як кормових жирів, створює менше ферментативних проблем у рубці.

У наших дослідженнях при згодовуванні 1,1 кг ріпакової дерті, за рахунок чого споживання жирних кислот зросло із 263 г/добу (1,7% в СР корму) в контрольній групі корів до 564 г/добу (3,7% в СР корму) у дослідній групі корів, вплинуло на метаболічні процеси у рубці (Цісарик та ін., 2007). Споживання олеїнової кислоти зросло із 57,9 до 208,4, лінолевої – з 88,9 до 163,3, ліноленової – з 51,7 до 79,2 г/добу. На тлі відсутності змін загальної концентрації ЛЖК знизилась сумарна частка кислот, які походять із пірувату, зокрема, оцтової кислоти, в рубцевій рідині корів – 62,3 проти 71,3% у корів контрольної групи (табл. 1.2). Це зумовлено, очевидно, меншим розщепленням клітковини целюлозолітичними бактеріями.

Таблиця 1.2

Концентрація та співвідношення легких жирних кислот у вмісті рубця корів ($M \pm m$, $n=3$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Конц. ЛЖК, ммоль/л	58,3±4,0	64,0±6,10
Кислоти, моль%:		
оцтова	71,34±5,05	62,27±4,15
пропіонова	15,67±2,9	15,45±0,9
масляна	11,63±1,6	12,64±2,7
ізовалеріанова	1,36±0,09	0,38±0,02**
валеріанова	–	9,26±0,9
Співвідношення C2/C3	4,6±0,34	4,1±0,27

Наші дані щодо відсутності змін загальної концентрації ЛЖК на тлі згодовування подібної, як у наших дослідженнях, кількості ненасичених жирних кислот узгоджуються з даними (AbuGhazalech & Holmes, 2007). Однак, за

збільшення кількості насіння концентрація загальних ЛЖК знижується (Chichlowski et al., 2005). Співвідношення ацетат/пропіонат знизилось із 4,6 до 4,1 у вмісті рубця, однак воно не вийшло за межі ацетатного типу ферментації. Про зниження ацетатно/пропіонатного відношення за збільшеного надходження ненасичених жирних кислот повідомляється у ряді джерел (Gonthier et al., 2004; Tricon et al., 2004; Beauchemin et al., 2009). Зниження продукції ацетату може відобразитись на синтезі *de novo* жирних кислот у молочній залозі, однак в наших дослідженнях не зареєстровано зниження вмісту жиру, навпаки, вміст і продукція жиру зросла. У складі ЛЖК рубцевої рідини корів дослідної групи спостерігалась тенденція до збільшення частки масляної кислоти, що кореспондується з даними літератури (Khorasani et al., 1992; Reveneau et al., 2005). Встановлений, однак, менший вміст ізовалеріанової кислоти, яка утворюється шляхом окиснювального дезамінування і декарбоксилювання розгалужених амінокислот (лейцину).

Утворенню ЛЖК передуює гліколітичне розщеплення глюкози, тому рівень лактату також свідчить про ферментативну активність мікроорганізмів, відповідно вищий вміст молочної кислоти (не досягаючи верхньої фізіологічної межі) в рідині рубця корів, які отримували насіння ріпаку, згідно з нашими результатами (табл. 1.3) також засвідчує про відсутність пригнічення анаеробної фази розщеплення вуглеводів (Цісарик та ін., 2007). Лактат утворюється двома шляхами – як проміжна чи кінцева сполука процесу бродіння та перетворення інших кислот. *M. elshdenii*, яка є причиною зсуву біогідрогенізаційних шляхів, перетворює пропіонат і валеріат у лактат, однак у вмісті рубця корів дослідної групи не зареєстровано зниження концентрації вказаних субстратів, що наводить нас на думку, що підвищений вміст лактату пов'язаний із активністю молочнокислої мікрофлори, що спричинило також і зниження рН рубцевої рідини, однак ця зміна не була вірогідною. Крім того, вказане підвищення супроводжується чітко вираженою тенденцією до зростання концентрації молочної кислоти в крові корів дослідної групи, що узгоджується з даними літератури при заміні частини крохмалю в раціонах корів ліпідами (Hammon et al., 2008), а це, в свою чергу, може сприяти перетворенню лактату в печінці в глюкозу, тим самим підвищеному надходженню її до тканин молочної залози і використанню для синтезу лактози. Причому, синтез глюкози з лактату в печінці не спричиняє гальмування окиснення жирних кислот, на відміну від синтезу її з пропіонату (малоніл-КоА конкурує за карнітин-пальмітоїл транспортні механізми) (Vernon, 2005).

Слід зазначити, що при заміні частини концентратів ліпідними добавками знижується рівень інсуліну та підвищується глюкагону, відповідно, зростає відношення глюкагон/інсулін. Глюкагон стимулює ендogenous синтез глюкози у жуйних і сприяє покращенню забезпечення глюкозою лактуючий організм (Hammon et al., 2008).

Таблиця 1.3

**Вміст загальних цукрів, молочної кислоти та рН рідини рубця корів
($M \pm m$, $n=3$)**

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Загальні цукри, мг%	102,0±5,83	70,1±2,06*
Молочна кислота, ммоль/л	1,49±0,08	1,89±0,10*
рН	6,73±0,28	6,60±0,14

Доцільно попереджувати зниження інтенсивності ферментативних процесів у рубці шляхом забезпечення високого рівня клітковини у раціонах. У складі раціонів у нашому досліді рівень клітковини був достатньо високим – в межах 16% в СР. Високий вміст клітковини важливий для *B. fibrisolvens*, яка відповідальна за транс-11 ізомеризацію ненасичених жирних кислот.

Значна кількість додаткового жиру може викликати інгібування целюлозолітичної мікрофлори, що відображається на загальній перетравності целюлози (Aldrich et al., 1997). Нами був проведений балансовий дослід (табл. 1.4), за результатами якого не встановлено зниження ступеня перетравності клітковини, у дослідних корів вона становить 44,8, у контрольних – 44,7 % (Цісарик і Дроник, 2007). Незважаючи на значно вищий вміст жиру у раціонах годівлі корів дослідної групи, рівень його перетравлення у них є високим, навіть дещо вищим, порівняно з контролем – 91,5 проти 88,7 % (різниця невірогідна). У корів дослідної групи зареєстровано значно вищий вміст жиру в калі порівняно з контролем (на 63,2 %), що цілком закономірно. При цьому корови дослідної групи продукували вірогідно більшу кількість молочного жиру за рахунок збільшення надойв молока та вмісту жиру в ньому.

Таблиця 1.4

Баланс поживних речовин корму в організмі корів ($M \pm m$, $n=3$)

Показники	Суша речовина		Жир		Клітковина	
	К	Д	К	Д	К	Д
Спожито з кормом, г/добу	14815± 58,8	14607± 71,2	310,7± 20,6	674,4± 31,4**	2776± 55,2	2706± 48,9
Виділено з калом, г/добу	3803± 31,5	3736± 22,4	35,1± 2,3	57,3± 1,9**	1533± 21,4	1492± 25,9
Перетравлено, г/добу	11012± 44,7	10871± 51,4	275,6± 18,9	617,1± 23,2**	1243± 19,6	1214± 22,4
Перетравність, %	74,3± 5,4	74,4± 6,7	88,7± 5,1	91,5± 7,8	44,7± 4,3	44,8± 5,1
Виділено з молоком, г/добу			411,5± 9,8	464,4± 7,6*		

Примітка: К – контрольна група; Д – дослідна група

Оскільки в останній час дуже часто застосовують екструзію насіння з метою зменшити частку розщеплюваного в рубці протеїну, а екструзія, в свою чергу, викликає підвищення рівня вільних жирних кислот, то проводяться також дослідження впливу згодовування екструдованого насіння. Зокрема, встановлено, що підвищення вмісту вільних жирних кислот із 8,0 до 18,0% у екструдованому насінні бавовни, частка якого складала в раціоні 12,5% від СР, не здійснює істотного впливу на рубцеву ферментацію, однак спостерігається лінійне зниження середнього значення рН рубцевого вмістимого при зростанні частки вільних жирних кислот (Sullivan et al., 2005). Однак, є повідомлення, що зростання частки вільних жирних кислот у складі екструдованого насіння сої призводить до зниження перетравності нейтрально і кислотно-детергентної клітковини (Reddy et al., 1994). За зростання рівня екструдованого насіння сої знижується молярна пропорція бутирату і зростає пропіонату при ферментації *in vitro* (Keele et al., 1989)

Також встановлено, що жирові добавки у виді жовтого жиру чи сала викликають підвищення молярної пропорції ацетату, зниження бутирату, і підвищення співвідношення ацетат:пропіонат, тоді як зростання вільних жирних кислот при заміні сала жовтим салом знижує молярну пропорцію ізовалеріату (Avila et al., 2000).

Необхідний компроміс між впливом ліпідних добавок на процеси рубцевої ферментації і збільшеним поступленням ПНЖК в тонкий кишківник для засвоєння, оскільки ПНЖК відіграють важливу біологічну роль, і тому підвищення їх кількості у харчових продуктах, зокрема в яловичині і молочному жири є важливим стратегічним напрямом сучасного тваринництва.

1.4.4. Біогідрогенування ненасичених жирних кислот рубцевою мікрофлорою

Біогідрогенування ненасичених жирних кислот є другою головною трансформацією, якій підлягають кормові ліпіди в рубці. Рубець у жуйних тварин є бар'єром для надходження ненасичених жирних кислот до тонкого кишківника, де вони всмоктуються. Ненасичені жирні кислоти ліпідів корму, серед яких домінують С18 кислоти, мають відносно короткий період піврозпаду у вмістимому рубця, тому що вони швидко гідрогенізуються рубцевою мікрофлорою до більш насичених кінцевих продуктів. Головною метою біогідрогенування є зменшити токсичність ПНЖК у рубці (Maia et al., 2007, 2010; Fukuda et al., 2009).

Бактерії відповідальні за процеси біогідрогенування, тоді як роль у цих процесах найпростіших і грибів дуже незначна (Lourenço et al., 2010).

За нормальних умов у рубці С18:2 n-6 ізомеризується до цис-9, транс-11 С18:2 або транс-10, цис-12 С18:2, після чого гідрогенізується до транс-11 С18:1 або транс-10 С18:1 і в кінцевому результаті гідрогенізується до С18:0. Головний біогідрогенізаційний шлях С18:3 n-3 включає: цис-9, транс-11, цис-15 С18:3 → транс-11, цис-15 С18:2 → транс-11 С18:1 → С18:0. Однак, можливе утворення інших проміжних ізомерів, таких як транс-9, транс-11 С18:2, транс-10 С18:1. Крім основного біогідрогенізаційного шляху можливі різні альтернативні, що доведено у дослідженнях на коровах (Honkanen et al., 2016) і овець (Toral et al., 2018, 2019) із застосуванням ізотопів.

Повне біогідрогенування повинно завершитись утворенням С18:0, яка залишає рубець. Однак, біогідрогенування в рубці є неповним, утворюється і нагромаджується багато проміжних сполук – транс-ізомерів ненасичених жирних кислот (Dewanckele et al., 2020).

В останні роки велика увага дослідників зосереджена на пошуках шляхів збільшення у складі молочного і яловичого жиру транс-11 ізомерів, які утворюються під час процесу біогідрогенування в рубці і наділені низкою позитивних впливів на здоров'я людини, тому важливо проаналізувати дані літератури щодо цього процесу.

Більшість біогідрогенізаційних процесів (понад 80%) проходить на поверхні дрібних кормових частинок, на яких адсорбуються НЕЖК зразу ж після звільнення з ацил-ефірних сполук за дії екстрацелюлярних ензимів бактерій, асоційованих з частинками корму або вільних у вигляді суспензії. Кемп і Лендер класифікували рубцеві бактерії, задіяні в процесі біогідрогенування залежно від їхніх метаболічних шляхів, у дві групи (Kemp & Lander, 1984).

Група А включає бактерії, які гідрогенізують поліненасичені С18 кислоти до транс-С18:1, тоді як лише декілька видів, що належать до групи В, можуть гідрогенізувати С18:1 до стеаринової кислоти. Отже, повне біогідрогенування може здійснитись лише за участі бактерій обох груп (Harfoot & Hazlewood, 1997). Однак, у недавніх дослідженнях ідентифіковано як виняток, специфічний вид, який може здійснювати повне біогідрогенування ПНЖК до С18:0 (Palmquist et al., 2005). Цей вид – *Butyrivibrio proteoclasticus*, він забезпечує гідрогенування С18:2 до С18:0 (Wallace et al., 2006).

Також можна класифікувати бактерії за їхніми проміжними сполуками – бактерії, включені у транс-11 шлях, бактерії, включені у транс-10 шлях і третя група – усі інші (Dewanckele et al., 2020).

Ініціюючою реакцією при біогідрогенуванні лінолевої і ліноленової кислот є каталізована трансформація цис-12 подвійного зв'язку у транс-11, тобто трансформація їх у кон'юговані транс-11 октадекадієнову і октадекатрієнові відповідні ізомери (Pariza, 1999). Ізомераза не є функціональною, якщо жирна кислота не має вільної карбоксильної групи (Kerler et al., 1970). Перші два кроки гідрогенізації лінолевої кислоти до утворення вакценової кислоти (ВК, транс-11 С18:1) здійснюються досить швидко, а останній – з утворенням стеаринової кислоти – швидкоісно-залежний і потребує тривалішого часу для завершення (Harfoot & Hazlewood, 1997). Тому подальша гідрогенізація зв'язку транс-11 залежить від умов у рубці. Наприклад, повна гідрогенізація лінолевої кислоти до стеаринової є можливою у вільній від клітин і частинок корму рубцевій рідині, однак вона інгібується великою кількістю лінолевої кислоти (Kellens et al., 1986). Фінальний крок біогідрогенізації гальмується акумульованою в рубці транс-11 С18: (Moate et al., 2008).

Крім головних біогідрогенізаційних шляхів існують додаткові, в результаті яких утворюються мінорні транс-ізомери. Зокрема, другий дієновий кон'югат лінолевої кислоти – транс-10, цис-12 октадекадієнова кислота утворюється при транс-ізомеризації цис-9 подвійного зв'язку лінолевої кислоти (Peterson et al., 2003).

Біогідрогенування лінолевої кислоти є набагато складнішим процесом. α -Ліноленова кислота (цис-9, цис-12, цис-15 C18:3) ізомеризується до цис-9, транс-11, цис-15 октадекатрієнової кислоти, яка гідрогенізується до транс-11, цис-15 октадекадієнової (Harfoot, 1981). У подальшому транс-11, цис-15 октадекадієнова кислота може метаболізуватись двома шляхами: з утворенням транс-15 і цис-15, які не підлягають подальшій гідрогенізації та утворенням транс-11 (вакценової) кислоти та її можливою гідрогенізацією до стеаринової кислоти. Можуть утворюватися також ізомери транс-13 і транс-14 (Loor et al., 2004).

Головні шляхи біогідрогенування лінолевої і ліноленової кислот показані на рисунку 1.2 (Bauman et al., 2003).

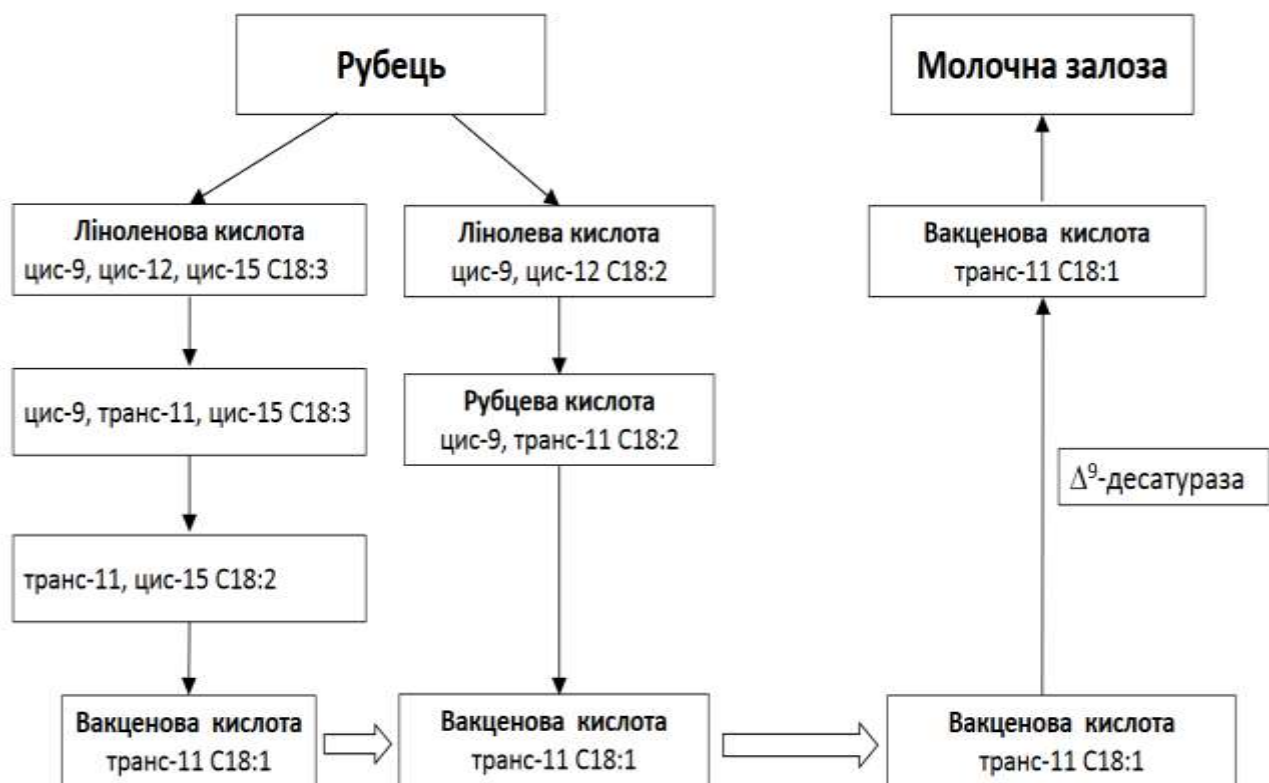


Рис. 1.2. Шляхи рубцевого і ендогенного синтезу рубцевої кислоти (цис-9, транс-11 C18:2) у лактуючих корів. Шляхи біогідрогенування лінолевої і ліноленової кислот, в результаті яких продукується вакценова кислота (транс-11 C18:1)

Щодо біогідрогенування γ -ліноленової кислоти (цис-6, цис-9, цис-12 C18:3), то вона ізомеризується в рубці до цис-6, цис-9, транс-11 октадекатрієнової, послідовно гідрогенізується до цис-6, транс-11

октадекадієнової, транс-11 октадеценової і октадеканової кислот (Harfoot & Hazlewood, 1999).

Ізомераза є ферментом, що каталізує ключовий етап процесів біогідрогенування, однак, цей фермент досліджений лише у декількох видів рубцевих бактерій. Ізомераза, продукована *B. fibrisolvens*, характеризується субстратною специфічністю щодо цис-9, цис-12 дієнової системи і вільної карбоксильної групи (Kepler et al., 1970). Анаеробна бактерія *B. fibrisolvens* є одним із найбільш поширених метаболічно різносторонніх і найбільш досліджених видів рубцевої мікрофлори (Solomon et al., 2000). Ця бактерія відповідає за перетворення лінолевої і ліноленової кислоти в кон'юговані лінолеву та ліноленову кислоти (КЛК) з утворенням транс-11 ізомерів. За допомогою її ферментного комплексу від молекули води відщеплюється водень (Rosenfeld & Nove, 1971), тоді як забезпечення електронами здійснюється НАД⁺Н⁺, метилвіологеном і ендogenousними донорами електронів, такими як α -токоферолквінол і деокси- α -токоферолквінол (Hughes & Tove, 1980).

Серед видів *Butyrivibrio*, також *B. hungatei* здатний продукувати транс-11 С18:1 із С18:2, такою самою здатністю наділений *B. proteoclasticus* (раніше – *Clostridium proteoclasticus*), він також сатурує до С18:0, про що згадувалось вище (Maia et al., 2007; McKain et al., 2010).

Слід відзначити, що здатністю продукувати транс-11 ізомери наділені й інші види. В експериментах *in vitro* показано, що транс-11 ізомери із С18:2 і С18:3 утворюють представники родів *Bifidobacterium* (Hennessy et al., 2012), *Clostridium*, *Enterococcus* (Kishino et al., 2002), *Lactobacillus* (Kishino et al., 2002; Renes et al., 2017), *Pediococcus* (Kishino et al., 2002), *Propionibacterium* (Hennessy et al., 2012), *Pseudobutyrvibrio* (Paillard et al., 2007), *Ruminococcus* (McIntosh et al., 2009). Бактерії цих родів виділені із різних джерел – кишківника людини, різних видів тварин і птиці, молочних продуктів, також із рубця. Однак, представництво цих родів, за винятком *Ruminococcus*, в рубці є дуже малим порівняно з *Butyrivibrio* (Henderson et al., 2015). Крім того, штами *Butyrivibrio* ізомеризують С18:2 до цис-9, транс-11 С18:2 набагато швидше, ніж інші види (Shingfield et al., 2012; Hussain et al., 2016).

Отже, не тільки ферментний комплекс, продукований *B. fibrisolvens*, бере участь в гідрогенізації дієнів шляхом утворення транс-ізомерів, а внутрішньоклітинні комплекси інших рубцевих мікроорганізмів можуть конвертувати цис-цис-дієни у стійкіші кон'юговані дієни або транс-моноєни. Залишається відкритим питання, чи в рубцевому вмістимому наявні різні

ізомеразні ензими із різною активністю для кожної жирної кислоти, чи ферменти однакові, але вони проявляють різну активність відносно різних жирних кислот (Abu Ghazaleh & Jenkins, 2004).

Щодо біогідрогенування транс-9 і транс-10 C18:1 ізомерів, то одні автори вважають, що відповідальною є *B. proteoclasticus* (Lourenço et al., 2010; McKain et al., 2010), однак інші вважають, що ця бактерія не відіграє ключової ролі у цьому процесі (Belenguer et al., 2010; Huws et al., 2011).

Друга група бактерій, яка включена у транс-10 шлях гідрогенізації, вивчена недостатньо. Було показано, що в утворенні транс-10 C18:1 із C18:2 і C18:3 задіяний вид *Ruminococcus albus* (Kemp et al., 1975). Представництво роду *Ruminococcus* у рубці подібне до представництва роду *Butyrivibrio* (Henderson et al., 2015). Однак, їх кількість у рубці не корелює із утворенням транс-10 ізомеру (Dewanckele et al., 2018), більш того, представництво *Ruminococcus* було меншим у випадках зростання нагромадження транс-10 (Dewanckele et al., 2019). Щодо *R. albus*, то у огляді Деванкеле (Dewanckele et al., 2020) зазначено, що, на жаль, із 1975 р. не проводились дослідження метаболізму ним C18:2 і C18:3.

Зростання транс-10 ізомеру і пов'язана з ним молочножирова депресія асоціюється із збільшенням представництва в рубці *Megasphaera elsdenii* (Weimer et al., 2010; Mohammed et al., 2012; Dewanckele et al., 2018), на основі чого було зроблено висновок про її роль у продукції транс-10 проміжних сполук із C18:2 і C18:3. Кімом і співавторами було виділено 2 штами *M. elsdenii*, які перетворювали C18:2 у транс-10, цис-12 C18:2 (Kim et al., 2002). Однак, є дані, що ці штами *M. elsdenii* не утворюють транс-10, цис-12 C18:2 (Maia et al., 2007), що не співпадає з результатами досліджень, в яких було проаналізовано 14 штамів *M. elsdenii* (Dewanckele et al., 2020).

У дослідженнях *in vitro* було показано здатність *Lactobacillus brevis*, виділеної із сиру, синтезувати транс-10 ізомер (Renes et al., 2017), що доказує можливість представників цього роду утворювати цей позиційний ізомер. Представництво молочнокислих паличок у рубці теж пов'язано з утворенням транс-10 (Dewanckele et al., 2018). Також показано можливість *Bifidobacterium pseudolongum*, виділеного із рубця, формувати транс-10 зв'язок (Jaglan et al., 2019). Однак, здатність цих двох видів синтезувати вказані ізомери в рубці потребує подальших досліджень (Dewanckele et al., 2020).

1.4.5. Вплив факторів на інтенсивність процесів біогідрогенування

Головним фактором впливу на швидкість як ліполізу, так і біогідрогенування, є концентрація ліпідної добавки. Швидкість обох процесів

знижується із зростанням вмісту ліпідів у рубцевому вмістимому. Висока концентрація жирних кислот у рубцевій рідині призводить до неповного біогідрогенування, спричиняючи нагромадження проміжних сполук у вигляді транс- і цис-ізомерів, які акумулюються в рубці. Наприклад, висока концентрація лінолевої кислоти сприяє нагромадженню в рубцевому середовищі транс-11, оскільки, як було зазначено вище, лінолева кислота гідрогенізується мікроорганізмами в двох відокремлених системах. Концентрація лінолевої кислоти в культуральному середовищі понад 1мг/мл перешкоджає другій системі – конверсії моноєнової кислоти у стеаринову, що призводить до її акумуляції в середовищі (Harfoot et al., 1973). Кількість спожитої лінолевої кислоти, таким чином, є ключовим фактором, який визначає зникнення її в рубці і надходження в дуоденум для абсорбції.

Швидкість біогідрогенування окремих жирних кислот в рубці, в першу чергу, залежить від кількості подвійних зв'язків, наявність більше ніж одного подвійного зв'язку в кислоті пришвидшує швидкість її зникнення з культивованого вмістимого. Це може бути пояснено тим, що швидкість біогідрогенування C18:1 і ПНЖК відображає активність різних мікробіальних ферментів – ізомераз та редуктаз, відповідно (Beam et al., 2000).

Більш ненасичені жирні кислоти мають вищий пріоритет для ізомераз. Цим пояснюється незначна кількість ліноленової кислоти у вмісті рубця, незважаючи на значний її вміст у рослинних кормах (вміст лінолевої і ліноленової кислот у ліпідах зелених кормів становить 60-80% від загальної кількості жирних кислот вегетативної частини рослин). Встановлено, що втрати в рубці для олеїнової, лінолевої і ліноленової кислот становлять 78, 83 і 94% від їхньої спожитої кількості, відповідно (Pantoja et al., 1996).

Збільшення кількості ненасичених жирних кислот підвищує ступінь біогідрогенізації C18:2 і C18:3, і знижує ступінь біогідрогенізації цис-C18:1 і транс-C18:1. В цьому самому досліді встановлено, що ступінь переходу (passage rate) C16:0, C18:0 лінійно зменшується із зростанням кількості спожитих ненасичених жирних кислот (Harvatine & Allen, 2004).

У дослідях *in vivo* показано, що залежно від кількості доданого захищеного жиру біогідрогенізація коливається від 60 до 73%, 75-87% і 83-88% для цис C18:1, цис C18:2 і цис C18:3 відповідно (Murphy et al., 1987; Wu et al., et al., 1991).

Аналіз швидкості біогідрогенування жирних кислот *in vitro* соєвої олії, в якій домінує лінолева кислота, і ріпакової олії з домінуванням олеїнової кислоти показав, що швидкість біогідрогенування C18:1 в середовищі із ріпаковою олією

є менша, ніж із соєвою. Це пояснюється впливом концентрації цієї кислоти аналогічно до лінолевої кислоти, очевидно, при перевищенні концентрації понад порогове значення, швидкість біогідрогенування значно знижується (Beam et al., 2000).

Важливо відзначити, що швидкість біогідрогенування більшою мірою залежить від концентрації окремих жирних кислот, ніж від швидкості ліполізу (Beam et al., 2000). Кінетику процесу біогідрогенування вивчали у дослідях *in vivo* (Enjalbert et al., 1997; Looor et al., 2004) шляхом порівняння між жирнокислотним складом ліпідів корму і потоком до дуоденуму та в умовах *in vitro* (Beam et al., 2000), результати яких значно варіюють, оскільки є функцією умов. Тому в літературі є дуже суперечливі дані. Так, Редді і співавтори встановили при культивуванні *in vitro* сирого насіння сої, що співвідношення цис С18:2/загальні С18 за 24 години інкубації зменшується в п'ять разів (Reddy et al., 1994), тоді як в експериментах Енджальберті і співавторів таке зменшення при інкубації насіння каноли становить 30 разів (Enjalbert et al., 2003). Бім і співавтори приводять швидкість біогідрогенування цис-С18:2 від 8 до 12%/год. (Beam et al., 2000). На противагу, Ву і Пальмквіст приводять дані, що біогідрогенація цис-С18:2 із суміші тваринно-рослинного жиру становила 90% за 4 години інкубації, що відповідає швидкості 40%/год. (Wu et al., et al., 1991). Ван Невел і Демейер опублікували дані про інтенсивність біогідрогенування цис-С18:2 соєвої олії, яка становить біля 90% за 6 годин (Van Nevel & Demeyer, 1996). Подібні до цього результати отримані також в умовах *in vitro* щодо швидкості біогідрогенування цис-С18:1, яка становила 50-60% за 4 години інкубації (Wu et al., et al., 1991), однак повідомляється також про значно меншу швидкість цього процесу – біля 3,6%/год. (Beam et al., 2000).

Такі коливання результатів пояснюються умовами експериментів, тому що процес біогідрогенування залежить від цілої низки факторів, а також від їх взаємного накладання.

Екстраполюючи дані про зникнення окремих жирних кислот в рубці, отримані в дослідях *in vivo* із використанням сирого насіння каноли (Murphy et al., 1987), на результати, отримані *in vitro*, можна побачити, що ці значення відповідають біогідрогенуванню жирних кислот сирого насіння каноли між 8 і 12 годинами інкубації. В дослідях *in situ* за 24 години інкубації насіння каноли із рубцевим вмістимим, на противагу дослідям *in vitro*, не досягається подібного рівня, через значно меншу швидкість біогідрогенування (Enjalbert et al., 2003).

Таким чином, швидкість біогідрогенування жирних кислот одного і того ж субстрату залежить від складу і властивостей культурального середовища, чим зумовлені певні розбіжності отриманих результатів.

В досліджах Лура і співавторів, в яких вміст концентратів в раціоні годівлі становив 65%, показано, що додавання лляної олії підвищує біогідрогенування олеїнової, лінолевої і ліноленової кислот в рубці (Loor et al., 2004), що підтверджено в інших експериментах (Grinari et al., 1998). Однак, включення до раціонів риб'ячого жиру, який відзначається високим вмістом C20:5 і C22:6, викликає інгібування процесу біогідрогенування, що виражається у значному зменшенні частки C18:0 і збільшенні кількості транс-ізомерів, як проміжних сполук біогідрогенування (Loor et al., 2004). Це знайшло підтвердження в досліджах, проведених *in vitro*, в яких вивчався вплив додавання до рубцевих культур різних доз докозапентаєнової і ейкозагексаєнової кислот (Abu Ghazaleh & Jenkins, 2004). Згідно з отриманими результатами автори стверджують, що додавання цих кислот інгібує активність редуктаз, тому що різко знижується біогідрогенування C18:1 і утворення C18:0, однак стимулює ізомеразну активність, внаслідок чого зростає рівень транс-ізомерів. Наприклад, строге інгібування конверсії транс-11 C18:1 у C18:0 має місце при додаванні до культурального середовища докозагексаєнової кислоти (Vlaeminck et al., 2007).

Цікавим є факт, що адаптація рубцевої мікрофлори до C22:6 (згодовування впродовж 3-х тижнів морських водоростей) робить можливим біогідрогенування транс-11, цис-15 C18:2, але не транс-11 C18:1, що проявляється в акумуляції цієї ізоформи в культуральному середовищі (Vlaeminck et al., 2007).

Морські водорості не використовують широко у годівлі корів на промислових фермах, однак їх згодовування становить значний науковий інтерес, особливо в останні роки (Pirondini et al., 2015).

Щодо впливу окремих факторів на ефективність процесів біогідрогенування в рубці, то значна увага в останній час приділяється впливу кількості концентратів в раціоні та співвідношення грубі корми:концентрати (Grinari et al., 1998; Piperova et al., 2002; Loor et al., 2004). Встановлено, що високий рівень концентратів в раціоні знижує швидкість біогідрогенування ненасичених жирних кислот (Piperova et al., 2002; Loor et al., 2004), однак, існують особливості впливу щодо індивідуальних жирних кислот. Згодовування раціонів із вмістом концентратів (75%) знижує біогідрогенування C18:2 n-6 і C18:3 n-3, однак не впливає на гідрогенування цис-9 C18:1 (Kalsheuer et al., 1997).

Підтвердженням порушень рубцевої популяції при зниженні співвідношення грубі корми:концентрати є зменшення вмісту розгалужених і

непарних жирних кислот (Loor et al., 2004), що супроводжується також зниженням молярної частки ацетату, ізобутирату і ізовалеріату в рубцевому вмістимому і в дуоденальному потоці (Ueda et al., 2003).

Рівень клітковини в раціоні є потужним фактором впливу на процес біогідрогенування, із зростанням її кількості біогідрогенування посилюється, при згодовуванні вівцям сталих кількостей жирних кислот і зростаючих кількостей грубих кормів (від 18,4 до 72,9%) пропорційно зростала біогідрогенізація олеїнової, лінолевої і ліноленової кислот (Kucuk et al., 2001). Це зумовлено позитивним впливом клітковини на рубцеву популяцію мікроорганізмів і підтверджується позитивною кореляцією вмісту розгалужених і непарних жирних кислот в рубцевому вмістимому і кількістю грубих кормів в раціоні (Sauvant & Bas, 2001).

Процеси біогідрогенування залежать від типу грубих кормів – свіжа трава чи сіно. У дослідженнях Рібейро і співавторів (Ribeiro et al., 2005) показано, що гідрогенування лінолевої і ліноленової кислот було на 14,6 і 32,9% вищим, відповідно, при інкубуванні рубцевих культур на мікрораціонах із свіжою травою, ніж із сіном. Подібні результати отримані і в інших дослідах (Boufaied et al., 2003).

Добавки цукрози знижують біогідрогенування загальних C18 кислот і їх зникнення в культурі, причому цукроза більшою мірою впливає на останній крок біогідрогенування – гідрогенізацію транс C18:1 у C18:0, ніж на ізомеризацію і відновлення C18:2 і C18:3 (Ribeiro et al., 2005).

Про вплив рубцевого рН на рівень біогідрогенування існують неоднозначні повідомлення. В досліджах *in vivo* (Kalsheuer et al., 1997) та *in vitro* (Van Nevel & Demeyer, 1996) було встановлено, що низьке значення рубцевого рН знижує швидкість рубцевої біогідрогенізації. Однак, Лоур і співавтори за результатами досліджень (Loor et al., 2004) стверджують, що зміни у протіканні біогідрогенування, коли згодовують великі кількості концентратів, можуть бути незалежними від значення рН. Автори вважають, що рубцева популяція більш чутлива до змін кількості крохмалю, що підтверджується в досліджах, коли рубцеве рН не змінюється (Tajima et al., 2001). Результати дослідів АбуГазалеха і співавторів із міченою за ^{13}C олеїновою кислотою при різних значеннях рН (5,5 і 6,5) показали, що рівень утворення стеаринової кислоти із олеїнової був вищим при нижчому значенні рН – 72 проти 26% (AbuGhazaleh et al., 2004).

Процеси біогідрогенування зазнають також змін під впливом продуктів окиснення ліпідів. Вони утворюються у скошеній траві після того, як зруйнуються клітинні стінки і рослинні ліпази вивільняють поліненасичені

неестерифіковані С18 кислоти, які дуже швидко за дії ліпоксигеназ перетворюються в гідропероксиди ПНЖК (Feussner & Wasternack, 2002). Гідропероксиди ПНЖК далі катаболізуються, утворюючи кінцеві продукти окиснення жирних кислот (ФАОР), такі як альдегіди, спирти, кетони, що проявляють антимікробну активність (Strobel et al., 2001). Пероксиди ліпідів зустрічаються також в окиснених ліпідах, які згодуюють жуйним, зокрема, рибній олії (Aidos et al., 2002).

У дослідженнях *in vitro* встановлено, що додавання продуктів гідропероксидного окиснення ліпідів проявляє антимікробний ефект, головним чином на групу В мікробної популяції, відповідальної за гідрогенування транс-С18:1 ізомерів до стеаринової кислоти. Це виливається у зростання вмісту транс-С18:1 і зниження вмісту С12:0, С14:0, С16:0, цис-С18:1, тобто має місце пріоритетне біогідрогенування С18 кислот. При цьому також знижується вміст загальної кількості розгалужених і непарних жирних кислот, що пов'язано з антимікробним впливом (Lee et al., 2007). Гідропероксиди ліпідів впливають на рубцеву популяцію, що пов'язано із змінами ДНК і порушенням ліпідсинтезуючої здатності (Lee et al., 2007).

1.4.6. Утворення транс-ізомерів під час біогідрогенування

У процесі біогідрогенування ПНЖК ферментами рубцевих бактерій до насичених кислот, в основному, до стеаринової, утворюється багато проміжних сполук: транс- та позиційні ізомери ненасичених жирних кислот, кон'юговані лінолева та ліноленова кислоти (Demeyer & Doreau, 1999). Утворення транс-ізомерів, а також зростання співвідношення С18:1/С18:0 і С18:2/С18:0 свідчить про неповне біогідрогенування. Кількості біогідрогенованих сполук, утворених у рубці, впливають на їхній вміст у тканинах і молоці (Chilliard et al., 2000).

З найбільш вагомих досліджень, що пролили світло на джерела утворення транс-ізомерів, була робота Гріінарі і співавт. в Корнелльському університеті, в якій показано, що транс- проміжні сполуки утворюються при біогідрогенуванні лінолевої і ліноленової кислот (Griinari et al., 1998), згодом в цьому самому університеті Кімом і співавт. з рубцевого вмістимого була ізольована бактерія, яка здатна продукувати транс-10, цис-12 КЛК (Kim et al., 2002). Крім того, Мослі і співавт. в університеті Клемсон показали, що олеїнова кислота з міткою перетворюється сумішшю рубцевих мікроорганізмів у транс-ізомерні форми кислот (Mosley et al., 2002)/

Із багатьох ізомерних форм кон'югованих дієнів, цінними біологічними властивостями наділений ізомер цис-9, транс-11. Профілактичну і лікувальну

роль цис-9, транс-11 кон'югованої лінолевої кислоти (КЛК) підтверджено низкою багатьох досліджень (Ip et al., 2003; Larsen et al., 2003; Lock & Bauman, 2004; Parodi, 2004).

Відкриття ролі цис-9, транс-11 C18:2, як потужного нутріцевтика, привернуло значну увагу дослідників до шляхів утворення і нагромадження транс-проміжних сполук під час процесу біогідрогенування рубцевою мікрофлорою. Такі дослідження потребують сучасної техніки для проведення газової хроматографії у поєднанні з мас-спектроскопією для ідентифікації численних позиційних і геометричних транс-ізомерів, що утворюються в рубцевому вмістимому в процесі біогідрогенування.

Є два шляхи утворення КЛК: ізомеризація цис-9, цис-12 C18:2, як проміжний етап біогідрогенування, тобто утворення проміжної сполуки під час неповного біогідрогенування (Kepler et al., 1966), другий шлях – ендогенне утворення із транс-11 C18:1 за дії ензиму Δ^9 -десатурази в ентероцитах, тканині молочної залози чи жировій тканині (Piperova et al., 2002). Тому дослідження можливостей максимального утворення транс-11 ізомеру C18:1 (БК) і цис-9, транс-11 КЛК (Shingfield et al., 2006), як і максимального поступлення цих ізомерних форм до дуоденуму, і відповідно, до молочної залози є актуальними (Loor et al., 2004). Субстратами для синтезу транс C18:1 в рубці є ліпіди, багаті на C18:2 родини n-6 (Duckett et al., 2002), а також C18:3 родини n-3 (Vlaeminck et al., 2007).

Цис-9, транс-11 КЛК і її попередник транс-11 C18:1 є унікальними ізомерами, оскільки утворюються лише в жуйних тварин, і це зумовлює фокусування уваги багатьох дослідників на пошуках можливостей підвищення їх концентрації в харчових продуктах, джерелом яких є молоко і яловичина.

Транс-жирні кислоти утворюються як проміжні сполуки під час мікробного біогідрогенування ненасичених жирних кислот (Kelly et al., 1998; Corl et al., 1998, 2002; Griinari et al., 2000; Piperova et al., 2002). Детальний склад транс-18:1, цис- C18:1, некон'югованих C18:2 і деяких КЛК в рубцевій рідині вперше дослідили у 2002 році Лур і співавтори у дослідях на коровах, яким згодовували ріпакову і соєву олію (Loor et al., 2002). АбуГазалех і співавтори представили профіль C18:1 і C18:2 ізомерів у рубцевому вмістимому при згодовуванні риб'ячого жиру (AbuGhazaleh et al., 2002). У подальшій роботі Лур і співавтори вивчили жирнокислотний профіль рубцевого вмістимого і молока при поєднанні риб'ячого жиру, лляної олії і соєвої олії у висококонцентратних раціонах аналогічно, як і у вищезгаданих двох роботах упродовж годівельного циклу (Loor et al., 2004). Цінність цих досліджень полягає в тому, що вони

проведені в умовах *in vivo*, і результати їх можуть бути використані для оцінки продукування проміжних сполук різних ПНЖК і зменшення ризику негативного впливу (наприклад, акумуляції). Було ідентифіковано 5 ізомерів цис-С18:1 – від цис-9 до цис-15; 10 транс ізомерів С18:1 – від транс-4 до транс-16; 7 некон'югованих С18:2 ізомерів; 8 КЛК ізомерів і 4 ізомери С18:3 в рубцевій рідині. Усі ці ізомери також були ідентифіковані в дуоденальній рідині. Концентрація більшості із них зростала при більшій дозі концентратів (в основному, цис- і транс-С18:1) і додаванні лляної олії, а також при взаємодії цих двох факторів. Концентрація цис-9, транс-11 КЛК була найбільшою при згодовуванні соняшникової олії, порівнюючи з лляною і рибною (Loor et al., 2004). Висока кореляція (0,54) зареєстрована між С18:2 n-6 і цис-9, транс-11 С18:2, а між цис-9, транс-11 КЛК і транс-11 С18:1 вона становила 0,26. Менша кореляція між цим ізомером КЛК і транс-11 С18:1 свідчить про факт, що транс-11 походить із цис-9, транс-11, а також із транс-11, цис-15 С18:2 та інших С18-ізомерів (Loor et al., 2004).

Ізомер транс-11, цис-15 є головним некон'югованим дієном С18:2 при біогідрогенізації С18:3. Значне його зростання зареєстроване при додаванні лляної олії (в 2,8-3,5 разів більше впродовж доби згодовування олії, порівнюючи з вихідним рівнем), найменша концентрація транс-11, цис-15 – при згодовуванні соєвої олії. Зареєстровано також зростання С18:3 в дуоденальному вмістимому при згодовуванні лляної олії. Концентрація транс-10, цис-12 С18:2 була близькою до вихідної, однак при додаванні соєвої олії вона зростала на 21-34% впродовж доби. При додаванні лляної олії і риб'ячого жиру середня її концентрація становила 0,23 проти 0,07 мг/г, тобто дієтична ліноленова кислота і вищі ПНЖК сприяють утворенню цієї ізомерної форми. Кореляція між С18:2 родини n-6 і транс-10, цис-12 КЛК при згодовуванні соєвої олії становила 0,72, що свідчить, що частина дієтичної С18:2 n-6 ізомеризується до цієї КЛК (Loor et al., 2004), про що також вказує Бауман і Грінарі (Bauman & Griinari, 2003). Дані про концентрацію С18:0 свідчать, що при додаванні всіх олій біогідрогенізація не завершується впродовж годівельного циклу. У дослідах *in vitro* із міченою 1-¹³С лінолевою кислотою встановлено, що після 48-годинної інкубації включення мітки має місце в транс-11 С18:1 (14,2%) і С18:0 (2,7%) і сім КЛК позиційних ізомерів (з коливаннями від 18,1 до 30,7%). Найбільше включення (30,7%) зареєстровано для цис-9, транс-11 КЛК (Lee et al., 2007).

Таким чином, результати про знаходження міченого карбону в різних ізомерах КЛК вказують на те, що шляхи біогідрогенування ненасичених жирних кислот є дуже складними.

В інших роботах підтверджено, що продукція окремих позиційних ізомерів C18:2 і C18:1 кислот, значною мірою, залежить від природи доданих ліпідів. Так, в дослідях *in vitro*, порівнюючи рослинні олії, такі як соєва, кукурудзяна, оливкова, арахісова, канолова і сафлорова, встановлено, що при зростанні кількості доданої олії зростає рівень транс-11 C18:1 та ізомерів КЛК, рівень трансвакценової кислоти не залежить від джерела олії, а найвища кількість ізомерів КЛК утворюється при додаванні сафлорової і соняшникової олій. Пік продукції КЛК припадає на проміжок між 12 і 18-ою годинами інкубації, тоді як для трансвакценової кислоти він настає пізніше – біля 24-ої години (Qiu et al., 2004b).

При згодовуванні високоолеїнової соняшникової олії із домінуючою олеїною кислотою вміст в плазмі крові суми транс-6/7/8 і транс-9 C18:1 на 86 і 57% більший, ніж при згодовуванні сафлорової олії з головною лінолевою кислотою. При згодовуванні сафлорової олії вміст цис-12 C18:1 і транс-10, транс-11, транс-12 і транс-16 C18:1 вищий на 69, 31, 82, 42 і 60%, відповідно. Транс-11 C18:1 є головним транс-ізомером олеїнової кислоти і його частка становить 42 і 55% загальних транс-18:1 у плазмі крові, коли згодовують високолінолеву олію. Таким чином, рубцева ізомеризація олеїнової кислоти полягає в утворенні різних позиційних ізомерів, однак головними є транс-6/7/8/9/10 C18:1, тоді як в нормальних умовах транс-11 є основним позиційним ізомером при біогідрогенуванні 18:2 n-6 в рубці (Lour & Herbein, 2003).

Абу Газалех і співавт. *in vitro* встановили, що рубцева мікрофлора готова конвертувати олеїнову кислоту у транс-11 C18:1, коли в рубці є сприятливі умови, тобто рН 6,5, швидкість розчинення 0,10/годину (AbuGhazaleh et al., 2005). Однак, якщо рН знижується і знижується швидкість розчинення, то ізомеризація олеїнової кислоти відбувається з утворенням інших транс-позиційних ізомерів – подвійний зв'язок локалізується між 6 і 10 карбонами. При цьому нижче значення рН зумовлює більш повне біогідрогенування, про що свідчить вища концентрація стеаринової кислоти.

Гарватін і Аллен вивчали ізомерний склад і ефективність рубцевої біогідрогенізації і потік в тонкий кишківник насичених і ненасичених жирних кислот. Додавали 2,5% від сухої речовини корму різні комбінації жирних кислот: насичені жирні кислоти; суміш рівних кількостей насичених і ненасичених жирних кислот (кальцієві мила довголанцюгових жирних кислот) і ненасичені жирні кислоти. Встановлено, що ступінь переходу фракції транс- C18:1 досягає максимуму в досліді із сумішшю жирних кислот (Harvatine & Allen, 2004).

Шінгфілд і співавтори вивчали вплив згодовування рибної (постійна доза) і соняшникової олії (зростаюча доза) в різних комбінаціях і встановили, що при досягненні кількості олії 60 г/кг СР корму в молоці знижується концентрація цис-9, транс-11 КЛК, транс-11 С18:1 і різко зростає концентрація транс-10 С18:1. Авторами зроблено висновок, що високі дози соняшникової олії змінюють напрям біогідрогенізації в рубці, що виражається у підвищенні частки транс-10 і зниженні частки транс-11 С18:1 (Shingfield et al., 2004).

В роботі, де вівцям згодовували соняшкову олію самотійно або з морськими водоростями в різних дозах, також показано, що згодовування морських водоростей призводить до значного зростання як транс-11, так і транс-10 ізомерів С18:1, однак при цьому значно зростає співвідношення транс-10 до транс-11 і зменшується концентрація С18:0. Автори встановили зміни у рубцевій популяції мікроорганізмів, при згодовуванні соняшникової олії з вищими дозами морських водоростей зростає популяція штамів *Lachnospiraceae* і бактерій, пов'язаних з *Quinella*, що виявлено за допомогою методу термінального Т-RFLP (*Terminal restriction fragment length polymorphism*) Вони, можливо, відіграють роль в утворенні проміжних продуктів біогідрогенування. Також зростає концентрація окиснених форм С18 кислот, зокрема 10-О-С18:0 (Torral et al., 2012).

Рубцева бактерія *Selenomonas ruminantium* гідратує цис-9 С18:1 чи транс-10 С18:1 до 10-ОН-С18:0, а *Propionibacterium acnes* в подальшому її окиснює до 10-О-С18:0 (McKain et al., 2010).

Про присутність бактерій родини *Lachnospiraceae* при згодовуванні соняшникової і риб'ячого жиру вівцям повідомляється також в роботі (Belenguer et al., 2010).

Концентрація цис-9, транс-11 КЛК є вищою при додаванні соєвої олії, ніж лляної, про це свідчать результати досліджень Абу-Газалеха і співавторів в умовах *in vitro*. Концентрація цієї ізомерної форми є більшою при вищій швидкості розчинення, відповідно соєва олія із більшою швидкістю розчинення призводить до інтенсифікації продукування ВК, і, в свою чергу, до зростання рівня цис-9, транс-11 КЛК в молоці через десатуразну активність (Abu Ghazaleh & Buckles, 2007). Такі результати узгоджуються із іншими повідомленнями – про вплив збільшення швидкості розчинення на збільшення продукції РК *in vitro* повідомляється в роботі (Qiu et al., 2004a). Це пояснюється тим, що менший час затримання твердого стану сприяє неповному біогідрогенуванню, а отже більш значному нагромадженню проміжних сполук.

Стосовно впливу рН, то незважаючи на те, що серед факторів, які впливають на рубцеву мікробну популяцію і напрям ферментативних реакцій, рН є одним із визначальних, відносно небагато дослідів присвячено виокремленню впливу рН на продукування РК, а результати їх є неоднотайними (Jiang et al., 1996; Qiu et al., 2004a).

В експерименті *in vitro*, присвяченому вивченню впливу рН на утворення цис-9, транс-11 КЛК, встановлено, що із зниженням рН в культуральному середовищі із 6,5 до 5,8 збільшується продукування цього ізомеру із 16,5 до 25,2 мг/добу, це супроводжується зменшенням загальної популяції мікроорганізмів і в т.ч. целюлозолітичних, зниженням відношення ацетат/пропіонат і зниженням швидкості біогідрогенування (Qiu et al., 2004a). В цьому самому експерименті вивчався вплив дози лінолевої кислоти в культуральному середовищі при підвищенні її з 1% в контролі до 3% і показано, що при цьому продукування цис-9, транс-11 КЛК зростає із 16,5 до 23,2 мг/добу.

Більша увага приділяється таким чинникам як структура раціону і вивчається їх моделюючий вплив на продукцію ізомерних форм, зокрема, тих, які здійснюють депресуючий вплив на синтез молочного жиру. Наприклад, збільшення частки зерна (особливо, ферментованого крохмалю у його складі) приводить до зниження рН, що, в свою чергу, викликає зниження продукції молочного жиру, при цьому зростає рівень транс-С18:1 і лінолевої кислоти в дуоденальному вмістимому (Gaynor et al., 1995). Однак, пізніше було показано, що із зростанням кількості концентрованих кормів і ненасичених жирних кислот, знижується рН рубцевого вмістимого, при цьому підвищується концентрація транс-10 С18:1, яка швидше викликає молочножирову депресію, ніж транс-11 С18:1 (Grinari et al., 1998) (детальніше про це у подальшому).

Слід відзначити, що лише незначна частина цис-9, транс-11 КЛК уникає біогідрогенування в рубці, а тому рубцеве джерело цис-9, транс-11 КЛК в молоці і м'ясі є лише частиною загальної її кількості, а більше значення має ендогенна десатурація транс-11 С18:1. Бауманом і співавт. було встановлено, що 93% цис-9, транс-11 КЛК в молоці утворюється пострумінально завдяки Δ^9 -десатуразній активності (Bauman et al., 2003).

Таким чином, головною проміжною сполукою процесів біогідрогенування в рубці є ВК, яка може нагромаджуватись в рубцевому вмістимому, тоді як рубцева кислота (РК) є нестійкою сполукою. Підтвердженням цієї тези можуть виступати наступні спостереження: по-перше, рівень РК в молоці підвищується на фоні згодовування кормових джерел лінолевої кислоти (Dhiman et al., 2000), тоді як РК не є проміжною сполукою процесів біогідрогенування лінолевої

кислоти. По-друге, співвідношення ВК:ПК у рубцевому вмістимому становить 50:1, тоді як в молочному жири 3:1. Отже, головне джерело для утворення цис-9, транс-11 C18:2 в молоці – це транс-11 C18:1, утворена в рубці.

1.4.7. Молочножирова депресія. Вплив чинників на утворення різних позиційних транс-ізомерів

Уперше про те, що транс-ізомери викликають пригнічення синтезу молочного жиру (молочножирову депресію – МЖД) було повідомлено Девісом і Брауном ще в 1970 р. (Jenkins & McGuiret, 2006).

МЖД, спричинена годівельними чинниками, характеризується зниженням вмісту молочного жиру і його продукції як наслідок змін у шляхах рубцевого біогідрогенування без змін у надоях молока та вмісту в ньому інших компонентів (Bauman & Griinari, 2001). Правда, ця дефініція щодо відсутності загального зниження надоїв не завжди є справедливою, наприклад, при згодовуванні риб'ячого жиру спостерігається їх зниження (Kairenius et al., 2015).

Раціони, які спричиняють МЖД, можуть бути об'єднані у дві групи: 1 – раціони, збагачені легкорозщеплюваними вуглеводами з низьким вмістом клітковини і 2 – раціони із додаванням ненасичених жирних кислот, особливо морських ліпідів із високим вмістом C20:5 і C22:6 (Bauman & Griinari, 2003).

Сьогодні є багато повідомлень про те, що транс-10, цис-12 C18:2 як біоактивна жирна кислота, інгібує синтез молочного жиру під час МЖД (Baumgard et al., 2000; Lour et al., 2003; Perfield et al., 2004). Лок і співавтори вважають, що транс-10 C18:1 безпосередньо не індукує МЖД (Lock et al., 2007), однак, це хороший проксі для МЖД, пов'язаної з біогідрогенування, оскільки концентрацію цього ізомеру легше визначити кількісно, і він найбільш негативно корелює з концентрацією молочного жиру (Kadegowda et al., 2008). Автори провели аналіз опублікованої літератури і повідомили про максимальне зниження до 2,58% молочного жиру, коли транс-10 C18:1 досягло 2,52% жирних кислот (n = 63) (Kadegowda et al., 2008). Вміст транс-10 C18:1 становить в середньому 1,06% у складі жирних кислот, з межами коливань від 0,37 до 4,91 (McCarthy et al., 2018).

Транс-10 ізомер може утворюватися шляхом гідрогенування транс-10, цис-12 ізомеру КЛК, сполуки, яка утворюється як результат ізомеризації цис-9 зв'язку (Bauman et al., 2003). Утворення транс-10 зв'язку можливе за умови гідрогенування цис-9 зв'язку, аналогічно до утворення транс-11 зв'язку за гідрогенування цис-12. Транс-10 може утворюватися також шляхом ізомеризації цис-9 олеїнової кислоти (Mosley et al., 2002). Експериментами Прелл та

співавторів також встановлено (Proell et al., 2002), що утворений транс-11 ізомер C18:1 може бути конвертований мікробіальним ізомерами у інші позиційні транс-ізомери.

Щодо джерела походження транс-10 і транс-11 ізомерів в досліджах із міченою за ^{13}C олеїною кислотою, встановлено, що близько 25% цих ізомерних форм походить із олеїнової кислоти, решта – з інших ненасичених жирних кислот (AbuGhazaleh et al., 2005).

Отже, транс-10 ізомер має різні шляхи для свого утворення, які продовжують інтенсивно досліджуватись. Встановлено, що за умов порушення нормальних умов в рубці порушуються основні шляхи біогідрогенування, в результаті чого настає його зсув. Цей зсув полягає у зниженні утворення транс-11 ізомерів і збільшенні утворення транс-10 ізомерів (Griinari & Bauman, 1998; Zened et al., 2016; Dewanckele et al., 2019).

Механізми пригнічення синтезу молочного жиру ізомерами із транс-10 зв'язком є не до кінця зрозумілими (Pottier et al., 2006). Сьогодні питання про зв'язок ізомерів із МЖД продовжує дискутуватись. Як було зазначено вище, відповідальним вважається саме транс-10, цис-12 КЛК, декілька нещодавніх повідомлень це засвідчують (Rico et al., 2013; Toral et al., 2016). Це узгоджується із повідомленням Конте і співавторів, які використали дискримінантний аналіз (Conte et al., 2018).

Дослідження із пострумінальною інфузією транс-10, цис-12 КЛК підтверджують МЖД ефект, оскільки знижується синтез молочного жиру у дозозалежний спосіб (Baumgard et al., 2001). Антиліпогенний ефект цього ізомеру продемонстрований у всіх видів жуйних, результати досліджень показують зниження насичення мРНК ліпогенних генів, які кодують ключові ензими, включені в синтез молочного жиру (Baumgard et al., 2002; Peterson et al., 2003; Hussein et al., 2013; Zhang et al., 2018).

Однак, існують і суперечливі дані. За результатами досліджень Шінгфілда і Гріінарі МЖД у корів проявляється і на тлі дуже низьких пропорцій транс-10, цис-12 C18:2 в молочному жирі (Shingfield & Griinari, 2007). Це знайшло також підтвердження у роботах, в яких МЖД викликали згодовуванням морських водоростей, і не було встановлено змін у концентрації транс-10, цис-12 C18:2 (Kairenius et al., 2015; Toral et al., 2015; Fougère et al., 2018). Ці дані вказують на те, що й інші проміжні сполуки можуть відігравати значну роль у виникненні МЖД, а результати щодо впливу саме транс-10, цис-12 ізомеру слід трактувати з обережністю (Dewanckele et al., 2020).

Інший ізомер – транс-10 C18:1 також активно вивчається як чинник виникнення МЖД. Шінгфілд і Гріінарі вказують, що раціони, які викликають зниження вмісту і продукції молочного жиру, завжди пов'язані із підвищенням вмісту транс-10 C18:1 у молочному жирі, про що вже згадувалось вище (Shingfield & Griinari, 2007), що також підтверджено результатами дискримінантного аналізу Конте і співавторів (Conte et al., 2018). Однак, дослідження Торала і співавторів, проведені на двох групах овець – з МЖД і без, показують однаковий рівень цього ізомеру, що заперечує однозначний його вплив (Toral et al., 2020). Дослідження з інфузуванням транс-10 C18:1 в сичуг продемонстрували збільшення частки цього ізомеру у складі молочних ліпідів, що, однак, не супроводжувалось зниженням рівня секреції молочного жиру (Lock et al., 2007). Про те, що замало досліджень із інфузуванням транс-10 C18:1 у сичуг і впливом на синтез молочного жиру вказано у огляді (Dewanckele et al., 2020).

У дослідженнях, проведених *in vitro*, показано зниження експресії генів для жирнокислотної синтази (FASN), стеароїлдесатурази (SCD) і стерол регуляторного елемент-зв'язуючого фактору транскрипції 1 (SREBF1) за інкубації клітин секреторного епітелію молочної залози із транс-10 C18:1, що підтверджує його антиліпогенний ефект (Kadegowda et al., 2009). Повідомляється, що існують міжвидові відмінності у впливі транс-10 C18:1 ізомеру на синтез молочного жиру (Dewanckele et al., 2020). Вівці і кози є менш чутливими щодо розвитку МЖД на тлі згодовування лляної олії і риб'ячого жиру порівняно з коровами (Bernard et al., 2015).

Важливо підкреслити, що в недавньому мета-аналізі Торал і співавтори показали, що транс-10 C18:1 постійно асоціюється із зниженням концентрації і продукції *de novo* синтезованих жирних кислот молока, однак лише частина з робіт підтверджує при цьому МЖД (Toral et al., 2020).

Є повідомлення, що цис-10, транс-12 C18:1 також проявляє антиліпогенний ефект, однак у цій роботі цей ізомер інфузували разом із транс-10, цис-12 C18:2 (Peterson et al., 2003), антиліпогенний ефект також проявляє транс-9, цис-11 C18:2 (Perfield et al., 2007).

Інші ізомери 18 карбонових кислот та оксикислоти (цис-11 C18:1; транс-4 – транс-9 C18:1; транс-8, транс-10 C18:2; транс-10, транс-12 C18:2, транс-10, цис-15 C18:2 і 10-O-C18:0) теж можуть брати участь у розвитку МЖД, що продемонстровано у дослідженнях на коровах, вівцях і ланях (Kairenius et al., 2015; Carreño et al., 2016; Ventto et al., 2017; Leskinen et al., 2019). Автори

зазначають, що походження цих ізомерів може бути різним і не завжди пов'язане із біогідрогенуванням.

Наприклад, є повідомлення, що деякі бактерії – *Quinella ovalis* і некласифіковані *Veillonellaceae* пов'язані із гідратацією ненасичених жирних кислот і утворенням 10-O-C18:0 у корів (Toral et al., 2016; Carreño et al., 2019) і овець (Carreño et al., 2019). Однак, для підтвердження цього потрібні подальші дослідження з використанням чистих культур цих мікроорганізмів (Dewanckele et al., 2020).

Підсумовуючи аналіз впливу різних проміжних ізомерів на виникнення МЖД, Деванкел і співавтори прийшли до висновку, що всі ізомери, які містять транс-10 зв'язок асоціюються з МЖД. Відповідно, усі умови, які призводять до зсуву біогідрогенізаційних шляхів із утворення транс-11 до утворення транс-10 зв'язку спричиняють зменшення вмісту жиру в молоці і його продукцію (Dewanckele et al., 2020).

Нещодавно запропоновано гіпотезу, що утворення транс-10 ізомерів відбувається на тлі перепродукування транс-11 ізомерів (Vlaeminck et al., 2014). Це передбачає, що продукуючі транс-10 ізомери бактерії починають конвертувати C18:2 і C18:3 лише тоді, коли акумулюються в середовищі транс-11 ізомери, що співпадає із лаг-тривалістю появи транс-10 на тлі згодовування раціонів з високим вмістом крохмалю і низьким клітковини.

Не тільки транс-ізомери є причиною МЖД, є повідомлення, в яких вказується, що формація цис-12 C18:1 характерна для зміни рубцевої біогідрогенізації, яка викликає інгібування синтезу молочного жиру. В дослідях, проведених на лактуючих коровах, яким згодовували рибну олію у кількості 1,6% від СР при різних рівнях клітковини в раціоні, було встановлено, що найбільша депресія синтезу молочного жиру супроводжувалась підвищенням концентрації цис-12 C18:1, тоді як вміст транс-10 C18:1 у всіх групах був приблизно на однаковому рівні (Gama et al., 2004).

Концентрація ненасичених жирних кислот, джерело їх походження, рубцеве рН, швидкість відтоку, йонофори, джерело і кількість вуглеводів, кількість концентратів в раціоні – усі ці фактори здійснюють вплив на утворення різних позиційних транс-ізомерів і можливий розвиток МЖД (Bessa et al., 2000; Jenkins et al., 2003).

Фактори, що зсувають шляхи біогідрогенування є добре відомими – це раціони із низьким рівнем клітковини і високим вмістом ненасичених жирних кислот чи легкозасвоюваних вуглеводів, а також природа неструктурних вуглеводів.

У корів, яким згодовують високі кількості концентратів без додавання (Piperova et al., 2002) або із додаванням рослинних олій (Grinari et al., 1998), що багаті на лінолеву кислоту, концентрація транс-10 C18:1 в молоці є вищою, ніж транс-11 C18:1.

Лур і співавтори низький і високий рівень концентратів поєднували із додаванням лляної олії і вивчали утворення проміжних сполук біогідрогенізації, зокрема, ними встановлено що на раціонах з високим рівнем концентратів утворення транс-10 ізомеру зростає майже у 14 разів, а додавання лляної олії ще більше його підсилює – ще понад два рази. Правда, при додаванні олії також зростає утворення ізомеру транс-11 C18:1, рівень якого був майже однаковим на низько- і висококонцентратному типах раціонів без додавання олії (Loor et al., 2004).

Слід зазначити, що утворення транс-10, цис-12 C18:2 ізомеру при згодовуванні високих доз концентратів коливається у значних межах (Loor et al., 2004). Причому, високий рівень концентратів у поєднанні з добавкою лінолевої кислоти посилює утворення цис-10, транс-12 КЛК (Duckett et al., 2002).

У досліджах Піперови і співавторів встановлено, що при зростанні кількості концентратів із 40 до 75% загальна кількість КЛК підвищується на 73%, однак вміст цис-9, транс-11 ізомеру в дуоденальному вмістимому зростає на 60%, тоді як транс-10, цис-12 – на 200% (Piperova et al., 2002).

Значний вплив на зсув шляхів біогідрогенування має вміст крохмалю в раціоні – із його зростанням підвищується утворення транс-10, цис-12 ізомеру КЛК, причому саме вміст крохмалю у концентрованих кормах (наприклад зерно кукурудзи замість жита) або кукурудзяний силос замість сіна і є вирішальним фактором біогідрогенізаційного зсуву в сторону транс-10, цис-12 ізомеру (Loor et al., 2004).

Аналізуючи результати інших дослідів, в яких вивчався вплив рівня концентратів в раціоні на зсув біогідрогенування в сторону транс-10, цис-12-ізомеру, можна підсумувати, що підвищена кількість крохмалю в усіх випадках посилює його утворення (Loor et al., 2003). Це підтверджується в дослідженнях *in vitro* (Вудмаска & Голубець, 2007). При культивуванні рубцевого вмістимого із цукром і крохмалем встановлено, що джерело неструктурних вуглеводів порізно вплинуло на перебіг метаболічних процесів у інкубатах вмісту рубця. Під впливом додавання крохмалю посилювалось утворення дієнових кон'югатів лінолевої кислоти за рахунок транс-10, цис-12, тоді як кількість РК була однаковою. В інкубатах з цукром був вищий вміст ВК, що є позитивним явищем. Однак, Рібейро і співавтори результатами своїх досліджень заперечили вплив

додавання цукру на збільшення утворення ВК. Ними встановлено, що, справді, додавання цукру змінює мікробіальну популяцію, що відображається на зниженні біогідрогенування загальних С18 кислот, причому незалежно від рН і кількості ненасичених жирних кислот, однак при цьому утворення трансвакценової кислоти істотно не змінюється. Ними також встановлено, що більш чутливим при додаванні цукру є фінальний крок у біогідрогенуванні – відновлення транс-С18:1 до С18:0 (Ribeiro et al., 2005).

Важливий ефект, пов'язаний із згодовуванням висококонцентратних раціонів, полягає у значних змінах популяції мікроорганізмів. Співвідношення целюлозолітичних (в основному, *B. fibrisolvens*) до пропіоновокислих, молочнокислих і амілолітичних бактерій в рубці істотно знижується, коли тваринам згодовують раціони із високою часткою концентратів і низькою грубих кормів (Latham et al., 1972). Кількість *A. lipolytica* також значно зменшується при великих кількостях концентратів (Tajima et al., 2001).

В умовах відсутності «нормальної» швидкості ліполізу, що може понижувати біогідрогенування, та зростання рівня вільної лінолевої кислоти відбувається її ізомеризація до транс-10, цис-12 ізомеру (Loor et al., 2004). Це викликано тим, що *M. elshdenii*, бактерія яка продукує транс-10 ізомер, є більш резистентна до лінолевої кислоти, ніж *B. fibrisolvens*, що продукує транс-11 ізомер (Kim et al., 2002).

Ненасичені жирні кислоти здійснюють неспецифічний токсичний ефект на рубцеві бактерії, і біогідрогенування є механізмом, за допомогою якого рубцеві бактерії конвертують ненасичені жирні кислоти в більш безпечні насичені. Однак, коли навантаження ненасичених жирних кислот обмежує можливості біогідрогенування, тоді ріст рубцевих бактерій зупиняється (Harfoot & Hazlewood, 1988), однак не припиняється ріст резистентних бактерій, для яких характерне продукування транс-10 ізомерів.

Наступний вплив згодовування високої кількості концентратів – це зниження рубцевого рН за рахунок зростання продукції молочної кислоти та зниження швидкості розчинення (Grinari & Bauman, 1998). Підвищення кислотності і низька швидкість розчинення викликають модифікацію розподілення целюлозолітичних бактерій (кількість, види), що колонізують рослинний матеріал. Використовуючи інкубування культур, було показано, що при швидкості відтоку 0,04/год., молочна кислота становить 59% від усіх органічних кислот, тоді як підвищення швидкості вдвічі зменшує частку молочної кислоти до 29% (Hoover et al., 1984). При рН 5,75 урожайність *B. fibrosolvens* становила 75% від максимуму, а при рН 5,5 мікроорганізми

розмивались в культуральному середовищі (Russel & Dombrowski, 1980). На відміну від *B. fibrisolvens*, *M. elshdenii*, яка утилізує лактат, є нечутливою до низького рН (Kung & Hession, 2002).

Низьке значення рН змінює прикріплення мікробів до кормових частинок і спорідненість зв'язування жирних кислот як з бактеріальними мембранами, так і з кормовими частинками (Martin et al., 2002). Відповідно при цьому викликається порушення мікробіального балансу, що, в свою чергу, змінює шляхи біогідрогенування.

Однак, результати 28 досліджень на дійних коровах, вказують, що рН вмістимого рубця не пов'язано із вмістом жиру в молоці і його продукцією, що заперечує те, що низьке значення рубцевого рН є головною причиною МЖД (Dewanckele et al., 2020).

Раціони, що містять високі кількості жиру, є більш токсичними для бактерій, що продукують транс-11 ізомери, ніж для бактерій, що продукують транс-10. Оскільки такий зсув шляхів біогідрогенування має небажані наслідки, які по-перше, зумовлюють МЖД, а по-друге, викликають зниження частки біологічно цінного ізомеру, яким є цис-9, транс-11 КЛК, тому актуальним напрямом досліджень є пошук можливостей нівелювання такого зсуву.

Додавання буферних агентів до раціонів є одним із методів попередження формування транс-10 ізомеру в рубці і відповідного попередження МЖД (Piregova et al., 2002). Однак, на жаль, буферні агенти раціону також знижують загальну продукцію транс-11 ізомерів у рубці, що приводить до зниження продукції ВК і, як результат, до зниження вмісту РК в молочному жирі (Kalsheur et al., 1997).

Важливим завданням дослідників є пошук компромісу між зростанням в рубцевій рідині рівня цис-9, транс-11 КЛК та його попередника транс-11 та іншими проміжними сполуками біогідрогенування, які впливають депресуюче на синтез молочного жиру. Одним із способів його досягнення є згодовування подрібненого насіння олійних, оскільки при цьому здійснюється повільніше вивільнення ПНЖК і зменшується їх токсичний вплив на рубцеву популяцію (Dhiman et al., 2000).

Це також підтверджено й результатами наших досліджень, в яких коровам згодовували подрібнене насіння ріпаку низькоглюкозинолатних і безерукових сортів. Вплив згодовування подрібненого насіння ріпаку у кількості 1,2 кг/добу (вміст жиру в СР корму раціону становив 5,8%) проявився у вірогідному зростанні у плазмі крові вмісту транс-11 С18:1 – 0,52 проти 0,30% через три тижні згодовування та 0,59 проти 0,26% через шість тижнів згодовування (табл.

1.5). Істотно зросла також частка транс-6 С18:1, проявилась тенденція до підвищення вмісту транс-9 С18:1. Важливо підкреслити, що при цьому частка транс-10 С18:1, з якою пов'язано явище молочножирової депресії, не підвищилась у плазмі крові корів дослідної групи. Загальна кількість транс-ізомерів С18:1 вища в 1,5 та 1,44 рази у плазмі крові корів дослідної групи порівняно з контролем на першому та другому етапах згодовування відповідно, що засвідчує про підтримання на постійному рівні активності групи мікроорганізмів А, які забезпечують ізомеризацію (Цісарик & Дроник, 2010).

Ріпакове насіння, на нашу думку, може слугувати компромісним варіантом серед рослинних джерел ненасичених жирних кислот стосовно рівня утворення транс-11 ізомеру. Це зумовлено, по-перше, зниженим співвідношенням між лінолевою та іншими ненасиченими жирними кислотами, оскільки підвищена концентрація лінолевої кислоти спричиняє нагромадження транс-10 ізомеру через те, що *M. elshdenii*, що продукує транс-10 ізомер, є резистентнішими до підвищеної концентрації лінолевої кислоти, ніж *B. fibrisolvens* (Kim et al., 2002).

По-друге, насіння ріпаку містить значну кількість ліноленової кислоти, з якої утворюється преференційно транс-11, цис-15 С18:2, тоді як з лінолевої кислоти утворюються обидва ізомери – транс-10 і транс-11 (Loor et al., 2004).

Як уже було зазначено, підтверджено, що головним ізомером при біогідрогенуванні ліноленової кислоти є транс-11, цис-15, який, крім того, в молочній залозі десатурується до кон'югованої цис-9, транс-11, цис-15 С18:3 (румеленова кислота), яка також наділена унікальною біологічною активністю, однак це вимагає подальших досліджень (Destailats et al., 2005).

Раніше вважалось, що при біогідрогенуванні олеїнової кислоти утворюються ізомери транс-6, 7, 8 і 10 (Loor et al., 2002). Однак, згодом встановлено, що рубцева мікрофлора здатна успішно конвертувати олеїнову кислоту в транс-11 С18:1 ізомер при сприятливих умовах в рубці, тобто рН 6,5 і швидкості розчинення 0,10/годину (AbuGhazaleh et al., 2005). Таким чином, у ріпаковому насінні є три субстрати, які здатні продукувати транс-11 ізомер, причому концентрація лінолевої кислоти, до якої найбільш чутлива *B. fibrisolvens* та резистентна *M. elshdenii*, є помірною, однак достатньо високою для продукування транс-11 ізомеру, бо саме вона є основним його джерелом.

По-третє, заміна частини крохмалю в раціонах жиром, що було умовою нашого дослідження, сприяє попередженню перерозподілу мікрофлори в рубці на користь *M. elshdenii*, оскільки популяція рубця особливо чутлива до змін кількості крохмалю. Важливо відзначити, що для високопродуктивних корів, це має особливо вагомим значення, оскільки підвищення енергетичної цінності

раціонів за рахунок жиру замість неструктурних вуглеводів попереджує й інші метаболічні порушення (Вудмаска, 2008).

По-четверте, збільшення частки ненасичених жирних кислот сприяє акумуляції транс-ізомерів в рубці, тобто знижує активність редуктаз, що важливо для збільшеного переходу транс-11 ізомерів в дуоденум (Harvatine & Allen, 2004).

По-п'яте, високий вміст токоферолів у складі насіння ріпаку сприяє розвитку *B. fibrisolvens*.

З другої сторони, форма ліпідної добавки, яку ми пропонуємо – грубо розмелене насіння, забезпечує повільне вивільнення жирних кислот з ТАГ, а надто швидкий ліполіз також сприяє утворенню транс-10 ізомерів (Loor et al., 2004). Крім того, вагоме значення має й те, що часточки насіння, на відміну від олії, сприяють прикріпленню бактерій (Martin et al., 2002). Це особливо важливо для целюлозолітичної мікрофлори, до якої належить *B. fibrisolvens*, адже мікробна популяція, асоційована з кормовими часточками, забезпечує від 70 до 91 % ензиматичної активності (Miron et al., 2001).

Ще один важливий аспект нашої роботи – дослідження постійності продукування транс-11 ізомерів на тлі згодовування ріпакового насіння. Адже в літературі є достатньо повідомлень, які вказують на істотне зниження рівня транс-11 ізомерів при тривалому згодовуванні ненасичених жирних кислот (Dhiman et al., 2000; Whitlock et al., 2002; AbuGhazalech et al., 2004), що пов'язано з часом, необхідним для адаптації рубцевої мікрофлори. Однак, при цьому автори приводять різні дані щодо настання «піку» продукування транс-11 ізомерів – від 5-ти до 21-го дня. У зв'язку з цим, ми поставили завдання дослідити рівень утворення вказаного ізомеру після 21-го дня та до 42-го дня згодовування насіння ріпаку, коли, звичайно, усі адаптаційні процеси завершуються. Наші результати засвідчують, що впродовж вказаного періоду, не відбувається зниження продукування транс-11 ізомеру, при цьому також не спостерігається включення «зсуву» основних біогідрогенізаційних шляхів.

Недавніми дослідженнями встановлено, що вітамін Е може нівелювати зсув біогідрогенування шляхом підтримання росту і функціонування бактерій, що продукують транс-11 ізомери. Це проявляється у підвищенні вмісту жиру в молоці і у зростанні у його складі концентрації транс-11 ізомерів C18:1 та у зниженні частки транс-10 ізомерів, коли додавали вітамін Е до раціонів із високим вмістом ПНЖК (Pottier et al., 2006). Подібну роль може відігравати і β -каротин. Гайно і співавтори (Hino et al., 1993) встановили, що додавання сафлорової олії до культури суміші рубцевих бактерій пригнічує їх розвиток,

однак, додавання β -каротину і α -токоферолу в дозі 5 мг/л кожного рівелює інгібування. Крім того, додавання β -каротину і α -токоферолу відновлює перетравлення целюлози за рахунок стимулювання росту целюлозолітичних бактерій, які сприяють транс-11 біогідрогенізаційним шляхам (Martin & Jenkins, 2002).

Таблиця 1.5

Склад жирних кислот ліпідів плазми крові корів при згодовуванні насіння сорту Дангал, % загальної кількості жирних кислот ($M \pm m$, $n=6$)

Код жирних кислот	Періоди дослідю					
	Підготовчий		Дослідний			
			3 тижні згодовування		6 тижнів згодовування	
	К	Д	К	Д	К	Д
12:0	0,24± 0,05	0,20± 0,02	0,24± 0,01	0,18± 0,03	0,55± 0,17	0,27± 0,03
14:0	1,38± 0,12	1,30± 0,06	1,32± 0,09	1,18± 0,16**	2,22± 0,56	1,29± 0,11***
14:1	0,37± 0,06	0,39± 0,05	0,38± 0,06	0,38± 0,02±	0,35± 0,03	0,34± 0,04
15:0	0,88± 0,03	0,87± 0,05	0,87± 0,03	0,82± 0,04	0,96± 0,03	0,77± 0,02
16:0	15,59± 0,43	14,99± 0,33	13,69± 0,46	13,10± 0,60	15,75± 0,90	12,99± 0,12*
16:1	1,49± 0,12	1,56± 0,12	1,16± 0,11	1,38± 0,17***	1,14± 0,082\	1,09± 0,08
17:0	1,57± 0,134	1,62± 0,120	1,29± 0,262	1,39± 0,038	1,93± 0,033	1,69± 0,108*
17:1	0,42± 0,03	0,51± 0,05	0,37± 0,02	0,44± 0,04	0,36± 0,04	0,35± 0,06
18:0	16,70± 0,49	16,42± 0,46	16,85± 0,44	17,25± 0,48	17,38± 0,56	17,83± 0,53
6t-18:1	0,23± 0,01	0,21± 0,06	0,16± 0,006	0,24± 0,009***	0,21± 0,007	0,29± 0,008***
9t-18:1	0,14± 0,07	0,11± 0,04	0,11± 0,003	0,15± 0,05	0,13± 0,004	0,15± 0,013

<i>Продовження табл. 1.5</i>						
10t-18:1	0,13± 0,02	0,13± 0,003	0,096± 0,002	0,095± 0,005	0,12± 0,003	0,10± 0,01
11t-18:1	0,26± 0,02	0,27± 0,005	0,298± 0,006	0,52± 0,03***	0,26± 0,06	0,59± 0,01***
6c-18:1	0,83± 0,02	0,75± 0,06	0,75± 0,03	0,57± 0,006***	0,79± 0,01	0,67± 0,03**
9c-18:1	11,18± 0,14	12,12± 0,89	9,82± 0,38	13,48± 0,63***	10,30± 0,58	10,84± 1,10
11c-18:1	1,69± 0,27	1,73± 0,21	1,45± 0,26	1,40± 0,15	1,31± 0,22	1,19± 0,21
12c-18:1	0,79± 0,05	0,96± 0,05	0,93± 0,14	0,81± 0,14	0,71± 0,09	0,80± 0,14
18:2	37,17± 0,60	37,40± 1,45	41,47± 0,69	38,04± 2,26**	37,10± 1,75	40,32± 1,78
18:3 n-6	0,91± 0,12	0,87± 0,13	1,07± 0,15	0,86± 0,09	0,87± 0,16	0,82± 0,11
18:3 n-3	1,76± 0,16	1,84± 0,24	1,56± 0,09	1,98± 0,08***	1,66± 0,11	2,22± 0,05***
20:3	2,25± 0,17	1,70± 0,09*	2,67± 0,15	1,89± 0,10***	2,90± 0,24	2,15± 0,16
20:4	2,17± 0,010	2,21± 0,15	1,91± 0,0835	1,97± 0,15	1,81± 0,10	1,85± 0,12
24:0	0,08± 0,002	0,08± 0,001	0,08± 0,005	0,07± 0,002	0,08± 0,001	0,13± 0,02
20:5	0,47± 0,03	0,502± 0,02	0,28± 0,03	0,40± 0,03*	0,176± 0,04	0,28± 0,02*
24:1	0,059± 0,003	0,064± 0,002	0,05± 0,005	0,05± 0,002	0,04± 0,002	0,08± 0,05**
23:0	ND	0,12± 0,001	0,08± 0,001	0,09± 0,002	0,07± 0,001	ND
22:5	0,66± 0,09	0,58± 0,09	0,56± 0,05	0,59± 0,03	0,41± 0,02	0,40± 0,03
22:6	0,57± 0,01	0,56± 0,04	0,47± 0,04	0,64± 0,04*	0,36± 0,02	0,47± 0,02**

На сьогодні механізм такого впливу вітаміну Е не встановлений. У попередніх дослідженнях Г'юджіс і Тав ідентифікували у *B. fibrisolvens* компоненти структурно близькі до α -токоферолквінолу і деокси- α -токоферолквінолу, які є донорами електронів в процесі біогідрогенування РК до ВК (Hughes & Tove, 1980). В цьому контексті вітамін Е може діяти різними шляхами, допомагаючи *B. fibrisolvens* протистояти дії ненасичених жирних кислот: по перше, може відігравати роль донорів електронів, поставляючи електрони для відновлення цис-зв'язків в кон'югованих дієнах, по-друге, вітамін Е може бути метаболізованим до донорів електронів рубцевими мікроорганізмами (Pottier et al., 2006). Крім того, запропоновано гіпотезу, що вітамін Е інгібує ріст і функції бактерій, які продукують транс-10 C18:1, однак вона також потребує експериментального підтвердження.

Зсув шляхів біогідрогенування є не єдиним механізмом розвитку МЖД, автори роблять висновок, що МЖД є мультиетіологічним синдромом. МЖД, пов'язана із порушеннями у процесах біогідрогенування, призводить лише до зменшення жиру в молоці максимально до 50%, що кидає виклик експоненційній моделі з одним пулом залежності (Matamoros et al., 2020).

1.4.8. Вплив довголанцюгових жирних кислот на утворення метану

В останні роки також приділяють увагу дослідженням впливу довголанцюгових жирних кислот на метаноутворюючі функції *Methanobacterium ruminantium*. Метан є потенційним тепличним газом, і тому зниження виділення його жуйними та підвищення ефективності засвоєння кормової енергії є ефективними напрямками для послаблення глобального потепління згідно із Intergovernmental Panel on climate change, 1995. Близько 6% від загального споживання енергії, що втрачається із утвореним метаном, може бути спрямовано на підвищення маси чи молочну продуктивність (Johnson et al., 2002). Маніпуляції із кормом для корів з метою підвищення молочної продуктивності може знизити загальне виділення метану в атмосферу на одиницю продукції молока (Johnson & Johnson, 1995).

Продукція метану *in vitro* знижується при додаванні кокосової, ріпакової чи олії з печінки тріски. Механізм зниження виділення метану при додатковому надходженні ненасичених жирних кислот полягає у можливій потенційній втраті гідрогену (для насичення кислот), що інгібує рубцевий метаногенез, або через зниження перетравлення целюлози (Dong et al., 1997).

Слід зазначити, що ТАГ не гальмують ріст метаноутворюючих культур, оскільки вони не мають вільних карбоксильних груп. В основі інгібуючої дії

лежать механізми, характерні для інших видів рубцевої мікрофлори. Тому, поряд із пригніченням *Methanobacterium ruminantium* ненасиченими жирними кислотами у рубцевому середовищі, пригнічення зазнають бактерії і інших видів, зокрема ті, що забезпечують гідролітичні процеси – ліполітичні, целюлозолітичні, протеолітичні, а також процеси біогідрогенізації ненасичених жирних кислот (Solomon et al., 2000).

1.5. Баланс ліпідів, що проходять через рубець

Абсорбція довголанцюгових жирних кислот корму рубцевим епітелієм і катаболізм в стінці рубця, зокрема пальміату до кетонових тіл (Jackson et al., 1968) чи перетворення шляхом α -окиснення в C15, а згодом шляхом β -окиснення в C13-кислоти (Emmanuel, 1978) є незначною. Мінімальним є також катаболізм довголанцюгових жирних кислот рубцевими бактеріями до летких жирних кислот і CO₂. Про це свідчать, зокрема, результати інкубації жирних кислот з рубцевими бактеріями в умовах *in vitro* (Wu et al., 1991) та *in vivo* (Wood et al., 1963), згідно з якими розпад довголанцюгових жирних кислот до CO₂ і ЛЖК становить менше 1%. На підставі цього було зроблено висновок, що довголанцюгові жирні кислоти не є постачальниками енергії для рубцевих бактерій (Maczulak et al., 1981).

Жир знижує ефективність нагромадження мікробної біомаси і/або знижує популяцію протист і фібролітичних бактерій (Dunkley et al., 1977). Натомість найпростішими, особливо голотрихами деяка кількість ліпідів включається в клітинні ліпіди, а також катаболізується (Williams & Coleman, 1988).

Потік ліпідів до дуоденуму складається із трьох частин: ліпіди корму, ліпіди рубцевої мікрофлори і ліпіди злущених епітеліальних клітин. Як свідчать результати 15 досліджень ефективності синтезу ліпідів мікроорганізмами рубця за відношенням потоку ліпідів в дуоденум до кількості спожитих ліпідів, вона становить для контрольних тварин і тварин, які отримували ліпідні добавки, відповідно, у корів 60,5 і 17,8 г/день і овець 5,5 і 1,9 г/день. Опираючись на ці результати, був визначений коефіцієнт регресії, який становить 0,92, тобто втрати ліпідів в рубці становлять 8 г/100 г спожитих ліпідів (Jenkins, 1993).

Марфі і співавтори при згодовуванні лактуючим коровам подрібненого насіння ріпаку встановили, що синтез мікробних ліпідів знижується із 17% у корів, які не отримували ліпідну добавку, до 10 і 0% у корів, яким згодовували 1 і 2 кг насіння, відповідно (Murphy et al., 1987). Синтез ліпідів *de novo* знижується в результаті поглинання екзогенних ліпідів мікробними клітинами.

1.6. Регулювання дуоденального потоку ненасичених жирних кислот

Оскільки концепція здорового харчування людини вимагає зниження насиченості жирних кислот ліпідів молока і м'яса, то досягнення збільшення потоку ненасичених жирних кислот до дуоденуму є важливою проблемою. Крім того, дані про регуляцію тканинного метаболізму у багатьох видів тварин ненасиченими жирними кислотами також вказують на актуальність цієї проблеми. Зокрема, поліненасичені жирні кислоти впливають на транспорт глюкози і швидкість ліпогенезу у адипоцитах (Chilliard et al., 1991).

Рубець є бар'єром для надходження ненасичених жирних кислот в дуоденум. Гідрогенування ненасичених жирних кислот корму рубцевими мікроорганізмами збагачує дуоденальне вмістиме насиченими жирними кислотами, які там абсорбуються, і надходять до тканин.

В досліджах Wu і співавторів встановлено, що згодовування суміші тваринного і рослинного жиру, що містить 59% ненасичених жирних кислот лактуючим коровам, збільшує споживання лінолевої кислоти із 171 до 269 г/добу, при цьому в дуоденальному вмістимому її концентрація зростає лише з 45 до 54 г/добу (Wu et al., 1991). Це показує, що лише частина ненасичених жирних кислот корму уникає гідрогенування в рубці, і що великі кількості незахищених ПНЖК в раціоні лише незначно підвищують їх абсорбцію.

В досліджах Лура і співавторів, які вивчали вплив кількості концентратів у взаємодії із лляною олією на поступлення ненасичених жирних кислот в тонкий кишківник, показано, що на низькоконцентратних раціонах підвищення споживання лінолевої кислоти за рахунок лляної олії із 96,7 до 180,9 г/день зумовлює підвищення дуоденального потоку цієї кислоти лише із 28,21 до 37,53 г/день, тоді як на висококонцентратних раціонах підвищення надходження лінолевої кислоти із 142,2 до 238,7 г/день сприяло підвищенню дуоденального потоку цієї кислоти із 47,7 до 125,5 %. При згодовуванні лляної олії значно зростає потік цис-9, транс-11 КЛК – майже втричі. Істотніше зростає потік транс-11 C18:1 – на низькоконцентратних раціонах втричі при включенні лляної олії до раціонів, а на висококонцентратних раціонах більше ніж у п'ять разів, що становить 138,8 г/день. Правда, спостерігається зростання і транс-10 C18:1, не настільки стрімке як попереднього ізомеру. Слід відзначити, що на висококонцентратних раціонах без ліпідної добавки, потік транс-10 C18:1 був майже в 14 разів вищий. Щодо транс-10, цис-12 C18:2, то її зростання є незначним. Надходження ліноленової кислоти до тонкого кишківника становило 3,4 і 7,1 % від її споживання при згодовуванні лляної олії на низько- і висококонцентратному раціоні, відповідно (Loor et al., 2004).

Отже, ступінь уникнення рубцевого гідрогенування кормових ненасичених жирних кислот залежить від умов росту рубцевих мікроорганізмів, ферментами яких здійснюється ліполіз і біогідрогенування. В інших роботах також встановлено, що при згодовуванні зерна знижується рівень рубцевого біогідрогенування і підвищується ступінь ненасиченості жиру м'яса і молочного жиру (Kemp et al., 1991).

1.7. Технології захисту ненасичених жирних кислот

Для захисту ненасичених жирних кислот від рубцевого біогідрогенування запропоновано декілька технологій. Їхня ефективність характеризується ступенем захисту від метаболізму рубцевими бактеріями і відповідно пострумiнальною доступністю (Wu & Papas, 1997). Такими технологіями є згодовування кальцієвих солей, жирнокислотних амідів, формальдегід-протеїновий матричний захист, ліпідна інкапсуляція (Perfield et al., 2004).

Форма жирних кислот для виготовлення таких добавок є різною, різними є також технологічні процеси, що впливає на вартість. Наприклад, для виробництва кальцієвих солей чи простих амід-захищених добавок стартовим матеріалом є вільні жирні кислоти. Однак, інші амід-захищені добавки виготовляють із олій (Jenkins, 1998). Формальдегідний захист чи ліпідне інкапсулювання вимагає метил-ефірів жирних кислот або інших форм (Perfield et al., 2004).

Одним і з найпоширеніших способів є інкапсулювання в білково-формальдегідні оболонки. В кислому середовищі сичуга захисна оболонка руйнується, звільнений білок нормально перетравлюється, а жирні кислоти активно всмоктуються у слизовій оболонці тонкого кишківника (Banks et al., 1990). Ця технологія дозволяє значно підвищити абсорбцію ненасичених жирних кислот і супроводжується підвищенням кількості ненасичених жирних кислот в м'ясі і молоці (Hogan & Hogan, 1976; Bines et al., 1978; Banks et al., 1990; Вовк і ін., 2006). Інкапсуляція ліпідів у білково-формальдегідну оболонку надійно захищає жир і ненасичені жирні кислоти від розпаду в рубці (Zim et al., 2000).

Водночас є повідомлення про те, що захист рослинних жирів у формі білково-формальдегідних комплексів іноді буває малоефективним внаслідок фізичного розщеплення продукту під час жування в ротовій порожнині, а також незадовільного контролю за процесом обробки (Knight et al., 1978). Повідомляється також про високі затрати на виготовлення таких ліпідно-білково-формальдегідних кормових добавок (Chilliard et al., 2000).

Використання у складі раціонів корів насіння ріпаку, обробленого формальдегідом, не впливає на молочну продуктивність і вміст білка в молоці, тоді як рівень ненасичених жирних кислот у ліпідах молока підвищується (Ashes et al., 1992). Однак, в останні роки з доведенням канцерогенної дії формальдегіду, використання його у тваринництві в ряді країн заборонено (World World Health Organization, 2004).

Інші види інкапсуляції кормових добавок, наприклад, альгінатом кальцію, виявилися малоефективними (Ekeren et al., 1992).

Наступний спосіб захисту ненасичених жирних кислот від рубцевої біогідрогенування – це виготовлення на їхній основі кальцієвих солей. Кальцієві солі жирних кислот використовуються як комерційні жирові добавки для дійних корів і їхньому застосуванню присвячено багато експериментів (Klusmeyer & Clark, 1991; Giesy et al., 2002; Bernal-Santos et al., 2003). Менший рівень біогідрогенування зумовлений лімітованою кількістю вільних карбоксильних груп, що є необхідною його умовою. Вільні карбоксильні групи необхідні для дії бактеріальної ізомерази, яка ініціює біогідрогенування. Однак, є дані, що лінолеат кальцію, який згодовували вівцям, не приводить до збільшення потоку ненасичених жирних кислот до дуоденуму (Fotouhi & Jenkins, 1992), що підтверджено і в інших роботах (Harvatine & Allen, 2004). Це пояснюється тим, що має місце дисоціація кальцієвих солей, і біогідрогенування відбувається, незважаючи на відсутність вільних карбоксильних груп (Sakhija & Palmquist, 1990). В тонкому кишечнику наявність солей жирних кислот стає небажаним в результаті поганого всмоктування нерозчинних кальцієвих миль (Енсер, 1987).

Дані щодо ефективності способів захисту ненасичених жирних кислот від рубцевого біогідрогенування є суперечливими. Є повідомлення про їх високу ефективність. Наприклад, здійснено порівняльний аналіз двох методів захисту ненасичених жирних кислот від рубцевого біогідрогенування – згодовування їх у вигляді кальцієвих солей чи оброблених формальдегідом, для цього використовували транс-10, цис-12 КЛК (deVeth et al., 2005). Показано, що застосування обох методів обробки забезпечує досить надійний захист від рубцевого метаболізму КЛК, про що свідчить зниження продукції молочного жиру в середньому на 34 на 44% при згодовуванні кальцієвих солей і формальдегідзахищених жирних кислот, відповідно. Ефективність переходу цієї ізомерної форми у молочні ліпіди становить 3,2 і 7,0%, відповідно для захисту йонами кальцію і формальдегідом.

В останній час транс-10, цис-12 ізомер КЛК застосовують для встановлення ефективності різних методів захисту ненасичених жирних кислот

від рубцевого метаболізму. Згодовування кальцієвих солей КЛК забезпечувало значне поступлення транс-10, цис-12 ізомеру в пострумінальному потоці та пригнічення синтезу молочного жиру (Giesy et al., 2002; Bernal-Santos, 2003; Moore et al., 2004), що вказує на ефективний захист від біогідрогенування рубцевою мікрофлорою.

Ще один спосіб захисту ПНЖК – це перетворення вільних жирних кислот у жирнокислотні аміді. Аміді утворюються при взаємодії карбоксильної групи стеаринової кислоти із аміногрупами метіоніну, аміді є стійкими до рубцевої деградації і підвищують надходження метіоніну до дуоденуму (Klusmeyer et al., 1991).

Фотухі і Дженкінс показали, що лінолеат метіоніну є також резистентним до деградації *in vitro* і зникнення лінолевої кислоти зменшується при культивуванні приблизно в 10 разів (Fotouhi & Jenkins, 1992). Резистентність амідів до бактеріальної трансформації пояснюється стеричною позиційною перешкодою заміщеним амідним зв'язком (Steen & Collette, 1989). Згодовування лінолеоїлу метіоніну вівцям підвищує потік ненасичених жирних кислот до дуоденуму, що приводить до зростання вмісту C18:2 в плазмі крові (Fotouhi & Jenkins, 1992). Екскреція ненасичених жирних кислот з калом при цьому не зростає, що свідчить про нормальне перетравлення амідів жирних кислот в тонкому кишківнику.

Інкапсулювання в ліпідну оболонку також застосовують для захисту ненасичених жирних кислот в рубці. Однак, дослідженням ефективності цього методу, порівнюючи з попередніми, присвячено значно менше уваги. Результатами досліджень щодо порівняння ефективності методів захисту амідами і ліпідною оболонкою встановлено, що згодовування КЛК добавки амід-захищеної і ліпід-захищеної в дозі 10 г/день викликає зниження синтезу молочного жиру на 21 і 22%, а ефективність переходу цього ізомеру в молочні ліпіди складає 7,1 і 7,2%, відповідно, тобто ці два методи приблизно є еквівалентними (Perfield et al., 2004).

Вивчаються й інші стратегії для підвищення надходження до дуоденуму ненасичених жирних кислот. Однією із таких стратегій є додавання насіння олійних, можливий захист ненасичених жирних кислот полягає у наявності твердої зовнішньої оболонки (Baldwin & Alison, 1983). Однак, Кіл і співавтори повідомляють про відсутність захисту від біогідрогенування цільного насіння бавовни, головним чином завдяки склеювання оболонок насіння (Keele et al., 1989).

Марфі і співавторами встановлено підвищення біогідрогенування олеїнової кислоти при включенні до раціонів лактуючих корів розмеленого насіння ріпаку із зростанням його кількості від 1 до 2 кг, однак біогідрогенування лінолевої і ліноленової кислоти було стабільним і складало 85% (Murphy et al., 1987). В подальших дослідженнях Марфі і співавтори (Murphy et al., 1990) встановили значні зміни у жирнокислотному складі ліпідів молока при згодовуванні екструдованого соєвого насіння, а також цілого і розмеленого (більш виражені) ріпакового, що проявилися у зниженні вмісту насичених жирних кислот. Так само, Соломон і співавтори, згодовуючи насіння ріпаку ягнятам, встановили позитивний ефект, який проявився у зниженні насиченості жирних кислот у тканинах (Solomon et al., 1991). Однак, є й результати, які заперечують значний ефект згодовування насіння олійних на жирнокислотний склад і якість м'яса (Huerta-Leidenz et al., 1991).

Нашими дослідженнями встановлено, що згодовування розмеленого насіння ріпаку (розмір часточок біля 1 мм) у кількості 1,2 кг/добу, завдяки чому, як вже було зазначено вище зростає споживання мононенасичених жирних кислот від 115,7 у контрольній групі до 307,9 г/добу у дослідній групі, а ПНЖК – від 229,2 до 373,0 г/добу, відповідно, призводить до підвищення співвідношення між ненасиченими і насиченими жирними кислотами у плазмі крові на 18,7% через 6 тижнів згодовування (табл. 1.6). Частка ПНЖК при цьому зростає з 45,3 у контрольній до 48,6% у дослідній групі від загальної кількості жирних кислот, а сума транс-С18:1 ізомерів збільшується від 0,72 до 1,04% відповідно (Цісарик & Дроник, 2010).

Таблиця 1.6

Характеристика складу жирних кислот ліпідів плазми крові корів при згодовуванні насіння сорту Дангал, % загальної кількості жирних кислот ($M \pm m$, n=6)

Показники	Періоди дослідю					
	Підготовчий		Дослідний			
			3 тижні згодовування		6 тижнів згодовування	
	К	Д	К	Д	К	Д
Сума насичених	36,45± 0,38	35,62± 0,47	34,42± 0,44	34,09± 0,37	38,95± 1,31	34,97± 0,57*

<i>Продовження табл. 1.6</i>						
Сума ненасичен.	63,55± 0,38	64,47± 0,44	65,58± 0,64	65,91± 0,37	61,05± 1,31	65,03± 0,53*
Ненас./ Насич.	1,744± 0,03	1,810± 0,03	1,906± 0,04	1,933± 0,003	1,567± 0,08	1,860± 0,04*
Сума C12–C16	17,21± 0,46	16,49± 0,34	15,24± 0,24	14,46± 0,16*	18,52± 1,55	14,55± 0,26*
ПНЖК	45,98± 0,56	45,66± 1,37	50,01± 0,83	46,39± 2,13	45,32± 2,02	48,64± 1,72
Сума C18	71,78± 0,55	72,82± 0,29	74,34± 0,63	75,41± 0,84	70,83± 1,36	75,85± 0,30**
Сума n-6	43,18± 0,54	42,75± 1,35	47,69± 0,81	45,39± 0,28*	43,08± 1,97	44,85± 1,87
Сума n-3	2,80± 0,18	2,90± 0,06	2,32± 0,10	2,99± 0,11**	2,17± 0,19	2,97± 0,06**
n-3/n-6	0,0649± 0,004	0,0682± 0,002	0,0487± 0,002	0,0658± 0,002***	0,0515± 0,002	0,0657± 0,004**
Сума непарних	2,87± 0,11	3,0± 0,21	2,53± 0,27	2,65± 0,13	3,26± 0,12	2,80± 0,19
Сума 3n	4,92± 0,12	4,41± 0,27	5,31± 0,23	4,73± 0,11*	5,42± 0,35	5,18± 0,23
Сума 5n	1,14± 0,11	1,08± 0,10	0,85± 0,04	1,00± 0,04*	0,59± 0,02	0,68± 0,03*
Сума транс- 18:1	0,746± 0,04	0,726± 0,05	0,67± 0,11	1,01± 0,04*	0,72± 0,01	1,04± 0,02***

1.8. Засвоєння жирних кислот в тонкому кишечнику

Фізичні властивості жирової емульсії, яка надходить в кишечник, змінюються після змішування із жовчю, ензимами підшлункової залози і тонкого кишечника. Жовчні кислоти мають детергентні властивості, оскільки одна сторона жорсткої структури стерольного ядра є гідрофобною. Ця поверхня взаємодіє із гідрофобною поверхнею ліпідної кульки, а гідрофільні групи жовчних кислот, що знаходяться на другій поверхні стерольного ядра, взаємодіють із водним середовищем. Молекули жовчних кислот нагромаджуються на поверхні ліпідної кульки, витісняючи інші поверхнево-активні сполуки, надаючи їй негативний заряд. До поверхні такої кульки

притягується коліпаза, яка відповідальна за втримання на поверхні підшлункової ліпази, для стимуляції якої необхідні іони кальцію (Бриндли, 1987).

Панкреатична ліпаза гідролізує жирні кислоти в позиціях 1 і 3 з утворенням 2-моноацилгліцеролів, у жуйних тварин мікробні ліпази відповідальні за повний гідроліз ТАГ до гліцеролу і жирних кислот (Borgstrom, 1974).

Сік підшлункової залози також містить фосфоліпази, естерні гідролази карбонових кислот, які діють на цілий ряд естерних зв'язків, в тому числі, естери холестеролу і естери жиророзчинних вітамінів. Весь процес перетравлення полягає у перетворенні ліпідів у більш полярні похідні, які здатні взаємодіяти з водою. Ліпіди в просвіті кишечника перебувають у рівновазі між жировою і міцелярною фазами. Іонізовані жирні кислоти поступово відділяються від жирових кульок і включаються в міцели, чому сприяє поступове підвищення рН в міру просування до дистальних ділянок тонкого кишечника.

Факторами, які здійснюють вплив на перетравність є швидкість формування міцел і/або продукція жовчі, що значно коливається залежно від ступеня насиченості і довжини ланцюга, а також від абсорбційної здатності слизової тонкого кишечника (Loor et al., 2004).

В загальному, перетравність насичених жирних кислот зростає із зростанням довжини ланцюга, а ненасичені жирні кислоти краще перетравлюються, порівнюючи із насиченими (Doreau & Chilliard, 1997). Перетравність насичених жирних кислот знижується, коли кількість жиру в раціоні досягає 1000 г/день (Weisberg et al., 1992). Середня перетравність загальних транс-С18:1 і загальних цис-С18:1 ізомерів становить 93 і 89% (Scollan et al., 2001; Loor et al., 2004). Доро і Фірлей приводить нижчі показники перетравності цих ізомерів – 85% (Doreau & Ferlay, 1994). Ці дані вказують на перетравність жирних кислот ліпідних добавок у вигляді олії, тоді як вони не можуть бути застосовані до ліпідних добавок у вигляді насіння, оскільки насіння має оболонку, яка може перешкоджати нормальному перетравленню і абсорбції.

Щодо інтестинальної перетравності С18:2 і С18:3 ізомерів, то в літературі є такі повідомлення. Перетравність С18:2 зменшується лінійно, а перетравність С18:3, на противагу, зростає із зростанням рівня грубих кормів в раціоні (Kucuk et al., 2001). Вища перетравність встановлена як для С18:2, так і для С18:3 при зростанні кількості концентрованих кормів в раціоні (Loor et al., 2004). Важливо відзначити, що видима інтестинальна перетравність цис-9, транс-11 КЛК ізомеру є дуже низькою, порівнюючи із іншими ізомерами, вона становить від 32,3 до 69,3%, досягаючи максимального значення при високій кількості концентратів і ліпідній добавці у дослідах Лура і співавторів (Loor et al., 2004). Подібні

результати також були отримані Дорю у досліджах на вівцях (Doreau et al., 2003). Однак, можливість синтезу цього ізомеру в прямій кишці із C18:2 n-6, може компенсувати таку низьку перетравність, проте експериментально це не підтверджено.

Опираючись на результати досліджень, які показали зниження споживання корму, вплив на концентрацію глюкози, ЛЖК і інших метаболітів навіть тоді, коли довголанцюгові жирні кислоти інфузують пострумінально з метою виключення ефекту пригнічення рубцевої ферментації було висловлено припущення, що довголанцюгові жирні кислоти впливають на метаболізм у стінці кишечника і печінці, і саме це може впливати на продуктивність тварин, зокрема, зниження надоїв.

Однак, Бенсоном і співавторами було показано, що зміни продуктивності лактуючих корів більшою мірою пов'язані із зниженням споживання корму, ніж із змінами метаболізму нутрієнтів у стінці кишечника і печінці при збільшеному надходженні довголанцюгових жирних кислот (Benson et al., 2002). В дослідженнях Бенсона і співавторів лактуючим коровам було інфузовано абомазально 400 г/день суміші 50:50 соняшникової і ріпакової олії із вмістом ненасичених довголанцюгових жирних кислот 91% у складі ТАГ і відібрано зразки крові з мезентеральної артерії, печінкової порталльної вени і печінкової вени. При цьому встановлено підвищення потоку крові у кишечнику і печінці, однак не зареєстровано змін у використанні кисню. Інфузування олії не вплинуло на утворення CO₂, β-гідрооксимаєляної кислоти, L-лактату, які є продуктами метаболізму ЛЖК і глюкози в стінці кишечника. Це свідчить про те, що метаболічна активність стінки кишечника знаходиться під більшим контролем споживання корму і енергії ферментації, аніж загальної метаболічної енергії і інфузії олії, а також про те, що підвищення потоку крові не є наслідком змін метаболічної активності кишечника.

Груммером і Карролом було показано, що жирові добавки знижують окиснення глюкози, тим самим економлячи її для синтезу лактози (Grummer & Carrol, 1991), що проявляється у відсутності змін молочної продуктивності на фоні зниження споживання корму і зниженні продукції глюкози в печінці (Benson et al., 2001, 2002). Показано, що збільшення надходження олії в сичуг знижує звільнення глюкози печінкою, однак при цьому не змінюється надходження ЛЖК до печінки, що свідчить про інгібування синтезу глюкози в печінці незалежно від надходження попередників. При цьому інфузія олії в сичуг сприяє підвищеному споживанню L-лактату печінкою, що може свідчити про неглюкогенне використання лактату (Benson et al., 2002), а також інших

попередників, зокрема, пірувату (Lomax & Baird, 1983). В експериментах *in vitro* показано, що довголанцюгові жирні кислоти (пальміат і олеат) стимулюють глюконеогенез із пропіонату гепатоцитами овець, кіз і телят без змін глюкогенного використання L-лактату (Aiello & Armentano, 1988).

Таким чином, опираючись на результати досліджень Бенсон і співавтори заключили, що зниження продукції глюкози печінкою при інфузії ДЛЖК в сичуг є наслідком зниження споживання корму або зниженням потреби глюкози, а не порушенням метаболізму печінки (Benson et al., 2002).

Це підтверджується результатами, отриманими Дреклі і співавторів про тенденцію лінійного зниження концентрації глюкози в плазмі крові із зростанням ступеня ненасиченості і збільшення ланцюга інфузованих жирних кислот, що є також атрибутом зниження рівня споживання корму (Drackley et al., 1992).

Використання НЕЖК печінкою при інфузуванні довголанцюгових жирних кислот в сичуг підвищується, очевидно, завдяки зростанню артеріальної концентрації НЕЖК і більшому надходженні з кишечника, однак при цьому не змінюється продукція печінкою β -гідрооксибутирату, який є продуктом метаболізму НЕЖК і бутирату (Benson et al., 2002).

Гідролізовані ліпіди в міцелярній формі переносяться до поверхні ентероцитів, де перед всмоктуванням вони зустрічають дві перешкоди – шар води на поверхні мембран мікроворсинок, який зумовлює основний швидкіснолімітуючий фактор в процесі абсорбції (Dietschy et al., 1978). Друга перешкода – це контакт міцели з ліпідною мембраною, транспорт через яку здійснюється без затрат енергії. Більша частина ліпідів всмоктується в голодній (порожній) кишці (Бриндли, 1987).

Всмоктування ліпідів в ентероцити залежить від тривалості встановлення градієнта дифузії. Після поступлення в клітини ентероцитів жирні кислоти зв'язуються з внутрішньоклітинними білками. В першу чергу зв'язуються довголанцюгові ненасичені жирні кислоти, які мають переваги перед кислотами з коротким чи середнім ланцюгом. Жирні кислоти з коротким ланцюгом дифундують у водну фазу і всмоктуються значно швидше, ніж довголанцюгові кислоти. Тому ферменти, відповідальні за активацію і реестифікацію жирних кислот діють, в основному, на кислоти з довгими ланцюгами (Ockner et al., 1972).

Другим шляхом підтримання внутрішнього градієнту дифузії є повторна естерифікація ліпідів, які всмокталися, ця фаза потребує енергії АТФ, при цьому утворюються КоА-похідні жирних кислот. У жуйних як акцептор жирних кислот

під час ресинтезу ліпідів використовується гліцерол-3 фосфат, або дигідрооксиацетонфосфат (Бриндли, 1987).

Важливою умовою для транспорту новосинтезованих в ентероцитах тонкого кишечника ліпідів є наявність стабільної фізичної форми, необхідної для існування у водному середовищі, що досягається оболонкою із більш амфіфільних компонентів. Таким чином, формуються хіломікрони, які транспортуються в кишечну лімфу і через ворітну вену надходять у печінку. У печінці з хіломікронів вивільнюються жирні кислоти, які естерифікуються у ТАГ, включаються до складу ліпопротеїнів дуже низької щільності і повертаються в кров'яне русло. Частина хіломікронів надходить у тканини організму минаючи печінку. При проходженні через капіляри тканин, в тому числі, молочної залози, хіломікрони і ліпопротеїни взаємодіють з ліпопротеїніліпазою, яка фіксується до стінок капілярів за допомогою ланцюгів глюкозаміногліканів, що зумовлює взаємодію між ліпопротеїнами і хіломікронами та ферментом та підвищує швидкість гідролізу ліпідів (Schrecker & Greten, 1979).

Таким чином, компоненти раціону, зокрема, ліпіди у жуйних піддаються значним перетворенням у рубці мікроорганізмами. При цьому відбувається трансформація жирних кислот, які в майбутньому адсорбуються в тонкому кишківнику і у складі ліпопротеїнів надходять до молочної залози, де використовуються як попередники для синтезу молочного жиру.

Як вже було зазначено, жирні кислоти молочних ліпідів поділяються на три групи: коротколанцюгові, які синтезуються безпосередньо в клітинах молочної залози із попередників – ЛЖК, утворених під час рубцевої ферментації; середньоланцюгові, які можуть синтезуватися в клітинах молочної залози або бути гуморального походження і довголанцюгові, які є гуморального походження. Попередниками для синтезу жирних кислот в молочній залозі *de novo* із парною кількістю карбонів і нерозгалуженим ланцюгом слугують ацетат і β -гідрооксибутират, для синтезу жирних кислот із непарною кількістю карбонів та із розгалуженим ланцюгом – пропіонат. Попередниками для синтезу ізо- і антеізо- жирних кислот служать ізовалеріат, ізобутират і 2-метил-бутират (Ha & Lindsay, 1990). Кількість продукції цих попередників залежить від надходження субстратів для їхнього утворення та умов в рубці. Частина середньоланцюгових і довголанцюгові жирні кислоти надходять із крові і переважна більшість їх утворюється в рубці.

Кормовими факторами можна, значною мірою, регулювати утворення попередників жирних кислот у рубці і відповідно кількість і склад молочного

жиру, зокрема, вміст сполук, які зумовлюють нутріцевтичні властивості, здійснюючи позитивний вплив на здоров'я людей.

Література до розділу 1

- AbuGhazaleh A. A., & Holmes L. D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2897–2904.
- AbuGhazaleh A. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., & Kalscheur K. F. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 1758–1766.
- AbuGhazaleh A. A., & Buckles W. R. The effect of solids dilution rate and oil source on trans C18:1 and conjugated linoleic acid production by ruminal microbes in continuous culture. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 963–969.
- AbuGhazaleh A. A., & Jenkins T. C. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 645–651.
- AbuGhazaleh A. A., Riley M. B., & Jenkins T. C. The effect of dilution rate and pH on the conversion of stable isotopically labeled oleic acid to trans monoens in continuous cultures. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. (Suppl.1). P. 337.
- AbuGhazaleh A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., Kalscheur K. F., & Whitlock L. A. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2266–2276.
- AbuGhazaleh A.A., Riley M. B., Thies E. E., & Jenkins T. C. Dilution rate and pH effects on the conversion of oleic acid to trans C C_{18:1} positional isomers in continuous culture. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 4334–4341.
- Aidos I., Jacobsen C., Jensen B., Luten J. B., van der Padt A., & Boom R. M. Volatile oxidation products formed in crude herring oil under accelerated oxidative conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2002. Vol. 104. P. 808–818.
- Aiello R. L., & Armentano L. E. Fatty acid effects on gluconeogenesis in goat, calf, and quinea pig hepatocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1988. Vol. 91. P. 339–344.
- Aldrich C. G., Merchen N. R., Drackley J. K., Fahey G. C., Jr., & Berger L. L. The effects of chemical treatment of whole canola seed on intake, nutrient digestibilities, milk production, and milk fatty acids of Holstein cows. *J. Anim. Sci*, 1997. Vol. 75. P. 512–521.

- Ashes J. R., Welch P. S., Gulati S. K., Scott T. W., Brown G. H., & Blakeley S. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. *J. Dairy Sci*, 1992. Vol. 75. P. 1090–1096.
- Avila C. D., DePeters E. J., Perez-Monti H., Taylor S. J., & Zinn R. A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1505-1509.
- Baldwin R. L., & Alison M. J. Rumen metabolisn. *J. Animal Sci*, 1983. Vol. 57 (Suppl. 2). P. 461–477.
- Banks W., Clapperton J. L., & Gilder A. K. Effect of dietary unsaturated fatty acids in various forms on the de novo synthesis of fatty acids in the bovine mammary gland. *J. Dairy Res.*, 1990. Vol. 57. P. 179–185.
- Bargo F., Muller L. D., Kolver E. S., & Delahoy J. E. Invited review: Production and digested of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 1–46.
- Barsuhn K., Chester S. T., & Leedle J. A. Z. In vitro detachment of bacteria from ruminal digesta by buffered sodium oleate solutions. *Current Microbiology*, 1988. Vol. 16. P. 337–341.
- Bauman D. E., Corl B. A., & Peterson D. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants / In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Reseach*, by SebedioJ. L., Christie W., Adlof R. Champaign:AOCS Press., 2003. Vol. 2. P. 146-173.
- Bauman, D. E., & Griinari J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition.*, 2003. Vol. 23. P. 203–227.
- Bauman, D. E., & Griinari J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci*, 2001. Vol. 70. P. 15–29.
- Baumchart D., Legay-Carnier F., Doreau M., & Gaillard B. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *British Journal of Nutrition*, 1990. Vol. 63. P. 563.
- Baumgard L. H., Corl B. A., Dwyer D. A., Saebø A., & Bauman D. E. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2000. Vol. 278. P. R179–R184.
- Baumgard L. H., Matitashvili E., Corl B. A., Dwyer D. A., & Bauman D. E. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2155–2163.
- Baumgard L. H., Sangster J. K., & Bauman D. E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10,*cis*-12

- conjugated linoleic acid (CLA). *Journal of Nutrition.*, 2001. Vol. 131. P. 1764–1769.
- Beam T. M., Jenkins T. S., Moate P. J., Kohn R. A., & Palmquist D. L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2564–2573.
- Beauchemin K. A., McGinn S. M., Benchaar C., & Holtshausen L. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cows diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *J. Dairy Sci*, 2009. Vol. 92. P. 2118–2127.
- Belenguer, A., Toral P. G., Frutos P., & Hervás G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. *J. Dairy Sci*, 2010. Vol. 93. P. 3275–3286.
- Benson J. A., Reynolds C. K., Aikman P. C., Lupoli B., & Beever D. E. Effects of abomasal vegetable oil infusion on splanchnic metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 1804–1814.
- Benson J. A., Reynolds C. K., Humphries D. J., Rutter S. M., & Beever D. E. Effects of abomasal infusion of long chain fatty acids on intake, feeding behaviour and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 1182–1191.
- Bernal-Santos G., Perfield J. W., Bauman D. E., & Overton T. R. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 3218–3228.
- Bernard L., Leroux C., Rouel J., Delavaud C., Shingfield K. J., & Chilliard Y. Effect of extruded linseeds alone or in combination with fish oil on intake, milk production, plasma metabolite concentrations and milk fatty acid composition in lactating goats. *The International Journal of Animal Biosciences*, 2015. Vol. 9. P. 810–821.
- Bessa R. J., Santos-Silva B. J., Ribeiro J. M. R., & Portugal V. A. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livest. Prod. Sci*, 2000. Vol. 63. P. 201–211.
- Bines J. A., Brumby P. E., Storry J. E., Fulford R. J., & Braithwaite G. D. The effect of protected lipids on nutrient intakes, blood and rumen metabolites and milk secretion in dairy cows during early lactation. *J. Agric. Sci*, 1978. Vol. 91. P. 135–150.
- Borgstrom B. Fat digestion and absorption. In *Biomembranes* by Smyth D.H. ed. London and New York, 1974. P. 555–620.

- Boufaied H., Chouinard P. Y., Tremblay G. F., Petit H. V., Michaud R., & Belanger G. Fatty acids in forages. In vitro ruminal biohydrogenation of linolenic and linoleic acids from timothy. *Can. J. Anim. Sci.*, 2003. Vol. 83. P. 513–522.
- Buccioni A., Decandia M., Minieri S., Molle G., & Cabiddu A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2012. Vol. 174:1–25.
- Carreño D., Hervás G., Toral P. G., Castro-Carrera T., & Frutos P. Fish oil-induced milk fat depression and associated downregulation of mammary lipogenic genes in dairy ewes. *J. Dairy Sci.*, 2016. Vol. 99. P. 7971–7981.
- Carreño D., Toral P. G., Pinloche E., Belenguer A., Yáñez-Ruiz D. R., Hervás G., McEwan N. R., Newbold C. J., & Frutos P. Rumen bacterial community responses to DPA, EPA and DHA in cattle and sheep: A comparative in vitro study. *Sci. Rep.*, 2019. Vol. 9. P. 11857.
- Cheng K.-J., Forsberg C. W., Minato H., & Costerton J. W. Microbial ecology and physiology of feed degradation without the rumen. In *Physiology Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants: Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. Ed. Tsuda T., Sasaki Y., Kawashima R. San Diego, 1991. P. 595.
- Cherkawski J. W., Blaxter K. L., & Waiman F. W. The effect of functional groups other than carboxyl on the metabolism of C18 and C12 alkyl compounds by sheep. *Br. J. Nutr.*, 1966. Vol. 29. P. 495–508.
- Chichlowski M. W., Schroeder J. W., Park C. S., Keller W. L., & Schimek D. E. Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *J. Dairy Sci.*, 2005. Vol. 88. P. 3084–3094.
- Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R., & Doreau M. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 2000. Vol. 49. P. 181–205.
- Chilliard Y., Gagliostro G., Flechet J., Lefaiivre J., & Sebastian I. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. *J. Dairy Sci.*, 1991. Vol. 74. P. 1844–1854.
- Conte G., Dimauro C., Serra A., Macciotta N. P. P., & Mele M. A canonical discriminant analysis to study the association between milk fatty acids of ruminal origin and milk fat depression in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2018. Vol. 101. P. 6497–6510.

- Corl B. A., Baumgard L. H., Griinari J. M., Delmonte P., Morehouse K. M., Yurawech M. P., & Bauman D. E. Trans-7, cis-9 CLA is synthesized endogenously by Δ^9 -desaturase in dairy cows. *Lipids*, 2002. Vol. 37. P. 681–688.
- Corl B. A., Chouinard P. Y., Dwyer D. A., Bauman D. E., Griinari J. M., & Nurmela K. V. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. (Suppl. 1). P.223.
- Dawson R. M. C., & Kemp P. The aminoethylphosphatecontaining lipids of rumen protozoa. *Biochemic. J.*, 1967. Vol. 105. P. 837–842.
- Dawson R. M., & Hemington N. Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen. *Br. J. Nutr.*, 1974. Vol. 32. P. 327-340.
- Demeyer D., & Doreau M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1999. Vol. 58. P. 593–607.
- Destailats F., Trottier J. P., Galvez J. M. G., & Angers P. Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 3231–3239.
- deVeth M. J., Gulati S. K., Luchini N. D., & Bauman D. E. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in including milk fat depression. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 1685-1693.
- Dewanckele L., Jing L., Stefańska B., Vlaeminck B., Jeyanathan J., Van Straalen W. M., Koopmans A., & Fievez V. Distinct blood and milk 18-carbon fatty acid proportions and buccal bacterial populations in dairy cows differing in reticulorumen pH response to dietary supplementation to rapidly fermentable carbohydrates. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 4025–4040.
- Dewanckele L., Toral P. G., Vlaeminck B., & Fievez V. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. *J. Dairy Sci*, 2020. Vol. 103. P. 7655–7681.
- Dewanckele L., Vlaeminck B., Hernandez-Sanabria E., RuizGonzález A., Debruyne S., Jeyanathan J., & Fievez V. Rumen biohydrogenation and microbial community changes upon early life supplementation of 22:6n-3 enriched microalgae to goats. *Front. Microbiol.*, 2018. Vol. 9. P. 573.
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., & Galli M. P. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1026–1027.
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., Galli M. P., Albright K., Tolosa M. X., & Dietschy J. M. General principles governing movement of lipids across biological

- membranes. In *Disturbances of Lipid, and Lipoprotein Metabolism* by Dietschy J.M., Gotto A.M., Ontko J.A. eds. Bethesda, 1978. P. 1–28.
- Dijkstra J. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Prod. Sci*, 1994. Vol. 39. P. 61–69.
- Dong Y., Bae H.D., McAlister T.A., Mathison G.W., & Cheng K.J. Lipid-induced depression in methane production and digestibility in the artificial rumen system (RUSITEC). *Can. J. Anim. Sci*, 1997. Vol. 77. P. 269–278.
- Doreau M. K., Ueda K., & Poncet C. Fatty acid ruminal metabolism and intestinal digestibility in sheep fed rye grass silage and hay. *Trop. C subtrop. Agroec.*, 2003. Vol. 3. P. 289–293.
- Doreau M., & Chilliard Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.* 1997. Vol. 78. P. 815–835.
- Doreau M., & Ferlay A. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 1994. Vol. 45. P. 379–396.
- Drackley J. K., Klusmeyer T. H., Trusk A. M., & Clark J. H. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1992. Vol. 75. P. 1517–1526.
- Duckett S. K., Andrae J. G., & Owens F. N. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci*, 2002. Vol. 81. P. 1251–1261.
- Duckett S., Andrae J. G., & Owens F. N. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci*, 2002. Vol. 80. P. 3353–3360.
- Dunkley W. L., Smith N. E., & Franke A. A. Effects of feeding protected tallow on composition of milk and milk fat. *J. Dairy Sci*, 1977. Vol. 60. P. 1863–1869.
- Eastridge M. L., & Firkins J. L. Feeding hydrogenated fatty acids and triglycerides to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 2610–2616.
- Ekeren P. A., Smith D. R., Lunt D. K., & Smith S. B. Ruminal biohydrogenation of fatty acids from high-oleate sunflower seeds. *Journal of Animal Science*, 1992. Vol. 70. P. 2574–2580.
- Emmanuel B. The relative contribution of propionate, and long-chain even-number fatty acids to the production of long-chain odd-number fatty acids in rumen bacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, 1978. Vol. 528. P. 239–246.
- Enjalbert F., Eynard P., Nicot M. C., Troegeler-Meynadier A., Bayourthe C., & Moncoulon R. In vitro versus in situ ruminal biohydrogenation of unsaturated

- fatty acids from a raw or extruded mixture of ground canola seed/canola meal. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 351–359.
- Enjalbert F., Nicot M. C., Bayourthe C., Vernay M., & Moncoulon R. Effects of dietary calcium soaps on digestion, milk composition, and physical properties of butter. *J. Dairy Res.*, 1997. Vol. 64. P. 181–195.
- Fay J. P., Jakober K. D., Cheng K.-J., & Costerton J. W. Esterase activity of pure cultures of rumen bacteria as expressed by the hydrolysis of p-nitrophenylpalmitate. *Can. J. Microbiol.* 1990. Vol. 36. P. 585.
- Ferlay A., Bernard L., Meynadier A., & Malpuech-Brugère C. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie*, 2017. Vol. 141. P. 107–120.
- Feussner I., & Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002. Vol. 53. P. 275–297.
- Fotouhi N., & Jenkins T. C. Resistance of fatty acyl amides to degradation and hydrogenation by ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci*, 1992. Vol. 75. P. 1527–1532.
- Fougère H., Delavaud C., & Bernard L. Diets supplemented with starch and corn oil, marine algae, or hydrogenated palm oil differentially modulate milk fat secretion and composition in cows and goats: A comparative study. *J. Dairy Sci*, 2018. Vol. 101. P. 8429–8445.
- Fukuda S., Nakanishi Y., Chikayama E., Ohno H., Hino T., & Kikuchi J. Evaluation and characterization of bacterial metabolic dynamics with a novel profiling technique, real-time metabolotyping. *PLoS One*, 2009. Vol. 4. P. e4893.
- Fulco A. J. Fatty acid metabolism in bacteria. *Prog. Lipid Res.*, 1983. Vol. 22. P. 133.
- Gama M. A. S., Griinary J. M., Garnsworthy P. C., Rodrigues P. H. M., Leme P. R., Souza L. W. O., & Lanna D. P. D. Concentration of cis-12 C 18:1 in milk is more closely related to milk fat depression (MFD) than trans-10 C18:1 in cows fed fish oil. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87 (suppl.1). P. 308.
- Garton G. A., Hobson P. N., & Lough A. K. Lipolysis in the rumen. *Nature*, 1958. Vol. 182. P. 1511–1512.
- Garton G. A., Lough A. K., & Vioque E. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *J. Gen. Microbiol.*, 1961. Vol. 25. P. 215–225.
- Gaynor P. J., Waldo D. R., Capuco A. V., Erdman R. A., Douglass L. W., & Teter B. B. Milk fat depression, the glucogenic theory, and trans-C18:1 fatty acids. *J. Dairy Sci*, 1995. Vol. 78. P. 2008–2015.

- Gerson T., John A., & King A. S. D., The effects of dietary starch and fiber on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. *J. Agric. Sci, Camb.* 1985. Vol. 105. P. 27–30.
- Gerson T., John A., & Sinclair B. R. The effect of dietary N on in vitro rates of lipolysis and fatty acid hydrogenation in rumen digesta from sheep fed diets high in starch. *J. Agric. Sci. Camb.*, 1983. Vol. 101. P. 97–101.
- Gerson T., King A. S. D., Kelly K. E., & Kelly W. I. Influence of particle size and surface area on in vitro rates of gas production, lipolysis of triacylglycerol and hydrogenation of linoleic acid by sheep rumen digesta or *Ruminococcus flavefaciens*. *J. Agric. Sci*, 1988. Vol. 110. P. 31–37.
- Giesy J. G., McGuire M. A., Shafii B., & Hanson T. W. Effect of dose of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on percentage and fatty acid content of milk fat in midlactation Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2023–2029.
- Gonthier C. A., Mustafa A. F., Berthiaume R., Petit H. V., Martineau R., & Ouellet D.R. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 1854–1863.
- Griinari J. M., Corl B. A., Lacy S. H., Chouinard P. Y., Nurmela K. V. V., & Bauman D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 2285–2291.
- Griinari J. M., Dwyer D. A., McGuire M. A., Bauman D. E., Palmquist D. L., & Nurmela K. V. V. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 1251–1261.
- Griinari J. M., & Bauman D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk of ruminants. *Advances in Conjugated Linoleic Acid*. Champaign:AOCS Press., 1998. P. 180–200.
- Gruber H. J., & Low P. S. Interaction of amphiphiles with integral membrane proteins. 1. Structural destabilization of the anion transport protein of the erythrocyte membrane by fatty acids, fatty alcohols, and fatty amines. *Biochim. Biophys. Acta*, 1988. Vol. 944. P. 414–424.
- Grummer R. R., & Carroll D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci*, 1991. Vol. 69. P. 3838–3852.
- Ha J. K., & Lindsay R. C. Method for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty acids in cheese and milk fat. *J. Dairy Sci*, 1990. Vol. 73. P. 1988–1999.

- Hammon H. M., Metges C. C., & Jungans P. Metabolic changes and net portal flux in dairy cows fed a ration containing rumen-protected fats as compared to a control diet. *J. Dairy Sci*, 2008. Vol. 91. P. 208–217.
- Harfoot C. G. Lipid metabolism in the rumen / In *Lipid Metabolism in Ruminant Animals*. W.W. Christie, Ed. Oxford, 1981. P. 25-55.
- Harfoot C. G. Lipid metabolism in the rumen. *Progress in Lipid Research.*, 1978. Vol. 17. P. 21–54.
- Harfoot C. G., & Hazlewood G. P. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*. New York, 1988. P. 285–322.
- Harfoot C. G., & Hazlewood G. P. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson P.N., Stewart C.S. eds. London, 1999. P. 382–426.
- Harfoot C. G., & Hazlewood G. P. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2nd edn. Ed by Hobson P.N., Stewart D.S. London: Chapman and Hall., 1997. P. 382–426.
- Harfoot C. G., Crouchman M. L., Noble R. C., & Moore J. H. Competition between food particles and rumen bacteria in the uptake of long-chain fatty acids and triglycerides. *J. Appl. Bacteriol.*, 1974. Vol. 37. P. 633–641.
- Harfoot C. G., Noble R. C., & Moore J. H. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms in vitro. *J. Sci. Food. Agric.*, 1973. Vol. 24. P. 961–970.
- Harvatine K. J., & Allen M. S. Kinetic model of rumen biohydrogenation effects of rumen-protected fatty acid saturation on fractional rate of biohydrogenation and duodenal fatty acid flow in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87 (Suppl. 1). P. 308.
- Harvatine K. J., & Allen M. S. Effect of rumen-protected fatty acid saturation on feed intake and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87 (Suppl. 1). P. 308.
- Hawke J. C., & Silcock W. R. The in vitro rates of lipolysis and biohydrogenation in rumen contents. *Biochim. Biophys. Acta*, 1970. Vol. 218. P. 201–212.
- Hazlewood G. P., & Dawson R. M. C. Isolation and properties of a phospholipid-hydrolysing bacterium from ovine rumen fluid. *J. Gen. Microbiol.*, 1975. Vol. 89. P. 163–174.
- Henderson C., & Hodgkins W. An electron microscopic study of *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5_s) and its lipolytic enzyme. *J. Gen. Microbiol.*, 1973. Vol. 76. P. 389–393.
- Henderson G., Cox F., Ganesh S., Jonker A., Young W., Collaborators G. R. C., & Janssen P. H. Rumen microbial community composition varies with diet and host,

- but a coremicrobiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports.*, 2015. Vol. 5. P. 14567.
- Henderson C. A study of the lipase produced by *Anaerovibrio lipolytica*, a rumen bacterium. *J. Gen. Microbiol.*, 1971. Vol. 65. P. 81–89.
- Hennessy A. A., Barrett E., Ross R. P., Fitzgerald G. F., Devery R., & Stanton C. The production of conjugated α -linolenic, γ -linolenic and stearidonic acids by strains of *Bifidobacteria* and *Propionibacteria*. *Lipids*, 2012. Vol. 47. P. 313–327.
- Hespell R. B., & O'Bryan-Stah P. J. Esterase activities in *Butyrivibrio fibrisolvens* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988. Vol. 54. P. 1917–1922.
- Hess B. W. A decade of research developments in ruminant nutrition at the University of Wyoming. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90 (Suppl.). P. 657(Abstr.).
- Hino T., Andon N., & Ohgi H. Effects of β -carotene and β -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long-chain fatty acids and cellulose. *J. Dairy Sci*, 1993. Vol. 76. P. 600–605.
- Hobson P. N., & Stewart C.S. The rumen microbial ecosystem. Blackie Academic Professional, 1997. 718 p.
- Hogan J. P., & Hogan R. M. The evaluation of formaldehyde-treated sunflower seed-casein supplement as a source of linoleic acid for ruminant lipids. *Aust. J. Agric., Res.* 1976. Vol. 27. P. 129–138.
- Honkanen A. M., Leskinen H., Toivonen V., McKain N., Wallace R. J., & Shingfield K. J. Metabolism of α -linolenic acid during incubations with strained bovine rumen contents: Products and mechanisms. *Br. J. Nutr.*, 2016. Vol. 115. P. 2093–2105.
- Hoover W. H., Kincaid C. R., Varga C. A., Thayne W. V., & Junkins L. L. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. IV. pH and dilution rate. *J. Anim. Sci*, 1984. Vol. 58. P. 692–699.
- Howard B.H. Hydrolysis of naturally occurring galactosidase by some rumen protozoa. *Biochem. J.*, 1963. Vol. 89. P. 90.
- Huerta-Leidenz N. O., Cross H. R., Lunt D. K., Pelton S., Savell J. W., & Smith S. B. Growth, carcass traits, and fatty acid profiles of adipose tissues from steers fed whole cottonseed. *J. Anim. Sci*, 1991. Vol. 69. P. 3665–3672.
- Hughes P. E., & Tove S. B. Identification of deoxy- α -tocopherolquinol as another endogenous electron donor for biohydrogenation. *J. Biol. Chem.*, 1980. Vol. 255. P. 11802–11806.
- Hughes P. E., & Tove S.B. Identification of an endogenous electron donor for biohydrogenation as α -tocopherolquinol. *J. Biol. Chem.*, 1980. Vol. 255. P. 4447–4452.

- Hughes P. E., Hunter W. J., & Tove S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. Purification and properties of cis-9, trans-11-octadecadienoate reductase // J. Biol. Chem., 1982. Vol. 257. P. 3643–3649.
- Hussain S. K. A., Srivastava A., Tyagi A., Shandilya U. K., Kumar A., Kumar S., Panwar S., & Tyagi A. K. Characterization of CLA-producing *Butyrivibrio* spp. reveals strain-specific variations. 3 Biotech., 2016. Vol. 6. P. 90.
- Hussein M., Harvatine K. H., Weerasinghe W. M. P. B., Sinclair L. A., & Bauman D. E. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. J. Dairy Sci, 2013. Vol. 96. P. 3825–3834.
- Huws S. A., Kim E. J., Lee M. R. F., Scott M. B., Tweed J. K. S., Pinloche E., Wallace R. J., & Scollan N. D. As yet uncultured bacteria phylogenetically classified as *Prevotella*, *Lachnospiraceae* incertae sedis and unclassified *Bacteroidales*, *Clostridiales* and *Ruminococcaceae* may play a predominant role in ruminal biohydrogenation. Environ. Microbiol., 2011. Vol. 13. P. 1500–1512.
- Ikwuegbu O. A., & Sutton J. D. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. British Journal of Nutrition., 1982. Vol. 48. P. 365–375.
- Immig V. I., Wirth S. J., Wolf G. A., & Abel H. Quantifizierung der Cellulaseaktivität und Nachweis von Fettsäure-Coating-Effekten im Pansen von Schafen. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 1991. Vol. 66. P. 45–52.
- Ip M. M., Masson-Welch P. A., & Ip C. Prevention of mammary cancer with conjugated linoleic acid: Role of the stroma and epithelium. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia, 2003. Vol. 8. P. 103–118.
- Jackson H. D., Preston A. M., & Carter J. M. Oxidation of palmitate to ketone bodies by tissues from digestive organs of sheep. J. Anim. Sci, 1968. Vol. 27. P. 203–206.
- Jaglan N., Kumar S., Choudhury P. K., Tyagi B., & Tyagi A. K. Isolation, characterization and conjugated linoleic acid production potential of bifidobacterial isolates from ruminal fluid samples of Murrah buffaloes. Anaerobe, 2019. Vol. 56. P. 40–45.
- Jenkins T. C. Lactation performance and fatty acid composition of milk from Holstein cows fed 0 to 5% oleamide. J. Dairy Sci. 1998. Vol. 82. P. 1525–1531.
- Jenkins T. C. Symposium: Advances in ruminant metabolism. J. Dairy Sci, 1993. Vol. 76. P. 3851–3863.
- Jenkins T. C., & McGuire M. A. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. J. Dairy Sci, 2006. Vol. 89. P. 1302–1310.

- Jenkins T. C., & Palmquist D. L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *J. Dairy Sci*, 1984. Vol. 67. P. 978–986.
- Jenkins T. C., Fellner V., & McGuffey R. K. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fed corn or barley. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 324–330.
- Jiang J., Bjoerck L., Fonden R., & Emanuelson M. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: Effects of feed and dietary regimen. *J. Dairy Sci*, 1996. Vol. 79. P. 438–445.
- Johnson K. A. Kincaid R. L., Westberg H. H., Gaskins C. T., Lamb B. K., & Cronrath J. D. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. *J. Dairy Sci*. 2002. Vol. 85. P. 1509–1515.
- Johnson K. A., & Johnson D. E. Methane emissions from cattle. *J. Anim Sci*, 1995. Vol. 73. P. 2483-2492.
- Kadegowda A. K. G., Bionaz M., Piperova L. S., Erdman R. A., & Looor J. J. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activation and long-chain fatty acids alter lipogenic gene networks in bovine mammary epithelial cells to various extents. *J. Dairy Sci*, 2009. Vol. 92. P. 4276–4289.
- Kadegowda A. K. G., Piperova L. S., & Erdman R. A. Principal component and multivariate analysis of milk long-chain fatty acid composition during diet-induced milk fat depression. *J. Dairy Sci*, 2008. Vol. 91. P. 749–759.
- Kairenius P., Ärölä A., Leskinen H., Toivonen V., Ahvenjärvi S., Vanhatalo A., Huhtanen P., Hurme T., Griinari J. M., & Shin-gfield K. J. Dietary fish oil supplements depress milk fat yield and alter milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage-based diets. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 5653–5671.
- Kalsheuer K. F., Teter B. B., Piperova L. S., & Erdman R. A. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P.2104–2114.
- Keele J. W., Roffler R. E., & Beyers K. Z. Ruminal metabolism in nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans. *J. Dairy Sci*, 1989. Vol. 67. P. 1612–1622.
- Keeney M. Fat metabolism in the rumen. In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Phillipson A.T. Ed. Newcastle upon Tyne, 1970. P. 489–503.
- Kellens M. J., Goderis H. L., & Tobback P. P. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganism. *Biotech. Bioeng.*, 1986. Vol. 28. P. 1286–1276.

- Kelly M. L., Berry J. R., Dwyer D. A., Griinary J. M., Choinrad P. Y., VanAmburgh M. E., & Bauman D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998. Vol. 128. P.881–885.
- Kemp J. D., Mahyuddin M., Ely D. G., Fox J. D., & Moody W. G. Effect of feeding systems, slaughter weight and sex on organoleptic properties, and fatty acid composition of lamb. *J. Anim. Sci*, 1991. Vol. 51. P. 321–330.
- Kemp P., & Lander D. J. Hydrogenation in vitro of alphinoleic acid to stearic-acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 1984. Vol. 130. P. 527–533.
- Kemp, P., White R. W., & Lander D. J. The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. *Microbiology*, 1975. Vol. 90. P. 100–114.
- Kepler C. R., Hirons K. P., McNeil J. J., & Tove S. B, Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 1966. Vol. 241. P. 1350–1354.
- Kepler C. R., Tucker W. P., & Tove S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate Δ^{12} -cis , Δ^{11} -trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 1970. Vol. 245. P. 3612–3620.
- Keweloh, H., & Heipieper H. J. *Trans* unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids*, 1996. Vol. 31. P. 129–137.
- Khorasani G. R., de Boer G., Robinson P. H., & Kennelly J. J. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones, and metabolites in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1992. Vol. 75. P. 492–501.
- Kim E. J., Sanderson R., Dhanoa M. S., & Dewhurst R. J. Fatty acid profiles associated with microbial colonization of freshly-ingested grass and rumen biohydrogenation. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 3220–3230.
- Kim Y. J., Liu R. H., Rychlik J. L., & Russell J. B. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. *J. Appl. Microbiol.*, 2002. Vol. 92. P. 976-982.
- Kim Y. J., Liu R. H., Rychlik J. L., Russell J. B. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elshdenii* YJ-4) that produces the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. *J. Appl. Microbiol.*, 2002. Vol. 92. P. 976–982.
- Kishino S., Ogawa J., Omura Y., Matsumura K., & Shimizu S. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2002. Vol. 79. P. 159–163.

- Klusmeyer T. H., & Clark J. H. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 3055–3067.
- Knight R., Sutton J. D., Storry J. E. & Brumby P. E. Rumen microbial synthesis of long-chain fatty acids. *Proc. Nutr. Soc.*, 1979. Vol. 38. P. 4.
- Kowalchuk J., Orskow E. R., Robinson J. J., & Stewart C. S. Effect of fat supplementation on voluntary food intake and rumen metabolism in sheep. *British Journal of Nutrition*, 1977. Vol. 37. P. 251-257.
- Kucuk O., Hess B. W., Ludden P. A., & Rule D. C. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *J. Anim. Sci*, 2001. Vol. 79. P. 2233–2240.
- Kung L. Jr., & Hession A. O. Preventing in vitro lactate accumulation with *Megasphaera elsdenii*. *J. Anim. Sci*, 2002. Vol. 80. P. 250–256.
- Kunsman J. E. Characterization of the lipids of six strains of *Bacteroides ruminicola*. *J. Bacteriol.*, 1973. P. 1121–1126.
- Larsen T. M., Toubro S., & Astrup A. Efficiency and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: Evidence from animal and human studies. *J. Lipid Res.*, 2003. Vol. 44. P. 2234–22417.
- Latham M. J., Storry J. E., & Sharpe M. E. Effect of low-roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen. *Appl. Microbiol.*, 1972. Vol. 24. P. 871–877.
- Lee M. R., Huws S. A., Scollan N. D., & Dewhurst R. J. Effects of fatty acid oxidation products (green odor) on rumen bacterial populations and lipid metabolism in vitro. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 3874–3882.
- Lee Y.-J., Brenna J. T., Lawrence P., Duckent S. K., Powell G. L., Bridges W. C., & Jenkins T. C. Identification of enriched conjugated linoleic acid isomers in cultures microorganisms after dosing with 1-¹³C-linoleic acid. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 659(Abstr.).
- Legay-Carmier F., & Bauchart D. Distribution of bacteria in the rumen contents of dairy cows given a diet supplemented with soya-bean oil. *Br. J. Nutr.*, 1989. Vol. 61. P. 725–740.
- Leskinen H., Ventto L., Kairenius P., Shingfield K. J., & Vilkki J. Temporal changes in milk fatty acid composition during diet-induced milk fat depression in lactating cows. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 5148–5160.
- Lock A. L. Tyburczy C., Dwyer D.A., Harvatine K.J., Destailats F., Mouloungui Z., Candy L., & Bauman D. E. Trans-10 octadecenoic acid does not reduce milk fat synthesis in dairy cows. *J. Nutr.*, 2007. Vol. 137. P. 71–76.

- Lock A. L., & Bauman D. E. Modifies milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 2004. Vol. 39. P. 1197–1206.
- Lomax M. A., & Baird G. D. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut the dairy cow. *Br. J. Nutr.*, 1983. Vol. 49. P. 481–496.
- Loor J. J., Bandara A. B. P. A., & Herbein J. H. Characterization of 18:1 and 18:2 isomers produced during microbial biohydrogenation of unsaturated fatty acids from canola or soybean oil in the rumen of lactating cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berlin)*, 2002. Vol. 86. P. 422–432.
- Loor J. J., Ueda K., Ferlay A., Chilliard Y., & Doreau M. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 2472–2485.
- Loor J. J., Ueda K., Ferlay A., Chilliard Y., & Doreau M. Short communication: Profiles of conjugated linoleic acids and trans fatty acids in ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 2468–2471.
- Lour J. J., & Herbein J. H. Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous trans 10, cis 12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 1354–1369.
- Lourenço M., Ramos-Morales E., & Wallace R. J. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal.*, 2010. Vol. 4. P. 1008–1023.
- Luvisetto S., Pietrobon D., & Azzone G. F. Uncoupling of oxidative phosphorylation: 1. Protophoric effects account only partially for uncoupling. *Biochemistry*, 1987. Vol. 26. P. 7332–7338.
- Maczulak A. E., Dehority B. A., & Palmquist D. L. Effects of long-chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1981. Vol. 42. P. 856–862.
- Maia M. R. G., Chaudhary L. C., Bestwick C. S., Richardson A. J., McKain N., Larson T. R., Graham I. A., & Wallace R. J. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiol.*, 2010. Vol. 10:52.
- Maia M. R. G., Chaudhary L. C., Figueres L., & Wallace R. J. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007. Vol. 91. P. 303–314.

- Martin S. A., Fonty G., & Michalet-Doreau B. Factors affecting the fibrolytic activity of the digestive microbial ecosystems in ruminants. *Gastrointestinal Microbiology in Ruminants*. Ed. by S. A Martin. Trivandrum, 2002. P. 1–17.
- Martin S.A., & Jenkins T.C. Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C 18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci*, 2002. Vol. 80. P. 3347–3352.
- Matamoros C., Klopp R. N., Moraes L. E., & Harvatine K. J. Meta-analysis of the relationship between milk *trans*-10 C18:1, milk fatty acids <16 C, and milk fat production. *J. Dairy Sci*, 2020. Vol. 103. P. 10195–10206.
- McCarthy M. M., Overton T. R., Mechor G. D., Bauman D. E., Jenkins T. C., & Nydam D. V. Field study to investigate the associations between herd-level risk factors for milk fat depression and bulk tank milk fat percent in dairy herds feeding monensin. *J. Dairy Sci*, 2018. Vol. 101. P. 3118-3125.
- McIntosh F. M., Shingfield K. J., Devillard E., Russell W. R., & Wallace R. J. Mechanism of conjugated linoleic acid and vaccenic acid formation in human faecal suspensions and pure cultures of intestinal bacteria. *Microbiology*, 2009. Vol. 155. P. 285–294.
- McKain N., Shingfield K. J., & Wallace R. J. Metabolism of conjugated linoleic acids and 18:1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. *Microbiology*, 2010. Vol. 156. P. 579–588.
- Miron J., Ben- Ghedalia D., & Morrison M. Invited Review: Adhesion mechanism of rumen cellulotic bacteria. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 1294–1309.
- Moate P. J., Chalupa W., Jenkins T. C., & Boston R. C. A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. *J. Dairy Sci*, 2008. Vol. 91. P. 1175–1188.
- Mohammed R., Stevenson D. M., Beauchemin K. A., Muck R. E., & Weimer P. J. Changes in ruminal bacterial community composition following feeding of alfalfa ensiled with a lactic acid bacterial inoculant. *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95. P. 328–339.
- Moore C. E., Hafliger H. C., Mendivil O. B., Sanders S. R., Bauman D. E., & Baumgard L. H. Increasing amounts of conjugated linoleic acid (CLA) progressively reduced milk fat synthesis immediately postpartum. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 1886–1895.
- Mosley E. E., Powell G. L., Riley M. B., & Jenkins T. C. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *L. Lipid Res.*, 2002. Vol. 43. P. 290–296.
- Murphy J. J., McNeil G., Connolly J. F., & Glesson P. A. Effect on cow performance and milk fat composition of including full fat soybeans and rapeseeds in the

- concentrate mixture for lactating dairy cows. *J. Dairy Res.*, 1990. Vol. 57. P. 295–306.
- Murphy P., Palmquist D.L., & Wiktorsson H. Rumen an total diet digestibilities in lactating cows fed diets containing full-fat rapessed. *J. Dairy Sci*, 1987. Vol. 70. P. 1572–1582.
- Murphy M. R. Modelling production of volatile fatty acids in ruminants. In: R.L. Baldwin and A.C. Bywater (Editors), *Modelling Ruminant Digestion and Metabolism*, Proc. Second International Workshop. University of California, Davis, USA, 1984. P. 59–62.
- Ockner R. K., Pittman J. P., & Yager J. L. Differences in the intestinal absorption of saturated and unsaturated long chain fatty acids. *Gastroenterology*. 1972. P. 981–992.
- Ogimoto K., & Imai S. *Atlas of Rumen Microbiology*. Tokyo: Scientific Societies Press, 1981.
- Paillard D., McKain N., Chaudhary L. C., Walker N. D., Pizette F., Koppova I., McEwan N. R., Kopečný J., Vercoe P. E., Louis P., & Wallace R. J. Relation between phylogenetic position, lipidmetabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-likebacteria from the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007. Vol. 91. P. 417–422.
- Palmquist D. L., & Jenkins T. C. *A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows*. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. Issue 12. P. 10061–10077.
- Palmquist D. L., & Kinsey D. J. Lipolysis and biohydrogenation of fish oil by ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci*, 1994. Vol. 77 (Suppl. 1). P. 350.
- Palmquist D. L., Jenkins T. C., & Joyner A. E. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in the rumen. *J. Dairy Sci*, 1986. Vol. 69. P. 1020–1025.
- Palmquist D. L., Lock A. L., Shingfield K. J., & Bauman D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In *Advances in Food and Nutritional Research*. Ed by Taylor S.L. San Diego, CA: Elsevier Inc., 2005. Vol. 50. P. 179–217.
- Pantoja J., Firkins J. L., Eastridge M. L., & Hull B. L. Fatty acid digestion in lactating dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. *J. Dairy Sci*, 1996. Vol. 79. P. 575–584.
- Pariza M. W. The biological activities of conjugated linoleic acid / Adv. In *Conjugated Linoleic Acid Res*. AOCS Press., 1999. Vol. 1. P. 12–20.
- Parodi P. W. Milk fat in human nutrition. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2004. Vol. 59. P. 3–59.

- Perfield J. W., Lock A. L., Griinari J. M., Sæbø A., Delmonte P., Dwyer D. A., & Bauman D. E. *Trans*-9, *cis*-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2211–2218.
- Perfield J. W., Lock A. L., Pfeiffer A. M., & Bauman D. E. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 3010–3016.
- Perfield J. W., Saebo A., & Bauman D. E. Use of conjugated linoleic acid (CLA) enrichments to examine the effects of *trans*-8, *cis*-10 CLA and *cis*-11, *trans*-13 CLA on milk fat. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 1196–1202.
- Peterson, D. G., Matitashvili E. A., & Bauman D. E. Diet-induced milk fat depression in dairy cows results in increased *trans*-10,*cis*-12 CLA in milk fat and coordinate suppression of mRNA abundance for mammary enzymes involved in milk fat synthesis. *J. Nutr.*, 2003. Vol. 133. P. 3098–3102.
- Pipero L. S., Sampugna L., Teter B. B., Kalscheur K. F., Yuravech M. P., Ku Y., Morehouse K. M., & Erdman R. A. Duodenal and milk *trans* octadecanoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9-containing CLA in lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 2002. Vol. 132. P. 1235-1241.
- Pirondini M., Colombini S., Mele M., Malagutti L., Rapetti L., Galassi G., & Crovetto G. M. Effect of dietary starch concentration and fish oil supplementation on milk yield and composition, diet digestibility, and methane emissions in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 357–372.
- Pottier J., Focant M., Debier C., De Buysser G., Goffe C., Mignolet E., Froidmont E., & Larondelle Y. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 685–692.
- Proell J. M., Mosley E. E., Powell G. L., & Jenkins T. C. Isomerization of stable isotopically labeled elaidic acid to *cis* and *trans* monoens by ruminal microbes. *J. Lipid Res.*, 2002. Vol. 43. P. 2072–2076.
- Qiu X., Eastridge M. L., Griswold K. E., & Firkins J. L. Effects of substrate, passage rate, and pH in continuous culture on flows of conjugated linoleic acid and *trans* C 18:1. *J. Dairy Sci*, 2004a. Vol. 87. P. 3473–3479.
- Qiu X., Griswold K. E., Apgar G. A., Murdach D. W., Frantz E. D., Hastings D. L., & Jacobson B. N. Effects of source and level of dietary of conjugated linoleic acid and *trans* vaccenic acid. *J. Dairy Sci*, 2004b. Vol. 87 (suppl.1). P. 307.

- Reddy P. V., Morril J. L., & Nagaraja T. C. Release of free fatty acids from raw or proprocessed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. *J. Dairy Sci*, 1994. Vol. 77. P. 3410–3416.
- Renes E., Linares D. M., González L., Fresno J. M., Tornadijo M. E., & Stanton C. Study of the conjugated linoleic acid synthesis by *Lactobacillus* strains and by different co-cultures designed for this ability. *J. Funct. Foods.*, 2017. Vol. 35. P. 74–80.
- Reveneau C., Ribeiro C. V. D. M., Eastridge M. L., St-Pierre N. R., & Firkins J. L. Processing whole cottonseed moderate fatty acid metabolism and improves performance by dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 4342–435.
- Ribeiro C. V. D. M., Karnati S. K. R., & Eastridge M. L. Biohydrogenation of fatty acids and digestibility of fresh alfalfa or alfalfa hay plus sucrose in continuous culture. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 4007–4017.
- Rico D. E., & Harvatine K. J. Induction of and recovery from milk fat depression occurs progressively in dairy cows switched between diets that differ in fiber and oil concentration. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 6621–6630.
- Rosenfeld I. S., & Nove S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. VI. Source of hydrogen and stereospecificity of reduction. *J. Biol. Chem.*, 1971. Vol. 246. P. 5025–5030.
- Russel J. B., & Dombrowski D. B. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980. Vol. 37. P. 537–543.
- Sakhija P. S., & Palmquist D. L. Dissociation of calcium soaps of long chain fatty acids in rumen fluid. *J. Dairy Sci*, 1990. Vol. 73. P. 1784–1487.
- Sauvant D., & Bas P. La digestion des lipides chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, 2001. Vol. 14. P. 303-310.
- Schrecker O., & Greten H. Activation and inhibition of lipoprotein lipase. Studies with artificial lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1979. Vol. 572. P. 244–256.
- Scollan N. D., Dhanoa M. S., Choi N. J., Maeng W. J., Enser M., & Wood J. D. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agric. Sci*, 2001. Vol. 136. P. 345–3557.
- Shingfield K. J., & Griinari J. M. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2007. Vol. 109. P. 799–816.
- Shingfield K. J., Kairenius P., Ärölä A., Paillard D., Muetzel S., Ahvenjärvi S., Vanhatalo A., Huhtanen P., Toivonen V., Griinari J. M., & Wallace R. J. Dietary fish oil supplements modify ruminal biohydrogenation, alter the flow of fatty

- acids at the omasum, and induce changes in the ruminal *Butyrivibrio* population in lactating cows. *J. Nutr.*, 2012. Vol. 142. P. 1437–1448.
- Shingfield K. L., Reynolds C. K., Hervas G., Griinari L. M., Grandison A. S., & Beever D. E. Examination of the persistency of milk Fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 714–732.
- Shingfield K. L., Reynolds C. K., Humphries D. J., Lupoli B., Toivonen V., Grandison A. S., Griinari M. J., & Beever D. E. Effect of fish oil and sunflower oil supplements offered alone or in varying combinations on milk fatty acid composition in cows fed maize silage based diets. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87 (Suppl. 1). P. 336.
- Solomon M. B., Lynch G. P., Paroczay E., & Norton S. Influence of rapeseed, and soybean meal on fatty acid composition and cholesterol content of muscle and adipose tissue from ram lambs. *J. Anim. Sci*, 1991. Vol. 69. P. 4055–4061.
- Solomon R., Chase L. E., Ben-Ghedalia D., & Bauman D. E. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1322–1329.
- Steen W. C., & Collette T. W. Microbial degradation of seven amides by suspended bacterial population. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989. Vol. 55. P. 2545–2549.
- Strobel G. A., Dirkse E., Sears J., & Mackworth C. Volatile antimicrobials from *Muscodora albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 2001. Vol. 147. P. 2934–2950.
- Sullivan H. M., Bernard J. K., & Amos H. E. Ruminal fermentation and amino acid flow in holstein steers fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 690–697.
- Sutton J. D. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. Dairy Sci.*, 1985. Vol. 68. P. 3376–3393.
- Tajima K., Aminov R. I., Nagamine T., Matsui H., Nakamura M., & Benno Y. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001. Vol. 67. P. 2766–2774.
- Tamminga S., & Van Vuuren A. M. Formation and utilization of end products of lignocellulose degradation in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1988. Vol. 21. P. 141–159.
- Thomas P. C., & Martin P. A. The influence of nutrient balance on milk yield and composition. In: P.C. Garnsworthy (Editor), *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*. Butterworths, London, UK, 1988. P. 97–118.

- Toral P. G., Belenguer A., Shingfield K. J., Hervás G., Toivonen V., & Frutos P. Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95. P. 794–806.
- Toral P. G., Bernard L., Belenguer A., Rouel J., Hervás G., Chilliard Y., & P. Frutos. Comparison of ruminal lipid metabolism in dairy cows and goats fed diets supplemented with starch, plant oil, or fish oil. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99. P. 301–316.
- Toral P. G., Chilliard Y., Rouel J., Leskinen H., Shingfield K. J., & Bernard L. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 7277–7297.
- Toral P. G., Gervais R., Hervás G., Létourneau-Montminy M.-P., & Frutos P. Relationships between *trans*-10 shift indicators and milk fat traits in dairy ewes: Insights into milk fat depression. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2020. Vol. 261. P. 114389.
- Toral P. G., Hervás G., & Frutos P. In vitro biohydrogenation of ¹³C-labeled α -linolenic acid in response to ruminal alterations associated with diet-induced milk fat depression in ewes. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 1213–1223.
- Toral P. G., Hervás G., Peiró V., & Frutos P. Conditions associated with marine lipid-induced milk fat depression in sheep cause shifts in the in vitro ruminal metabolism of 1-¹³C oleic acid. *Animals (Basel)*, 2018. Vol. 8. P. 196.
- Tricon S., Burdge G. C, Kew S., Banerjee T., Russell J. J., Jones E. L, Grimble R. F., Williams C. M., & Yaqoob P. Opposing effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin Nutr.*, 2004. Vol. 80. P. 614–620.
- Tsisaryk O. Milk productivity and its technological characteristics under usage of rapeseed in dairy cow diets. *Zeschyty naukove Przegladu hodowlanego*. Warszawa, 2004. Vol. 74. P. 193–200.
- Ueda K., Ferlay A., Chabrot J., Lour J. J., Chilliard Y., & Doreau M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed with different forage:concentrate ratios. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 3999–4007.
- Van Nevel C., & Demeyer D. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1996. Vol. 36. P. 53–63.
- Ventto L., Leskinen H., Kairenius P., Stefański T., Bayat A. R., Vilkki J., & Shingfield K. J. Diet-induced milk fat depression is associated with alterations in ruminal

- biohydrogenation pathways and formation of novel fatty acid intermediates in lactating cows. *Br. J. Nutr.*, 2017. Vol. 117:364–376.
- Vernon R. G. Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Res.*, 2005. Vol. 72. P. 460-469.
- Viviani R., Borgatti A. R., Cortesi P., & Crisetig G. Lipid components of sheep rumen bacteria and protozoa. *Nouva Veterinaria*, 1968. Vol. 44. P. 279–283.
- Vlaeminck B., Braeckman T., & Fievez V. Rumen metabolism of 22:6n-3 in vitro is dependent on its concentration and inoculum size, but less dependent on substrate carbohydrate composition. *Lipids*, 2014. Vol. 49. P. 517–525.
- Vlaeminck B., Dufour C., van Vuuren A. M., Cabrita A. R. J., Dewhurst R. J., Demeyer D., & Fievez V. Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 1031–1042.
- Vlaeminck B., Mengistu G., Dijkstra J., & Fievez V. Effect of in vitro DHA supplementation to adapted and non-adapted rumen inoculum on the biohydrogenation of linolenic and linoleic acid. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90 (Suppl.). P. 659(Abstr.).
- Wallace R. J., Chaudhary L. C., McKain N., McEwan N. R., Richardson A. J., Vercoe P. E., Walker N. D., & Paillard D. *Clostridium proteoclasticum*: A ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006. Vol. 265. P. 195–201.
- Weber E. J., De la Rosh I. A., & Alexander D. E. Stereospecific analysis of maize triglycerides. *Lipids*. 1971. Vol. 6. P. 523–530.
- Weimer P. J., Stevenson D. M., & Mertens D. R. Shifts in bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows under milk fat-depressing conditions. *J. Dairy Sci*, 2010. Vol. 93. P. 265–278.
- Weisberg M. R., Hvelpund T., & Borsting C. F. Digestibility of fatty acids in the gastrointestinal tract of dairy cows fed with tallow or saturated fats rich in stearic acid or palmitic acid. *Acta Agric. Scand., Sect. A. Anim. Sci*, 1992. Vol. 42. P. 115–120.
- Whitlock L. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., Kalscheur K. F., Baer R. J., Ramaswamy N., & Kasperson K. M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 234–243.
- Williams A. G., & Coleman G. S. The Rumen protozoa. In *The rumen Microbial Ecosystem*. Hobson P.N. ed. New York, 1988. P. 77–139.

- Wood R. D., Bell M. C., Grainger R. B., & Teekel R. A. Metabolism of labeled linoleic-1-C¹⁴ acid in the sheep rumen. *J. Nutr.* 1963. Vol. 79. P. 62–68.
- World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Press Release, 2004. № 153.
- Wu Z., & Papas A. Rumen-stable delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1997. Vol. 28. P. 323–334.
- Wu Z., Ohajuruka O. A., & Palmquist D. L. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1991. Vol. 74. P. 3025–3034.
- Zened A., Meynadier A., Cauquil L., Mariette J., Klopp C., Dejean S., Gonzalez I., Bouchez O., Enjalbert F., & Combes S. Trans-11 to trans-10 shift of ruminal biohydrogenation of fatty acids is linked to changes in rumen microbiota. *Gut Microbiology 2016*, in Proceedings of the 10th Joint Symposium on Gut Microbiology, 2016 June 20-23 (Clermont-Ferrand), 2016. P. 150.
- Zhang T. Y., Huang J. T., Tian H. B., Ma Y., Chen Z., Wang J. J., Shi H. P., & Luo J. *Trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid alters lipid metabolism of goat mammary epithelial cells by regulation of de novo synthesis and the AMPK signaling pathway. *J. Dairy Sci.* 2018. Vol. 101. P. 5571–5581.
- Zim R. A., Gulati S. K., Plascencia A., & Salinas J. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *J. Dairy Sci.* 2000. Vol. 78. P. 1738–1746.
- Zung C. M., Liu J. X., Guo Y. Q., Yuan Z. P., Wang J. K., & Zhu W. Y. Octadeca-carbon fatty acids affect microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora in vitro. *J. Dairy Sci.* 2007. Vol. 90(Suppl.1). P. 660(Abstr.).
- Алиев А. А. Липидный обмен и продуктивность жвачных животных. М.: Колос, 1980. 381 с.
- Бриндли Д. Н. Переваривание, всасывание и транспорт жиров. Общие положения. В кн. Жиры в питании с.-х. животных. Под ред. Алиева А. А. М.: Агропромиздат, 1987. 406 с.
- Вовк С. О., Павкович С. Я., & Мартин М. Т. Захищені жири і жирні кислоти у раціонах годівлі великої рогатої худоби. *Вісник аграрної науки*, 2006. № 8. С. 83–86.
- Вудмаска І. В., & Голубець О. В. Порівняльна характеристика жирнокислотного складу ліпідів вмісту рубця корів, інкубованого з крохмалем або цукром. Н-т. бюл. Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Львів, 2007. В.8 (№1,2). С. 80–85.
- Вудмаска І. В. Метаболізм у рубці та його вплив на жирнокислотний склад

ліпідів молока корів за різного вуглеводного і ліпідного складу раціону : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. с.-г. наук : спец. 03.00.04 «Біохімія». Львів, 2008. 32 с.

Гарр М. И. Химические и биохимические особенности растительных жиров и значение их в питании животных. В кн. Жиры в питании с.х. животных. М.: Агропромиздат, 1987. 406 с.

Цісарик О. Й. а Обмін речовин та біохімічний склад молока у корів при згодовуванні насіння ріпаку: автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : 03.00.04; Нац. акад. аграр. наук України ; Ін-т біології тварин. Львів, 2010. 33 с.

Цісарик О. Й. б Підвищення біологічної цінності молочного жиру шляхом використання в годівлі корів ліпідних добавок. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Львів, 2010. Т.12. №3(45). Ч.4. С. 89–106.

Цісарик О. Й., & Дроник Г. В. Склад жирних кислот плазми крові у корів при згодовуванні їм насіння ріпаку. Н.–Т. Бюлетень Інституту біології тварин УААН і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Львів, 2010. Вип. 11, №2-3. С. 224–231.

Цісарик О. Й., Дроник Г. В., & Дубинка І. А. Біохімічні аспекти використання насіння ріпаку в годівлі корів. Рекомендації з науково–практичним обґрунтуванням [Схвалено й рекомендовано до впровадження у виробництво секцією тваринництва НТР Мінагрополітики України 15 грудня 2009 р. (протокол № 5)]. Львів–Чернівці, 2009. 90 с.

Цісарик О. Й., Дроник Г. В., & Чаркін В. А. Рубцевий метаболізм і молочна продуктивність корів при включенні у їхні раціони дерті з насіння ріпаку. Біологія тварин, 2007. Т. 9, № 1–2. С. 176–182.

Цісарик О. Й., & Дроник Г. В. Ефективність перетравлення поживних речовин корму і молочна продуктивність при включенні ріпакової дерті до раціонів корів. Сільський господар, 2007. № 11–12. С. 18–22.

Цісарик О. Й. Ефективність згодовування ріпакового насіння в різних дозах дійним коровам середнього рівня молочної продуктивності. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького, 2008. Т.10, № 2 (37), Ч. 2. С. 323–332.

Цісарик О. Й. Моделювання складу жирних кислот молочного жиру корів шляхом згодовування насіння ріпаку. Наук.-техн. бюл. Інституту тваринництва УААН, 2009. Вип. 100. С. 481–490.

Цісарик О. Й. Патент України на корисну модель № u 2009 1056. Спосіб моделювання складу жирних кислот молочного жиру у високопродуктивних корів; заявник і власник патенту Львівський

національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Заявл. 16.10.2009, позитивне рішення 23.02.2010.

Черкавский Дж. В., & Клаппертон Дж.Л. Жиры как источники энергии в рационах для жвачных животных. В кн. Жиры в питании с.-х. Животных. М. Агропромиздат, 1987. С. 193-208.

Энсер М. Химическое, биохимическое и питательное значение жиров животного происхождения. В кн. Жиры в питании с.-х. животных. М.: Агропромиздат, 1987. 406 с.

Янович В. Г., & Сологуб Л. І. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин. Львів: «Тріада плюс», 2000. 384 с.

Янович В. Г., & Лагодюк П. З. Обмен липидов у животных в онтогенезе. М.: Агропромиздат, 1991. 317 с.

РОЗДІЛ 2 ЛІПІДИ МОЛОКА

2.1. Коротка історія досліджень ліпідів молока

До 100 річчя Dairy Science Association вийшов ряд оглядів, в яких в історичному ракурсі проаналізовано досягнення науки про молоко і молочні продукти. З-посеред них стаття «*A 100-Year Review: Progress on the chemistry of milk and its components*», присвячена історії досліджень хімічного складу молока (Lucey et al., 2017).

Сто років тому вченим було відомо, що молоко містить від 3 до 5% жиру, в основному, він є у формі ТАГ, секретується у вигляді крапель діаметром від 2 до 6 мкм, які окутані оболонкою з полярних ліпідів і білків, названою мембраною кульок молочного жиру. Також було відомо, що жир у молоці є у стані емульсії «жир у воді», однак вважалось що це – не проста емульсія. Крім того, було відомо, що крім ТАГ у складі молочного жиру є незначна кількість диацилгліцеролів, моноацилгліцеролів, вільних жирних кислот, полярних ліпідів та слідів жиророзчинних вітамінів і β -каротину. Ліпіди синтезуються в епітеліальних клітинах молочної залози у вигляді крапель з оболонкою. Ці краплі проштовхуються через апікальну мембрану епітеліальних клітин і обволікуються нею.

Сьогодні відомо, що мембрана жирових кульок є складною сумішшю білків, фосфоліпідів, глікопротеїнів, ферментів (ксантиноксидаза, фосфатаза та ін.) і мікроелементів, таких як залізо і мідь. Структура мембран може бути досить легко пошкодженою під дією механічних впливів – перекачування, перемішування, а також зберігання молока. Після пошкодження оболонки молочний жир може піддаватись дії ліпаз, що викликає прогіркання молока. В останні роки увага науковців фокусується на біологічній цінності компонентів оболонки жирових кульок.

Ще на початку минулого століття стало зрозумілим, що молочний жир є складною сумішшю ТАГ. За допомогою фракційної кристалізації вдалося виділити кілька груп змішаних ТАГ. У подальшому за допомогою процесу окиснення стало можливим розділення насичених і ненасичених ТАГ. Однак, детальний склад ТАГ молочного жиру залишався невідомим до середини 60-х років минулого століття через велику різноманітність жирних кислот та наявність коротколанцюгових жирних кислот.

На сьогодні розвиток аналітичних методів досліджень дозволив встановити, що у складі молочного жиру є понад 400 жирних кислот, тобто, що

молочний жир є найкомплекснішим з-посеред усіх харчових жирів. Однак, лише 13 жирних кислот у молочному жирі є в концентрації понад 1%, решта є мінорними. Коротколанцюгові і середньоланцюгові жирні кислоти C4:0-C14:0, а також частина C16:0 синтезуються в епітеліальних клітинах молочної залози *de novo* із попередників, зокрема, β -гідрооксибутирату. Довголанцюгові жирні кислоти поглинаються із плазми крові.

В останні роки уявлення про харчову цінність молочного жиру зазнали істотних змін. Раніше вважали, що споживання молочного жиру пов'язано із ризиком серцево-судинних захворювань та інсульту через високий вміст насичених жирних кислот. Однак, кілька наукових оглядів на основі великого масиву експериментальних досліджень вказують, що споживання молочного жиру не пов'язано з розвитком серцево-судинних захворювань (Huth & Park, 2012).

Декілька чинників спричинились до такої переоцінки. По-перше, що молочний жир складається із 66-70% насичених, 25-30% мононенасичених і 4-5 % поліненасичених жирних кислот, що являє собою добре джерело різноманітних жирних кислот, які по-різному взаємодіють в організмі. По-друге, молочний жир містить багато корисних коротко- і середньоланцюгових жирних кислот. По-третє, молочний жир є основним джерелом кон'югованої лінолевої кислоти з багатьма позитивними ефектами на здоров'я людини. У 1977 р. Пароді вперше ідентифікував цис-9, транс-11 октадекадієнову кислоту з кон'югованим подвійним зв'язком, яка є основним ізомером у складі молочного жиру (Parodi, 1977).

Багато досліджень в останні роки спрямовано на пошук шляхів зміни жирнокислотного профілю молочних ліпідів в напрямі збільшення частки поліненасичених жирних кислот. Підходи щодо цього передбачають генетичний відбір корів із вищим вмістом цих кислот у складі молочного жиру, або згодовування кормів із високим вмістом ненасичених жирних кислот. Годівельна стратегія виявилась успішною для досягнення цього ефекту (Palmquist et al., 1993).

Сьогодні молочні компанії виробляють молочні продукти зі зміненим жирнокислотним складом. Знання про жирнокислотний склад молочного жиру також привнесло багато у розуміння фізичних його властивостей, насамперед, про плавлення і затвердіння, що має великий вплив на показники консистенції молочних продуктів з високим вмістом жиру, насамперед, масла.

Оглядаючись назад, можна виділити основні віхи в історії досліджень молочного жиру: 1935 р. – вперше показано присутність кон'югованої лінолевої

кислоти у маслі; 1959 р. – запропоновано механізм утворення жирової кульки в лактоциті; 1966 р. – ідентифіковано холестерол у складі молочного жиру; 1977 р. – охарактеризовано кон'юговану лінолеву кислоту цис-9, транс-11 C18:2; 2006 р. – опубліковано протеом оболонки жирової кульки (Lucey et al., 2017).

2.2. Класифікація молочних ліпідів

Вміст жиру в молоці корів коливається від 3,0 до 6,0%, із середніми значеннями в межах 3,5-4,7% (MacGibbon & Taylor, 2006, Чагаровський та ін., 2013, Цехмістрено, 2014; Цісарик та ін., 2019). Вміст молочного жиру залежить від багатьох чинників: генетичних (Grisart et al., 2002), пори року (Salfer et al., 2019), рівня кормового жиру в раціоні (Palmquist, 2006), виду ліпідних добавок (Palmquist & Jenkins, 2017) і постачання молочної залози ацетатом (Urrutia et al., 2019) та інших.

За законом Вігнера, молочні ліпіди, які формують систему емульсії молока, а отже частинки найбільшого діаметру в полідисперсній системі молока, є компонентами молока, які в кількісному плані піддаються найбільшим коливанням (Тепел, 1979).

Молочний жир жуйних відзначається унікальною композицією, порівнюючи з іншими одомашненими ссавцями, завдяки великій різноманітності жирних кислот, що входять до нього (Цісарик & Дроник, 2008). Така різноманітність зумовлена ефектом рубцевого біогідрогенування ненасичених жирних кислот корму і рівнем синтезу жирних кислот *de novo* в тканині молочної залози (Palmquist, 2006).

Молочні ліпіди представлені такими класами (у %): ТАГ (97-98); фосфоліпіди (0,20-1,0); холестерол (0,419); 1,2-диацилгліцероли (0,28-0,59); вільні жирні кислоти (0,10-0,44); моноацилгліцероли (0,16-0,38); ефіри холестеролу (0,02), терпени (включаючи сквален, каротиноїди – сліди) (Jensen & Newberg, 1995). Приведені дані стосовно кількостей окремих класів ліпідів молока є актуальними на сьогодні (Jensen, 2002).

Горбатова приводить класифікацію, що включає вищий структурний рівень. Згідно з цією класифікацією, ліпіди молока поділяються на дві групи – ліпіди, що омиляються і ліпіди, що не омиляються. В свою чергу, ліпіди, що омиляються, поділяються на: ацилгліцероли (триацил-, диацил-, моноацилгліцероли); вільні жирні кислоти; фосфоліпіди (фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, фосфатидилінозит, сфінгомієлін і ін.); гліколіпіди (цереброзиди, гангліозиди), воски. В групу ліпідів, що не омиляються, входять: стерини (холестерин, 7-дегідрохолестерин, ланостерин,

ергостерин, β -сітостерин) і їхні ефіри; жиророзчинні вітаміни; терпени (каротини, сквален і ін.) (Горбатова, 2004).

Головним компонентом ліпідів молока є ТАГ, які становлять за масою 95-98% (Patton & Jensen, 1975). Після видоювання свіже молоко містить дуже малі кількості диацилгліцеролів, моноацилгліцеролів і вільних жирних кислот, серед диацилгліцеролів домінують у положенні sn-1,2 диацилгліцероли, які швидше є проміжними продуктом синтезу ТАГ, а не продуктами ліполізу. Склад вільних жирних кислот також відрізняється від складу естерифікованих жирних кислот, зокрема, серед них дуже малі кількості масляної кислоти, що також свідчить про те, що вони не є продуктами ліполітичної активності (MacGibbon & Taylor, 2006).

2.3. Триацилгліцероли молочних ліпідів

2.3.1. Структура триацилгліцеролів

Оскільки основна частина молочних ліпідів представлена ТАГ, вони й визначають основні їхні властивості. ТАГ є комплексною сумішшю сполук, які відрізняються молекулярною масою і ступенем ненасиченості. Композиція ТАГ залежить від складу і кількості жирних кислот. Однак, їхня структура також визначається положенням окремих жирних кислот в молекулі. Структура ТАГ здійснює вплив на дію ліполітичних ферментів, а отже абсорбцію в травному тракті. Від структури ТАГ залежить температура плавлення, кристалізаційна здатність і реологічні властивості молочного жиру (Jimenez-Flores, 1997). ТАГ здійснюють також важливий вплив на такі властивості молочного жиру, як гідрофобність і густина (MacGibbon & Taylor, 2006).

Фактори, які пов'язані із коливаннями жирнокислотної композиції ТАГ, умовно можна поділити на дві групи – внутрішні (залежні від тварини) та зовнішні (умови годівлі і утримання). Перша група чинників включає генетичні (Bilal et al., 2014), стадію лактації, стан здоров'я і, зокрема, інфекції молочної залози, використання соматотропного гормону. В другу групу чинників входить: склад та структура основного раціону (співвідношення концентрату:грубі корми, кількість і склад кормового жиру, вміст протеїну, енергетична цінність), а також впливи сезону року і регіональні особливості (Jensen, 2000).

У 1963 році Гартон повідомляв, що в ТАГ молочного жиру виявлено 64 жирні кислоти (Garton, 1963). Гартон висловив велике здивування, викликане різноманітністю ненасичених жирних кислот присутніх в складі молочних ліпідів, а також відзначив, що така комплексність пов'язана із процесами рубцевого біогідрогенування. В 1991 році Дженсен повідомив про ідентифікацію у складі молочних ТАГ біля 400 жирних кислот (Jensen et al., 1991), а в огляді,

датованому 2002 року, Дженсен повідомив про ідентифікацію у складі молочного жиру 416 жирних кислот (Jensen, 2002). З них 10-12 жирних кислот з парною кількістю атомів карбону зустрічаються в кількостях понад 1% кожна, їх називають головними. Слід підкреслити, що молочний жир корів є найбільш комплексним серед усіх натуральних жирів. Жирні кислоти ТАГ молочного жиру мають від 4 до 26 атомів карбону, вони є насиченими з парною і непарною кількістю атомів вуглецю, моно- і поліненасиченими (цис- і транс-ізомери), ізо-, антеізо- і багаторазово розгалуженими насиченими кислотами, гідрокси- і кетокислотами.

Виходячи із різноманітності головних і мінорних жирних кислот, теоретично можливими є 400^3 варіантів ТАГ. Однак, розташування жирних кислот в молекулах ТАГ є не випадковим, тому лише кілька сотень із них дійсно є присутніми у складі молочних ліпідів, більшість з яких є в слідових кількостях. У 1995 році Спенос і співавтори, застосовуючи метод високороздільної рідинної хроматографії (HPLC), розділили молочний жир на 58 ТАГ фракцій. В окремих фракціях, використовуючи маспектроскопію, було ідентифіковано 180 ТАГ (Spanos et al., 1995).

У 2001 році, використовуючи метод тонкошарової хроматографії (TLC) і гель хроматографію (gel permeation chromatography), було розділено молочний жир на фракції, фракції проаналізовано, застосовуючи HPLC-MS, в результаті чого ідентифіковано 120 ТАГ (Mottram & Evershed, 2001).

Дженсен узагальнив і представив композицію ТАГ, виходячи із кількості атомів карбону у їхніх молекулах (мас.%): C26 – 0,1-1,0%; C28 – 0,3-1,3%; C30 – 0,7-1,5%; C32 – 1,8-4,0%; C34 – 4-8%; C36 – 9-14%; C38 – 10-15%; C40 – 9-13%; C42 – 6-7%; C44 – 5-7,5%; C46 – 5-7%; C48 – 7-11%; C50 – 8-12%; C52 – 7-11%; C54 – 1-5% (Jensen, 2002). Як свідчать ці дані, серед ТАГ можна виділити дві основні групи ТАГ – з кількістю карбонів від 36 до 40, їхня частка становить біля 35%, і друга група – з кількістю карбонів 46-52, на яку припадає біля 36%.

ТАГ поділяють на класи залежно від насиченості жирних кислот у їхньому складі, зокрема, тринасичені; динасичені-мононенасичені; мононасичені-диненасичені і т.д. Стереоскопічна позиція головних жирних кислот у складі ТАГ має такий вигляд за Кейліджайеном і Ліндсеєм: 98,1% C4:0 і 93,2% C6:0 є локалізовані в sn-3 позиції; 43,5% C8:0 естерифіковано в sn-2 позиції і 52,5% у sn-3 позиції; 51,4% C10:0 локалізовано в sn-2 позиції; 59,8% C12:0 виявлено в позиції sn-2; 62,2% C14:0 естерифіковано в sn-2 позиції; 44,4% C16:0 локалізовано в sn-1 позиції і 43,1% в sn-2 позиції; 56,2% C18:0 ацилюється в sn-

1 позиції і 27,8% в позиції sn-3; 59,3% C18:1 виявлено в sn-1 позиції і 41,3% – в позиції sn-3 (Kaylegian & Lindsay, 1995).

Для розташування окремих жирних кислот також має значення молекулярна маса ТАГ, так для жирних кислот C4-C6 розташування в положенні sn-3 є преференційним для ТАГ різної молекулярної маси, тоді як кислоти C18:0 і C18:1 естерифікуються преференційно в позиціях sn-1 і sn-3 у ТАГ з високою молекулярною масою, а в позиції sn-1 в ТАГ із середньою і низькою молекулярною масою (Parodi, 1982).

Стереоспецифічне розташування жирних кислот у триацилгліцерилах має важливе значення для здоров'я людини (Small, 1991). Наприклад, підвищення кількості пальмітинової олії у 2-му положенні в бавовняній олії сприяє підвищенню атерогенних властивостей цієї олії (Kritchevsky, 1988).

Редгрейв і співавтори у досліджах на щурах (Redgrave et al., 1988) продемонстрували, що швидкість розщеплення ТАГ залежать від їх структури. Швидкість розщеплення ТАГ була меншою для 1,3-диолеоїл-2-стеароїлу і 1,3-диолеоїл-2-пальмітоїлгліцеролу, порівнюючи з триолелеїном.

За допомогою ліпідних добавок до корму можна модифікувати структуру ТАГ. Зокрема, в усіх випадках, коли ріпакову олію згодовують, або вводять її шляхом інфузування в рубець чи в сичуг, зменшувалась частка C16:0 і зростала частка C18:0 і цис-C18:1, естерифікованих у 2-му положенні, порівнюючи із контролем (про це більш детально в окремому розділі) (De Peters et al., 2001).

До структури ТАГ прикована менша увага дослідників порівняно з їхньою жирнокислотною композицією. Однак Бенкс і співавтори зазначають, що лише жирнокислотною композицією молочних ліпідів не можна пояснити значні відмінності технологічних властивостей молочних ліпідів (Banks et al., 1989).

2.3.2. Фізичні властивості триацилгліцеролів

Важливими фізичними характеристиками ТАГ є здатність тверднути і утворювати кристали різних поліморфних модифікацій, що має важливе значення у технології молочних продуктів, насамперед масла. За цими характеристиками, згідно даних ван Ейкена і співавторів, виділено три групи ТАГ: високоплавкі, які виділяються в температурних межах 25-10°C; середньоплавкі – 10-5°C і низькоплавкі – мінус 13°C і нижче (Van Aken et al., 1999).

Жирнокислотний склад відображає температуру плавлення ТАГ кожної фракції, наприклад, менше довголанцюгових жирних кислот і більше коротколанцюгових є у складі ТАГ низькоплавкої групи. Текстуральні

властивості ТАГ мають важливе значення для формування консистенції багатьох молочних продуктів. За рахунок зміни структури ТАГ шляхом згодовування ліпідних добавок можна змінити температуру плавлення молочного жиру в межах 5°C (Banks, 1987).

Молочний жир твердне за температури 5-25°C, такий діапазон зумовлений наявністю сітки кристалів у розплаві рідкого жиру (Van Aken et al., 2000). Кристали втримуються в сітці завдяки контактам – конденсаційним, які утворюються впродовж кристалізації завдяки тому що кристали, які ростуть, доторкаються і з'єднуються, або коагуляційним – завдяки флокуляції маленьких кристалічних ядер між двома кристалами (Guibault et al., 1992).

Механічна дія руйнує первинні контакти, що зумовлює розм'якшення жиру. Однак, твердість швидко відновлюється завдяки реорганізації кристалів у відносно нестійку сітку, в якій силами, відповідальними за утворення структури, є зв'язки ван дер Ваальса (вторинні зв'язки). Після цього завдяки повільному рекристалізаційному процесу відбувається формування нових первинних зв'язків (Van Aken & Visser, 2000).

Завдяки комплексності ТАГ, тверднення молочного жиру триває досить повільно, порівнюючи з багатьма іншими жирами, а на формування кристалів у найстабільнішій модифікації, яка забезпечується найбільш компактним взаємним розташуванням молекул у кристалічній ґратці, впливає багато факторів, зокрема просторова конфігурація подвійних зв'язків. Ці фактори мають важливе значення у технології масла та інших високожирних молочних продуктів.

Температура тверднення молочного жиру залежить від жирнокислотної композиції ТАГ, зростання частки ненасичених жирних кислот підвищує її. Оскільки в останні роки стратегією щодо підвищення оздоровчих властивостей молочного жиру є підвищення вмісту ненасичених жирних кислот у складі ТАГ, то увага дослідників зосереджується на реологічних властивостях молочних продуктів, виготовлених з такого молока. Результати досліджень вказують, що пластичність охолодженого масла позитивно корелює із відсотком ненасичених жирних кислот у складі жиру (Vobe et al., 2003; Couvreur et al., 2006). Зрештою, загальновідомо, що масло, виготовлене в літній період, коли тварини споживають зелені корми, багаті на ненасичені жирні кислоти, має набагато м'якшу консистенцію, ніж масло, виготовлене в зимовий період.

Чен із співавторами повідомляють, що масло, йогурт, морозиво і сир, виготовлені з молока, збагаченого ненасиченими жирними кислотами, мають м'якшу консистенцію порівняно з аналогами, виготовленими з контрольного

молока (Chen et al., 2004). Подібні результати отримано Джоунсом і співавторами щодо масла і сиру з підвищеним вмістом кон'югованої лінолевої кислоти (Jones et al., 2005).

Однак, недостатньо досліджень щодо особливостей кристалізації поліморфних модифікацій кристалів ТАГ молочного жиру із підвищеним вмістом ненасичених жирних кислот.

У роботі Смета і співавторів досліджено кристалізаційні процеси молочного жиру, у якому завдяки згодовуванню коровам насіння льону вміст насичених, мононенасичених, поліненасичених і загальних транс-ізомерів становив 61,3; 33,4; 5,29 і 5,99% проти 71,8; 25,3; 2,92 і 2,56% у жирі контрольного молока (Smet et al., 2010). Зміна жирнокислотного складу із збільшенням частки ненасичених жирних кислот призводить до зниження початкової температури кристалізації молочного жиру. Дослідження ізотермічної кристалізації показали, що збагачення ненасиченими жирними кислотами викликає повільніше зародження кристалів, подовження індукційного періоду кристалізації і зменшення вмісту твердого жиру в кінці кристалізації (Smet et al., 2010).

Реологічні властивості молочного жиру, зокрема, температура твердіння, здійснюють вплив на численні показники молочних продуктів, починаючи із відчуттів в ротовій порожнині при їхньому споживанні.

Значна увага дослідників фокусується також на вивченні термостійкості молочного жиру. Зокрема, було здійснено порівняльний аналіз терморезистентності молочного жиру, соняшникової, канолової і лляної олій, який полягав у обсмаженні картопляних чіпсів у вказаних жирах і наступному дослідженні його ефекту (Harmer & Wijesundera, 1996). Нагрівання призводить до підвищення рівня вільних жирних кислот, а також полярних компонентів, що підвищують в'язкість і діелектричні властивості в усіх жирах. Однак, полімерні сполуки були виявлені у всіх рослинних оліях, крім канолової, не виявлені вони також у молочному жирі. Така резистентність молочного жиру зумовлена відносно низьким вмістом ПНЖК.

Наявність ПНЖК зумовлює схильність до самоокиснення молочного жиру, що може призводити до утворення вільних радикалів і пероксидів, викликаючи загрозу здоров'ю споживачів та вади молочних продуктів. Підвищення стійкості до самоокиснення молочного жиру є актуальною проблемою, яка розв'язується в двох напрямках – збагачення молока природними антиоксидантами та забезпечення відповідних умов для зберігання молочних продуктів. Зокрема, було встановлено, що умовами, за яких молочний жир є повністю захищеним від

самоокиснення, є зберігання в середовищі нітрогену за температури мінус 18°C (Molkentin & Precht, 1993).

Моделюючи жирнокислотний склад, дослідники основну увагу фокусують на зміні оздоровчих властивостей молочного жиру, а менше – на фізико-хімічних його характеристиках. Однак, від фізико-хімічних властивостей залежать технологічні режими виробництва молочних продуктів, і не тільки масла.

Для прикладу, встановлено, що згодуючи екструдоване насіння льону частка насичених жирних кислот знизилась із 71 до 61%, температура плавлення знизилась на 3,8; 1,6 і 1,7°C у низько-, середньо- і високоплавкій фракціях відповідно. Одночасно частка низькоплавких ТАГ зросла із 32 до 44%, тоді як частка середньо- і високоплавких ТАГ знизилась (Smet et al., 2010). Відповідно, необхідно коректувати режими технологічних процесів при виробництві масла.

Аналізуючи температуру плавлення молочного жиру корів, яких утримували на концентратних раціонах, порівняно з вільним доступом до пасовищної трави показано, що знизилась температура плавлення і розширився її діапазон через різноманітніший склад ТАГ і більший вміст ненасичених жирних кислот, що вплинуло на властивості кристалічної решітки молочного жиру (Larsen et al., 2014).

Крім впливу на технологічні властивості молочного жиру структурні властивості ТАГ здійснюють не менш важливий вплив на його фізіологічні і поживні властивості. Відносно недавно було показано, що після споживання ТАГ в шлунку людини преференційно гідролізується естерний зв'язок в позиції sn-3, значно менше в позиції sn-1, співвідношення між гідролізом зв'язків в позиції sn-3 і sn-1 становить 4:1, тобто селективно звільняються коротші кислоти (Jensen, 2000). Результатом такої дії є те, що кислоти з довжиною ланцюга від C4 до C10 проходять через стінку шлунку у кількостях зворотно залежних від їхньої молекулярної маси, попадають у порталну вену і транспортуються в печінку, де піддаються окисненню.

Синтез молочних ліпідів у молочній залозі корів включає механізм альтернативного використання кислот C4-C10 або C18:1 та інших ненасичених жирних кислот у синтезі ТАГ для забезпечення рідкого стану інтрацелюлярних ліпідних крапель, які є попередниками жирових кульок (Timmen & Patton, 1988).

Таким чином, молоко корів містить унікальну композицію ТАГ, що складається із тисяч варіантів, а тому виникають труднощі із їхньою ідентифікацією. Важливим є те, що позиційне розташування окремих жирних кислот є не випадковим, а має певні закономірності, серед яких можна виділити преференційне розташування коротколанцюгових жирних кислот у sn-3 позиції.

У склад ТАГ включаються жирні кислоти, комбінація яких дозволяє забезпечити рідкий стан і плинність ТАГ при температурі тіла тварини. Така селективність естерифікації свідчить про те, що естерифікація підпорядковується умовам забезпечення необхідних властивостей ТАГ незалежно від жирнокислотного складу кормових ліпідів. Стереоскопічне розташування жирних кислот у ТАГ зумовлює позитивні фізіологічні ефекти в організмі людини.

2.4. Фосфоліпіди і гліколіпіди

Фосфоліпіди і гліколіпіди в молоці присутні у кількості від 12 до 35 мг/100 мл і представлені такими сполуками, у кількостях (моль%): фосфатидилхолін – 34,5; фосфатидилетаноламін – 31,8; фосфатидилсерин – 3,1; фосфатилинозитол – 4,7; сфінгомієлін – 25,2; лізофосфатидилхолін – сліди; лізофосфатидилетаноламін – сліди; (загальна кількість холін-фосфоліпідів 59,6); плазмалоген – 3; дифосфатидилгліцерол – сліди; кераміди – сліди (Jensen, 2000); цереброзиди (нейтральні гліколіпіди) – 3 мг/л (Christie & Noble, 1987); гангліозиди – 1,4 мг/л (Rueda et al., 1998).

Вміст фосфоліпідів і гліколіпідів (цереброзидів) у мас.% в молоці становить 0,02-0,04, а в молочному жирі – 0,5-1,0 (Горбатова, 2004). Знаходяться вони, в основному, в оболонці жирових кульок. Слід зазначити, що співвідношення між вмістом окремих фосфоліпідів навіть при зміні їх загальної кількості (деякі автори вказують на зменшення із перебігом лактації), залишається стабільним (MacGibbon & Taylor, 2006). Горбатова приводить такий вміст фосфоліпідів і гліколіпідів (у % від загальної їх кількості): лецитин – 33,8; кефалін – 36,3; сфінгомієлін – 20,8; фосфатидилсерин – 3,9; фосфатидилинозитол – 6; цереброзиди – 6 (Горбатова, 2004).

Слід зазначити, що дані щодо кількісного вмісту фосфоліпідів і гангліозидів, приведені різними авторами, розходяться. Так, МакГіббон повідомляє, що фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін і сфінгомієлін є приблизно в однакових кількостях – від 25 до 35%, тоді як фосфатидилсерин і фосфатидилинозитол присутні в малих кількостях – від 3 до 8% (MacGibbon & Taylor, 2006). Співвідношення між фосфатидилхоліном і сфінгомієліном становить 1,0-1,1 (Ortega-Anaya & Jiménez-Flores, 2019).

Цікаві дослідження проведені Ферейро і співавторами, які порівнювали вміст окремих фосфоліпідів в молочному жирі в органічному молоці і звичайному молоці (Ferreiro et al., 2015). Встановлено, що в молочному жирі органічного молока загальний вміст фосфоліпідів становить 0,901 проти 0,807 мг/100 г у звичайному молоці, фосфатидилетаноламіну – 0,355 проти

0,315 мг/100 г; фосфатидилінозиту – 0,054 проти 0,047 мг/100 г, фосфатидилхоліну – 0,219 проти 0,149 мг/100 г, фосфатидилсерину – 0,089 проти 0,078 мг/100 г і сфінгомієліну – 0,184 проти 0,168 мг/100 г.

Фосфоліпіди – полярні ліпіди, вони представлені гліцерофосфоліпідами і сфінгофосфоліпідами. До складу гліцерофосфоліпідів, крім залишку фосфорної кислоти і нітрогенвмісної основи, входять залишки жирних кислот, в положенні sn-1 – довголанцюгова насичена жирна кислота, в положенні sn-2 – довголанцюгова ненасичена жирна кислота.

Головними жирними кислотами фосфоліпідів є, у %: C14:0 (4,38); C16:0 (24,7); C18:0 (18,3); цис-9 C18:1 (30,1); C18:2 (7,93) (Lashkari et al., 2020). Зокрема, фосфатидилхолін містить у %: C12:0 – 1; C14:0 – 7; C16:0 – 28; C18:0 – 6; C18:1 – 41; C18:2 – 13; C18:3 – 2; C20:3 – 1; C20:4 – 1, тоді як фосфатитидилетаноламін не містить C12:0, значно менше C14:0 – 1 і C16:0 – 10; C18:0 – 10; C18:1 – 58; C18:2 – 15; C18:3, C20:3 і C20:4 аналогічні кількості (Jensen, 2002).

Жирнокислотна композиція фосфоліпідів коров'ячого молока залежить від породи тварин, раціонів годівлі, розмірів жирових кульок і зразків (повноскладове молоко, вершки чи оболонки жирових кульок) (Lopez et al., 2008). Фосфоліпіди, як і ТАГ, походять із диацилгліцеролів, і їхня жирнокислотна композиція є подібною, а сфінгомієлін синтезується особливим шляхом, і включення жирних кислот відбувається також особливо (Bitman & Wood, 1990).

Сфінгомієлін містить у своїй молекулі неполярну частину – замість гліцеролу залишок сфінгозину – дигідроокси C18 аміноспирт (D18:1), зв'язаний амідним зв'язком із залишком жирної кислоти (переважно довголанцюгова насичена, якою може бути C16:0, C22:0, C23:0 або C24:0) і полярну частину, представлену залишком фосфату і холіном (MacGibbon & Taylor, 2006). Сфінгомієлін включений до групи фосфоліпідів завдяки подібним властивостям, особливо із фосфатидилхоліном. Головними жирними кислотами сфінгомієліну є C16:0 (37,5%), C18:0 (5,49%), C22:0 (15,2%), C23:0 (16,8%), C24:0 (12,7%) (Lashkari et al., 2020). Для сфінгомієліну характерним є високий вміст довголанцюгових насичених жирних кислот (Lopez et al., 2017), які включені у взаємодію з холестеролом (Lopez et al., 2018).

Взаємодія між сфінгомієліном і холестеролом є визначальною у формуванні ліпідних рафтів – сфінгомієлін холестерол-збагачених субмембранних доменів у клітинних мембранах, необхідних для функціонування клітин (Slotte, 1999). Такі ліпідні рафти також присутні в оболонках жирових

кульок (Lopez et al., 2010), що свідчить про те, що ліпідні рафти відіграють біологічну роль у гідролізі і абсорбції молочного жиру в кишківнику.

Відкриття антионкогенної дії сфінгомієліну зумовило значний інтерес до вивчення факторів, які впливають на його вміст у складі молочних ліпідів. Недавні повідомлення свідчать, що, великою мірою, його вміст залежить від породи корів – у молоці корів голштинської породи вміст сфінгомієліну у півтора рази вищий, порівнюючи із джерсейською (Graves et al., 2007).

Небагато досліджень присвячено впливу згодовування ліпідних добавок на жирнокислотний склад фосфоліпідів. Зокрема, встановлено, що підвищення споживання ненасичених жирних кислот призводить до зростання частки ненасичених жирних кислот у фосфоліпідах (Lopez et al., 2008).

Лашкарі і співавтори дослідили вплив згодовування подрібненого насіння соняшника у кількості 5; 10 і 15% від СР раціону на жирнокислотну композицію фосфоліпідів і сфінгомієліну, зокрема, а також на транскрипцію генів, включених у регуляцію синтезу сфінгомієліну в молочній залозі (Lashkari et al., 2020). Авторами встановлено, що концентрація фосфоліпідів в молочному жирі знижується лінійно із зростанням кількості насіння соняшника, а вміст сфінгомієліну при цьому не змінюється. Включення насіння соняшника до раціонів призводить до лінійного зростання частки ненасичених і, зокрема, мононенасичених жирних кислот у фосфоліпідах. Головним ізомером, який включається у фосфоліпіди, є цис-9 С18:1, частка якого також лінійно зростає із дозою соняшникового насіння, зростає частка С18:2, але знижується С18:3. При цьому знижується частка С16:0, однак, зростає С18:0. Також зростає лінійно частка С22:0 у сфінгомієліні із збільшенням кількості насіння – від 15,2 до 25,4% від загальної кількості жирних кислот у складі сфінгомієліну. Однак, знижується частка С23:0 і ПНЖК родини n-3 у жирнокислотній композиції сфінгомієліну. Із зростанням кількості насіння в раціоні знижується транскрипція серин пальмітоїлтрансферази, довголанцюгової субодиниці 1 (SPTLC1) і субодиниці 2 (SPTLC2) – ключові швидко-залежні ензими синтезу керамідів (Lashkari et al., 2020).

Відсутність істотних відмінностей у складі жирних кислот сфінгомієліну на тлі згодовування соняшникового насіння автори пояснюють тим, що регуляція секреції сфінгомієліну мало залежить від годівельних чинників, однак, вона може включати координацію та регуляцію катаболізму і синтезу жирних кислот у тканинах організму і, зокрема, в молочній залозі. Автори також пояснюють баланс між зростанням насичених жирних кислот у складі сфінгомієліну і зростанням ненасичених жирних кислот у фосфоліпідах

підтриманням властивостей оболонки жирових кульок, а саме, структурної ролі сфінгомієліну у наданні жорсткості оболонкам, тобто підвищення плинності балансується підвищенням жорсткості. Для цієї мети мобілізуються жирні кислоти із жирових депо (Lashkari et al., 2020).

Хоча полярні ліпіди займають дуже малу частку у складі ліпідів, вони відіграють важливу роль, тому що поєднують у своїх молекулах гідрофільну і гідрофобну природу. Ця унікальна характеристика полярних ліпідів забезпечує стабілізацію емульсії молочного жиру у водному середовищі молока, а також співіснування відносно високих концентрацій молочного жиру і протеїнів в полідисперсній системі молока (Deeth, 1997).

Біля 60-65% фосфоліпідів асоційовані із мембранами жирових кульок. Властивості фосфоліпідів зумовлені не тільки дифільним характером їхніх молекул, але й функцією структурних особливостей останніх. Завдяки наявності полярної і неполярної частин у молекулах фосфоліпідів, вони наділені емульгуючою здатністю, і на поверхні розділу фаз жир-плазма утворюють мономолекулярні плівки (Нечаев і ін., 2001).

Особливо важливу роль в цьому плані відіграє фосфатидилхолін; висока швидкість його синтезу і здатність знижувати поверхневий натяг між зростаючими жировими кульками і цитоплазмою дозволяє розглядати його інтегральною одиницею серед усіх мембранних фосфоліпідів (Грачев и др., 1976). Функція фосфоліпідів полягає у забезпеченні проникності мембран завдяки своїй гнучкості (Dewettinck et al., 2009).

Важливою властивістю фосфоліпідів є здатність взаємодіяти з білками, що зумовлює їхню роль у побудові біологічних мембран. На відміну від ТАГ, які за температури тіла є рідиною, фосфоліпіди є в напіврідкому, але наближеному до твердого, стані, що зумовлює їхню важливу роль у забезпеченні пластичних властивостей біологічних мембран, в тому числі і мембран жирових кульок (Горбатова, 2004).

Оскільки фосфоліпіди містять залишки ПНЖК, то вони відносно легко окиснюються киснем повітря, особливо в присутності іонів купруму і феруму. В той же час, фосфоліпіди мають властивості антиоксидантів, причому в присутності антиоксидантів фенольного характеру спостерігається синергічний ефект (Тютюнников и др., 1992). У молочних продуктах, оскільки їхній склад є комплексним, фосфоліпіди залежно від рН, частки води, їх видового складу можуть діяти як про-, так і як антиоксиданти (Chen & Nawar, 1991).

Технологічне оброблення, перерозподіляє фосфоліпіди. Так, у незбираному молоці, маслянці і знежиреному молоці їхній вміст становить,

відповідно, 14, 72 і 9 мг% (Christie et al., 1987). При цьому відбувається певний перерозподіл окремих фосфоліпідів. Так, у молоці міститься фосфатидилетаноламіну, фосфатидилхоліну і сфінгомієліну 34, 30 і 33,8% від загального вмісту фосфоліпідів, у маслянці – 38,1, 29,5 і 25,1%, у знежиреному молоці – 37,2, 31,2, 29,3% відповідно (Christie et al., 1987). При сепаруванні молока, фосфоліпіди, які є у складі оболонки жирових кульок, переходять разом з нейтральними ліпідами у вершки, тоді як фосфоліпіди, асоційовані із фрагментами мембранних протеїнів, залишаються у водному середовищі знежиреного молока (MacGibbon & Taylor, 2006). При гомогенізації і пастеризації молока 5-15% фосфоліпідів переходить з оболонки жирових кульок у водну фазу.

У вершковому маслі вміст фосфоліпідів, великою мірою, залежить від способу його виробництва. При збитті вершків у маслянку переходить значна кількість фосфоліпідів, сягаючи 22% від загального вмісту жиру (0,6%), що становить 0,13% (MacGibbon & Taylor, 2006). Спосіб перетворення високожирних вершків у масло забезпечує значно вищий вміст у ньому фосфоліпідів (Гуляев-Зайцев, 1974). Горбатова повідомляє, що при збиванні вершків у масло 55-70% фосфоліпідів вершків залишається у маслянці. При виробництві сиру основна частина фосфоліпідів переходить у сирну масу (Горбатова, 2004).

Леткі сполуки, які утворюються при нагріванні молока чи продуктів його перероблення, великою мірою, походять саме із фосфоліпідів, тому що вони містять, по-перше багато поліненасичених жирних кислот, а по-друге, знаходяться у складі оболонки жирових кульок на їх поверхні і контактують з водною фазою і киснем, тому піддаються окисації. Але особливо багато летких сполук утворюються при висушуванні молока, коли фосфоліпіди контактують із гарячим повітрям (Christie et al., 1987).

Глікофінголіпіди представлені нейтральними гліколіпідами і гангліозидами. Вміст глікофінголіпідів становить 3-6% від загальної кількості полярних ліпідів (MacGibbon & Taylor, 2006). Біля 70% гліколіпідів асоційовані з мембранами жирових кульок (Jensen, 2002).

Найважливішими представниками нейтральних гліколіпідів (цереброзидів) є кераміди, які аналогічно до сфінгомієліну, містять спирт сфінгозин і довголанцюгову жирну кислоту, але не містять залишку фосфорної кислоти, а натомість, глюкозу, або дицукрид – лактозу (Christie et al., 1987).

Гангліозиди мають дуже складну структуру, вони побудовані із кераміду і олігосахаридного ланцюга, який у своєму складі має один або більше залишків

N-ацетилнейрамінової (сіалової) кислоти плюс декілька цукрів, зокрема, глюкозу і галактозу (Jensen, 2002). Головними жирними кислотами гангліозидів, подібно як і сфінгомієліну, є C22:0, C23:0, C24:0 і C16:0 (MacGibbon & Taylor, 2006).

Специфічні назви гангліозидів (G), включають позначення M, D, T і Q, що відповідно, означають кількість сіалових груп – одну, дві, три чи чотири, а цифри показують кількість залишків цукрів. Головним представником, на частку якого припадає близько 50% від усіх гангліозидів, є GD3, другим за кількістю (20%) є GM3 (Keenan & Dylewski, 1995).

Встановлено, що гангліозидний профіль апікальних плазматичних мембран секреторного епітелію молочної залози є аналогічним до такого у оболонках жирових кульок, і в них локалізовано біля 90% усіх гангліозидів молока (Keenan & Patton, 1995).

Цікавим є те, що жіноче молоко містить в десять разів більше гангліозидів, а тому жіноче молоко не може бути перетворене у масло. Значна кількість гангліозидів міститься у збитих вершках і сухих вершках (Jensen, 2002).

Високий рівень гангліозидів є в молозиві (3,5 мкг/г молока), він знижується більше, ніж в три рази із перебігом лактації однак в стародійному молоці знову підвищується (1,9 мкг/г молока) (Martin et al., 2001).

Нейтральні гліколіпіди, глікозил- і лактозилкераміди, інгібують проліферацію клітинних колоній і формування аберуючих крипт у культурі клітин CF-1 мишей, підданих дії 1,2-диметилгідразину (Schmelz et al., 2000).

2.5. Стероли

Молоко містить від 10 до 20 мг% стеролів, тобто від 308 до 606 мг/100 г жиру в молоці з м.ч.ж. 3,3%. Головним представником стеролів є холестерол, на нього припадає 95%, біля 10% холестеролу є в естерифікованій формі (Jensen, 1995). Головними жирними кислотами, які беруть участь у естерифікації холестеролу, є ліолева або олеїнова кислота (Энсер, 1987). Інші стероли, які присутні в молоці в малих кількостях, це – дегідрохолестерол, ланостерол, ергостерол і β -сітостерол (Горбатова, 2004).

Вміст стеролів позитивно корелює із вмістом жиру в молочних продуктах, наприклад, у знежиреному молоці (у мг/100 г) міститься 2, у вершках з м.ч.ж. 25% – 88, у сирі чеддер – 105, швейцарському – 92, у маслі (з м.ч.ж. 81%) – 219, у морозиві пломбір – 44 (Jensen, 2002). Однак, у складі жиру найбільша кількість холестеролу є в знежиреному молоці – 44 мг/г, висока в маслянці – 8,5 мг/г, тоді як в молоці – 3 мг/г. Це пов'язано із основним місцем його локалізації, і

переходом найменших жирових кульок відповідно при сепаруванні у знежирене молоко, а при збитті вершків – у маслянку (MacGibbon & Taylor, 2006).

Холестерол локалізується, в основному, в мембранах жирових кульок, дуже незначна його частина зв'язана з β -лактоглобуліном (Wang et al., 1997). Гідрофільна гідроксильна група холестеролу в мембранах зв'язується з полярним кінцем фосфоліпідів (Энсер, 1987).

Дослідження американських вчених показали, що споживання молочних продуктів може знизити біосинтез холестеролу в печінці дорослої людини і зменшити його рівень в крові. Автори вважають, що інгібітором процесу біосинтезу холестеролу із ацетату є оротова кислота, яка міститься у великих кількостях в коров'ячому молоці. Інший інгібітор знаходиться у складі фракції, яку раніше ідентифікували як протеозо-пептонна (Горбатова, 2004). Рівень холестеролу в крові знижує також сфінгомієлін, перешкоджаючи його абсорбції в кишечнику (Spitsberg, 2005; Lopez, 2011). Ефект інгібування полягає у фізичній взаємодії фосфоліпідів і холестеролу в тонкому кишечнику, що знижує поглинання клітинами обох компонентів (Eckhardt et al., 2002). Цей взаємозв'язок між холестеролом і сфінголіпідами залежить від жирнокислотної композиції фосфоліпідів, тому що доголанцюгові насичені жирні кислоти фосфоліпідів проявляють сильнішу взаємодію з холестеролом, ніж ненасичені (Lange & Steck, 2008).

Проводяться дослідження, спрямовані на зміну профілю стеролів у молоці, зокрема, підвищення частки фітостеролу. Для цього рубцево захищені збагачені фітостеролом корми згодовували коровам і досліджували вміст стеролів у молоці. Встановлено, що така стратегія допомагає знизити рівень холестеролу у молоці на 12-20%, вміст фітостеролу становить < 0,12 мг/100мл при нормі його добового споживання 2 г. Автори підсумовують, що годівельними чинниками важко добитись істотної зміни холестеролового профілю молока (Duong et al., 2019).

2.6. Жирні кислоти

Склад жирних кислот молочних ліпідів дуже цікавий з точки зору впливу на здоров'я людини та профілактику різних захворювань, чому приділяється все більше уваги. Молочний жир містить різноманітні жирні кислоти, деякі з них тепер зазначаються на етикетках харчових продуктів. Крім того, молочний жир і його жирні кислоти відповідають за сенсорні та фізичні властивості молока та молочних продуктів. Жирнокислотний склад також впливає на технологічні

особливості виробництва молочних продуктів. Розвиток і нинішній стан аналітичних можливостей щодо ліпідів дозволив їх детально представити.

За останніми повідомленнями вміст жирних кислот в молочному жирі становить $94,4 \pm 0,2\%$ (Glasser et al., 2007). В огляді Дженсена вказується про те, що кількість індивідуальних жирних становить 416, при цьому зазначається, що їх є більше, оскільки останнім часом ідентифіковано нові три- і тетраєнові кислоти (Jensen, 2002). Станом на грудень 2000 року ідентифіковано жирних кислот: нормальних насичених – 27; монорозгалужених – 56; мультирозгалужених – 17; моноєнових цис- – 65, транс- – 64; дієнових – 50; полієнових три- – 12, тетра- – 5, пента- – 2, гекса- – 1, кето- насичених – 45; кето-ненасичених – 19; гідрокси- в 2-ій позиції – 27, в 4 і 5-й позиції – 29, в інших позиціях – 5; циклічних – 10 (Jensen, 2002).

Жиринокислотну композицію молока, звичайно, складає 70% насичених жирних кислот, 25% мононенасичених і 5% поліненасичених (Grummer, 1991). МакГіббон і Тейлор наводять вищі показники вмісту насичених жирних кислот – 70-75% (MacGibbon & Taylor, 2006).

Аналіз жирних кислот молочних ліпідів в США за результатами досліджень зразків з 56 молокопереробних підприємств в різних регіонах упродовж року, що охоплює різні географічні й кліматичні варіації, вказує, що частка насичених жирних кислот становить 63,7%, з них пальмітинової і стеаринової – 44,1 і 18,3% від загальної кількості насичених кислот, відповідно (O'Donnell-Megarò et al., 2011). У Данії в молочних ліпідах частка насичених жирних кислот сягає 73-74% в зимовий період і 68-69% – в літній (Nesck et al., 2009).

До насичених жирних кислот прикута особлива увага, оскільки їх споживання пов'язують з ризиком кардіоваскулярних захворювань. Правда, є індивідуальні розбіжності, жирні кислоти C4:0, C6:0, C8:0, C10:0 і C18:0 вважаються нейтральними (Kris-Etherton & Yu, 1997), а лауринова (C12:0), міристинова (C14:0) і пальмітинова (C16:0) можуть спричиняти ризик кардіоваскулярних захворювань, оскільки викликають підвищення рівня холестерол-ліпопротеїнів низької щільності. Однак, ці кислоти одночасно викликають підвищення рівня й холестерол-ліпопротеїнів високої щільності, що, навпаки, є індикатором попередження кардіоваскулярних захворювань. Менсінк зі співавт. підсумував результати 60 клінічних досліджень, які засвідчують, що ці кислоти не змінюють співвідношення загального холестеролу до холестерол-ліпопротеїнів високої щільності порівняно з ізоенергетичною кількістю вуглеводів (Mensink, 2003).

Серед жирних кислот від 18 до 24% припадає на мононенасичені цис-ізомери, домінуючою є олеїнова кислота – 15-21%. Відносно малі, однак важливі кількості цис-C14:1 і цис-C16:1, відповідно біля 1% і 1,5% (MacGibbon & Taylor, 2006). За результатами досліджень жирнокислотної композиції молочних ліпідів у США частка мононенасичених жирних кислот становить 29,1% від загальної кількості жирних кислот, олеїнова кислота є домінуючою, на неї припадає 23,6% загальної кількості жирних кислот (O'Donnell-Megarо et al., 2011). Споживання високих доз олеїнової кислоти, що є основою середземноморської дієти, є запорукою профілактики серцево-судинних захворювань (Mensink et al., 2003). Вона відіграє важливу роль у наданні маслу пластичності (Focant et al., 1998) і, що більш важливо, ця кислота зумовлює кардіопротекторний вплив на організм людини завдяки судинному антиатерогенному впливу (Massaro et al., 1999).

Звичайно споживання коровами олеїнової кислоти з кормами є незначним, однак завдяки Δ^9 - десатуразній активності у секреторних клітинах молочної залози у насичених жирних кислотах утворюється подвійний цис-зв'язок біля 9 карбону і, як результат, утворюються олеїнова, міристоолеїнова і пальмітоолеїнова кислоти.

Із поліненасичених цис-ізомерів в молочному жирі представлені лінолева (1,2-1,7%) і α -ліноленова (0,9-1,2%) (MacGibbon & Taylor, 2006). Дві останні кислоти є особливо важливими, оскільки вони є незамінними, а крім того, попередниками арахідонової, ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот. За результатами досліджень у США, вміст цих жирних кислот у складі молочного жиру становить 4,1% (O'Donnell-Megarо et al., 2011), це істотно вищі показники, ніж у огляді МакГібона (MacGibbon & Taylor, 2006). Слід зазначити, що якщо відносно насичених і мононенасичених жирних кислот існують істотні сезонні відмінності, які полягають у зменшенні частки перших і збільшенні других у складі молочного жиру в літній період, то щодо ПНЖК істотних сезонних відмінностей не виявлено (O'Donnell-Megarо et al., 2011).

Середній вміст транс-ізомерів в молочному жирі у США становить 3,2% від загальної кількості жирних кислот. Домінуючою в кількісному відношенні є вакценова (транс-11 октадеценова) кислота, частка якої може коливатися в складі ліпідів молока в широких межах – від 1,91 до 6,34% із середніми значеннями 3,74%, займаючи від 30 до 60% загальних транс-18:1 (Precht & Molkentin, 1996). Крім цієї ізомерної форми, в молоці можуть бути ще 13 індивідуальних транс-C18:1 ізомерних форм – від Δ_4 до Δ_{16} (Precht & Molkentin, 1996).

Серед транс-октадекадієнових жирних кислот лише дві транс-11 ізомерні форми є у відносно вищих концентраціях, серед них особливо важливе місце

належить РК (цис-9, транс-11 C18:2), частка якої коливається від 0,25 до 1,95% в жирнокислотному складі, а також транс-11, цис-15 C18:2, частка якої в середньому є близько 0,33%. Вміст РК (цис-9, транс-11 C18:2) сягає 5,5 мг/г жирних кислот (O'Donnell-Megaro et al., 2011). Про подібні кількості вказано в роботах, що аналізують її вміст в молочному жирі в Нідерландах – 5,4 мг/г (Heck et al., 2009) і у США у спеціально маркованих зразках молока – від 5,7 до 7,0 мг/г (O'Donnell et al., 2010). РК становить 80-90% від загальної кількості C18:2 кислот із кон'югованим подвійним зв'язком (Parodi, 1977). Інші ізомерні форми є в малих концентраціях (Precht & Molkentin, 1997).

Про наявність в молочному жирі октадекадієнових кислот із кон'югованими зв'язками відомо більше, ніж 70 років, однак відносно недавно встановлено антиканцерогенні властивості цис-9, транс-11 C18:2, що дало потужний поштовх до вивчення інших її унікальних властивостей та способів підвищення цієї кислоти в молочному та яловичому жирі.

Інші жирні кислоти відносяться до мінорних, вони не мають істотного практичного значення, однак їхня структура та походження становлять науковий інтерес (MacGibbon & Taylor, 2006). Біля 400 жирних кислот є мінорними, з них лише близько 40 є в кількостях понад 0,01% (MacGibbon & Taylor, 2006). До мінорних кислот відносяться: насичені з непарною кількістю атомів карбону (C9, C11, C13, C15, C17, їх вміст становить в сумі біля 2% від загальної кількості); насичені високомолекулярні (C22, C24, C26 із загальним вмістом біля 0,2%); насичені з розгалуженим ланцюгом атомів вуглецю (ізо-C13, антеізо-C15 і ін. становлять біля 1%), які мають нижчі точки плавлення, порівнюючи із жирними кислотами з прямим ланцюгом з такою самою кількістю атомів вуглецю; ненасичені високомолекулярні з одним подвійним зв'язком (C20:1, C22:1 – ерукова, C23:1, C25:1 із загальною кількістю 0,01-0,05%); поліненасичені із 2-6 подвійними кон'югованими і некон'югованими зв'язками (C20:2; C20:3, C18:4, C22:4, C20:5, C22:6, три останні з яких відносяться до родини n-3; транс- і цис-позиційні ізомери лінолевої і лінолевої кислот (Jensen, 2002).

Нами досліджено жирнокислотний склад та встановлено характеристику жирних кислот ліпідів молока корів української червоно-рябої молочної породи у зимово-стійловому періоді у Чернівецькій області (табл. 2.1 і 2.2, дані не опубліковані).

Таблиця 2.1

Склад жирних кислот ліпідів молока, % загальної кількості жирних кислот

Код жирних кислот	%
C4:0	3,87
C6:0	3,64
C8:0	1,42
C10:0	3,09
C12:0	3,49
C14:0	11,6
ізо-C14:0	0,26
антеізо-C14:0	0,55
C14:1	0,86
C15:0	1,11
C15:1	0,72
C16:0	28,72
ізо-C17:0	0,36
антеізо-C17:0	0,24
цис-9 C16:1	1,67
C17:0	0,58
C17:1	0,23
C18:0	10,75
транс-6 C18:1	0,30
транс-9 C18:1	0,25
транс-10 C18:1	0,36
транс-11 C18:1	1,15
цис-6 C18:1	0,38
цис-9 C18:1	21,60
цис-11 C18:1	0,99
цис-12 C18:1	0,40
транс-9, цис-12 C18:2	0,04
цис-9, цис-12 C18:2	2,05
C20:0	0,15
цис-9, транс-12, цис-15 C18:3	0,09

<i>Продовження табл. 2.1</i>	
C20:1	0,06
цис-9, цис-12, цис-15 C18:3	0,20
цис-9, транс-11 C18:2	0,12
C21:0	0,06
C20:2	
C22:0	0,07
цис-8, цис-11, цис-14 C20:3	0,08
цис-5, цис-8, цис-11, цис-14 C20:4	0,12
C23:0	0,04
C24:0	0,04
C20:5	0,04

Таблиця 2.2

**Характеристика складу жирних кислот ліпідів молока корів, %
загальної кількості жирних кислот**

Показники	
Сума насичених	68,75
Сума ненасичен	31,26
Ненас./Насич.	0,46
Сума C4-C10	10,77
Сума C12-C16	46,87
Сума C16	30,38
Сума C18	38,65
Сума > 18	0,64
Сума n-6	2,69
Сума n-3	0,29
n-3/n-6	0,11
Сума непарних	2,51
Сума розгалужених	1,41
Дес. C14:1 ¹	0,064
Дес. C16:1 ²	0,055
Дес. C18:1 ³	0,68

<i>Продовження табл. 2.2</i>	
Дес. КЛК ⁴	0,09
Сума транс С18:1	2,06

Примітки:

¹ – десатуразний індекс: $C14:1/(C14:0+C14:0)$

² – десатуразний індекс: $C16:1/(C16:1+C16:0)$

³ – десатуразний індекс: $\text{цис } C18:1/(\text{цис } C18:1+C18:0)$

⁴ – десатуразний індекс $\text{цис-9, транс-11 } C18:2/(\text{цис-9, транс-11 } C18:2+\text{транс-11 } C18:1)$

Дженсен у своєму огляді вказує (Jensen, 2002), що молочний жир містить біля 60 гідрокси- жирних кислот, з них С4-гідрокси- і С5-гідрокси-кислоти є важливими, тому що вони перетворюються відповідно у 4-карбонові (γ) і 5-ти карбонові (δ) лактони, які є головними сполуками, що зумовлюють смаково-ароматичні властивості молочного жиру. Крім того, близько 60 кислот є кетокислотами, які при нагріванні молочного жиру декарбоксілюються, перетворюючись в метилкетони, які формують аромат нагрітого масла (Brachary & Christie, 1992).

Цінні дослідження проведені Діманом і співавторами, присвячені дослідженням вмісту окремих жирних кислот в різних молочних продуктах – повноскладове молоко, вершки, масло, йогурт, сметана, к/м сир і сири (в загальному 180 зразків) у США (Dhiman et al., 2007). Авторами встановлено, що вміст насичених жирних кислот становить 63,9-66,3% від загальної кількості жирних кислот, причому у молоці їх вміст найменший. Частка мононенасичених жирних кислот коливається від 24,7 до 26,1% від загальної кількості, найвищий їх вміст є в молоці порівняно з іншими молочними продуктами. Вміст поліненасичених жирних кислот, кислот родини n-6 і n-3 становить, відповідно 4,45-4,93; 3,19-3,80 і 0,51-0,64% від загальної кількості жирних кислот. Частка загальних транс- ізомерів жирних кислот (16:1 і 18:1) коливається від 4,52 до 5,31% від їх загальної кількості.

Кількість карбонів у жирних кислотах, ступінь ненасиченості і позиція у молекулі ТАГ здійснює вплив на поживні і фізичні властивості, а також споживчу акцепцію продуктів, що містять молочний жир (Hillbrick & Augustin, 2002).

Істотну роль відіграє конфігурація подвійних зв'язків в ненасичених жирних кислотах, здійснюючи вплив на фізичні показники молочного жиру, в першу чергу, на температуру плавлення. Так, цис-конфігурація зумовлює повний згин у карбоновому ланцюгу, тоді як транс- конфігурація – лише легкий вигин. Ці відмінності мають важливий вплив на розташування молекул ТАГ в

кристалічній гратці: ТАГ із кислотами у цис-конфігурації мають менш щільне пакування, і відповідно нижчу температуру плавлення, порівнюючи із ТАГ, що мають в своєму складі кислоти з транс-конфігурацією або насичені жирні кислоти.

Жирнокислотна композиція молочного жиру не є стабільною, а підлягає впливам різних факторів, серед яких можна виділити генетичні (Bobe et al., 2008; Bilal et al., 2014), стадію лактації і кількісний та якісний склад раціону (Butler et al., 2011).

Моуейт і співавтори на підставі 29 публікацій 1992-2006 рр., які включали результати 120 дослідів, проведених на коровах голштинської породи, проаналізували у програмі Excell 2006 вміст основних 26 головних жирних кислот молочного жиру від C4:0 до C22:6 і встановили середні значення, межі коливань і стандартні відхилення, а також кореляційні залежності як у вмісті індивідуальних жирних кислот, так і вмісті ізомерних форм (Moate et al., 2007). Зокрема, встановлено, що домінуючими кислотами є такі (середні значення вмісту яких та межі коливань, відповідно, становлять у мг/г жирних кислот): C14:0 – 103,8; 63,3-135,0; C16:0 – 285,1; 147,1-462,1; C18:0 – 105,1; 30,6-268,7; C18:1 – 205,0; 70,3-371,4. Із жирних кислот, які мають важливе біологічне значення, слід виокремити такі (із середніми значеннями та межами коливань у мг/г): транс-11 C18:1 – 33,3; 5,8-99,5; цис-9, транс-11 C18:2 – 10,2; 2,8-24,5. Вміст кислот, що пов'язані з молочножировою депресією, становить (із середніми значеннями та межами коливань у мг/г): транс-10 C18:1 – 13,1; 0,3-64,7; транс-10, цис-12 C18:2 – 0,4; 0-1,4. Вміст кислот, які синтезуються *de novo*, такий: 232,6; межі коливань 36,6-300,6 мг/г.

Як свідчать приведені дані про межі коливань, існують значні можливості для моделювання вмісту окремих жирних кислот, які здійснюють вплив як на здоров'я людини, так і на метаболічні процеси в молочній залозі корів.

Авторами було проаналізовано відхилення у вмісті жирних кислот залежно від способу утримання корів і встановлено, зокрема, що концентрація C15:0 і C17 кислот позитивно корелює із споживанням коровами свіжої трави, така сама залежність характерна і для вмісту загальних транс-18:1 кислот (Moate et al., 2007). Щодо вмісту цис-9, транс-11 18:2, то не встановлено істотних відмінностей між пасовищним і стійловим утриманням, на противагу повідомленням Келлі і співавторів, які констатували значно вищий вміст РК у складі молочного жиру при випасанні корів (Kelly et al., 1998). Однак Моейт і співавт. (Moate et al., 2007), зазначають, що такі несподівані результати стосовно вмісту РК можуть бути спричинені тим, що в раціони під час стійлового

утримання в більшості годівельних дослідів, які були проаналізованими, входив риб'ячий жир, який, як відомо, сприяє значному підвищенню вмісту вказаного ізомеру (AbuGhazaleh et al., 2003).

Щодо корелятивних залежностей індивідуальних жирних кислот, то слід відзначити позитивну кореляцію окремих жирних кислот, які синтезуються *de novo*, із загальною кількістю *de novo* синтезованих кислот, а також із вмістом жиру в молоці. Існує чітка кореляція між вмістом C18:0 і цис-9 C18:1, що є підтвердженням того, що C18:1 продукується в молочній залозі дією Δ^9 -десатурази із C18:0. Ще одна цікава корелятивна залежність полягає в тому, що концентрація ненасичених жирних кислот гуморального походження позитивно корелює із концентрацією кожної із них, однак негативно із концентрацією загальних *de novo* синтезованих жирних кислот (Moate et al., 2007).

Концентрація цис-9 C18:1 негативно корелює із концентрацією C20:5, що вказує на можливість інгібування C20:5 кислотою Δ^9 -десатуразної реакції. Крім того, встановлено кореляцію між вмістом C20:5, яка є головною у рибній олії, у складі молочного жиру і зниженням вмісту жиру в молоці (Moate et al., 2007).

Комплексна матриця позитивних і негативних кореляцій між індивідуальними жирними кислотами свідчить, що необхідні індивідуальні рівняння для передбачення, яким чином фактори годівлі і індивідуальні фактори тварини впливають на продукцію окремих жирних кислот.

Оскільки в складі молочних ліпідів є жирні кислоти, які є незамінними (лінолева і ліноленова), а також вищі ПНЖК, які наділені цінними біологічними властивостями, вивчення можливостей підвищення їхнього вмісту в молоці є одним із стратегічних напрямів сучасної біохімії молока і фізіології лактації. Відкриття останніх років важливих біологічних ролей кон'югованих транс-ізомерів лінолевої кислоти, а саме антиканцерогенних властивостей ізомеру цис-9, транс-11 C18:2 та властивостей спричиняти молочножирову депресію молоці транс-10 C18:1 ізомеру викликало підвищений інтерес дослідників до транс-ізомерів жирних кислот, особливо розкриття механізмів їхньої біологічної дії, а також моделювання їхнього вмісту в молоці.

Від 5 до 15% загальної кількості C18:1 кислот може бути в транс-конфігурації у коров'ячому молоці (Selner & Schultz, 1980), в козячому молоці (Alonso et al., 1999) і жіночому молоці (Guesnet et al., 1993). Однак, пропорція між різними позиційними ізомерами відрізняється у різних видів, в коров'ячому і козячому молоці головною є ВК (транс-11), на її частку припадає 35-40% (Alonso et al., 1999; LeDoux et al., 2002), тоді як в жіночому молоці подвійний зв'язок, в основному, локалізується між 6 і 14 вуглецьями (Precht & Molquentin,

1999). Молоко моногастричних тварин не містить вакценової і цис-9, транс-11 КЛК у складі жиру (Jahreis et al., 1999).

Вільні жирні кислоти присутні у сирому молоці в кількостях 273,4 – 415 мг/кг молока, при цьому основна їх частина присутня у жирі та мембранах жирових кульок і менше ніж 10% їх знаходиться у сироватці, вільній від ліпідів. Окремі жирні кислоти представлені в таких кількостях (у окремому зразку), у мг/кг молока: C4:0 – 30,3; C6:0 – 13,5; C8:0 – 28,3; C10:0 – 23,2; C12:0 – 22,6; C14:0 – 36,4; C16:0 – 81,9; C18:0 – 35,8; C18:1 – 105,2; C18:2 – 14,1. Пастеризація призводить до істотного зменшення їх концентрації (Kintner & Day, 1965).

Вільні жирні кислоти у невеликих концентраціях беруть участь у формуванні специфічного аромату молока, але при вищих концентраціях зумовлюють прогірклий аромат. Так, за даними Кінтнера і Дея концентрація вільних жирних кислот у молоці 496,5 мг/кг молока спричиняє дуже злегка прогірклий аромат, 512 мг/кг – злегка прогірклий, а понад 1000 мг/кг – дуже прогірклий (Kintner & Day, 1965).

Щодо вільних жирних кислот у знежиреному молоці (рН 6,7), то Парк і співавтори приводять такі кількості мг/мл: C4:0 – 1,53; C6:0 – 1,37; C8:0 – 1,47; C10:0 – 1,05; C10:1 – 0,25; C12:0 – 0,21; C14:0 – сліди; C16:0 – сліди (Parks et al., 1977). Мембрани жирових кульок слугують бар'єром для вільних жирних кислот між жировою і водною фазою молока. Як засвідчують ці дані, у знежиреному молоці переважають коротколанцюгові жирні кислоти, на їх частку припадає понад 90% від загальної кількості, відповідно вони при вищих концентраціях можуть зумовлювати прогірклий аромат.

Жирнокислотний склад молочних ліпідів визначає сенсорні властивості молока, а також його поведінку впродовж зберігання, зокрема, інтенсивність процесів ліполізу і окиснення. Цікаві дослідження проведено колективом авторів на чолі з Гідеджейердом щодо порівняльного аналізу результатів сенсорного і хімічного аналізу молока трьох типів: контрольного, із підвищеним вмістом ненасичених жирних кислот і підвищеним вмістом довголанцюгових насичених жирних кислот (Hedegaard et al., 2006). Авторами встановлено, що сенсорні властивості молока з підвищеним вмістом довголанцюгових насичених жирних кислот значно відрізняється від властивостей молока двох інших типів, вже у свіжому стані воно характеризується смаком і ароматом, характерним для процесів ліполізу – прогірклим і рокфором, при цьому впродовж зберігання в ньому інтенсивно протікають процеси ліполізу. Про те, що підвищена концентрація пальмітинової кислоти у складі молочних ліпідів асоціюється із вищою інтенсивністю ліполітичних процесів у молоці і супроводжується вадою

прогірклий смак і аромат повідомляється і в іншій роботі (Wiking et al., 2002). Молоко із підвищеним вмістом ненасичених жирних кислот у свіжому стані не відрізняється за сенсорними характеристиками, однак в процесі зберігання, воно проявляє схильність до процесів окиснення. Хімічні показники, зокрема, вміст гексаналу – маркер вторинних сполук процесу окиснення, проявляють високу кореляцію із сенсорними показниками. Концентрація сполук, що реагують з ТБК, не є показовим маркером процесів окиснення, натомість, важливим показником є антиоксидантна здатність, визначена як лаг фаза електронного спінового резонансу, що свідчить про утворення вільних радикалів, цей показник проявляє високу кореляцію із сенсорними показниками, такими як металевий та картонний смак і аромат (Hedegaard et al., 2006).

Можливості моделювання жирнокислотного складу молочних ліпідів будуть описані в окремому розділі.

2.7. Жиророзчинні вітаміни

У молоці присутні вітаміни А, Д, Е і β -каротин. У найбільшій кількості представлений вітамін А, він являє собою суміш ретинол-жирнокислотних естерів і вільного ретинолу у кількості від 10 до 100 мкг/100 мл. Ця кількість доповнюється провітаміном А – каротиноїдами, головним чином, β -каротином, концентрація якого сягає від 3 до 50 мкг/100мл.

З-посеред токоферолів, головним є α -токоферол, концентрація якого становить від 20 до 70 мкг/100 мл.

Щодо вітаміну Д, то і вітамін Д₃ (холекальциферол) і провітамін Д₃ (7-дегідрохолестерол) присутні у молоці в низьких концентраціях – нанограмах/100 мл (Morrissey & Hill, 2009). І хоча молоко не можна розглядати як основне джерело вітаміну Д₃, його споживання у рекомендованих кількостях забезпечує значну частину рекомендованої дози цього вітаміну. Наприклад, дослідження Якобсена і Саксголта у Данії вказують, що з молоком і молочними продуктами забезпечується біля 10% добових рекомендованих доз вітаміну Д₃ (Jakobsen & Saxholt, 2009). А щодо забезпечення вітаміну А, то дослідження, проведені у Нідерландах, вказують, що з молоком і молочними продуктами забезпечується від 15 до 20% добової потреби (Hulshof et al., 2006).

Виходячи із значного діапазону коливань у вмісті жиророзчинних вітамінів, ще раз підтверджується загальновідома теза про те, що склад молока залежить від багатьох як зовнішніх (сезон року, годівля, стадія лактації, система утримання), так і внутрішніх чинників (порода тварин).

2.8. Синтез молочних ліпідів

Епітеліальні клітини молочної залози мають неймовірний ступінь організації і чудову здатність перетворювати циркулюючі нутрієнти в компоненти молока. Стюарт Паттон, один із найвизначніших дослідників процесу синтезу молочних ліпідів, охарактеризував секреторні клітини молочної залози як «біологічні фабрики» і припустив, що синтез молока є другим після фотосинтезу процесом, що зробив можливим життя ссавців. Також було охарактеризовано організм корови як придаток до молочної залози, а не навпаки. Це підкреслює важливість і унікальність процесів синтезу молока (Bauman et al., 2006).

Питання про попередники для синтезу компонентів молока, зокрема, молочних ліпідів, їхнє надходження до молочної залози, а також абсорбція секреторними клітинами залишається одними із найактуальніших питань у біохімії лактації.

Відомо, що синтез молочних ліпідів включає два етапи – синтез жирних кислот і гліцерофосфату та синтез ТАГ і ліпідів інших класів.

Жирні кислоти ліпідів молока за походженням поділяються на три групи: коротколанцюгові, які синтезуються *de novo* в секреторних клітинах молочної залози, середньоланцюгові, які можуть синтезуватись *de novo*, а можуть бути гуморального походження, і довголанцюгові, які надходять із крові. Коротколанцюгові жирні кислоти (C4-C10) синтезуються згідно загального принципу синтезу жирних кислот в цитоплазмі секреторних клітин із попередників ацетату і β -гідрооксибутирату, що, в свою чергу, утворюються в рубці при ферментації вуглеводів корму і через стінку рубця потрапляють в кров'яне русло (Енсер, 1987).

De novo синтезовані жирні кислоти становлять приблизно 45% від загальної кількості, тоді як решту є кормового походження (Moore & Christie, 1979). Про іншу кількість *de novo* синтезованих жирних кислот повідомляється у роботі, де проаналізовано склад молочного жиру корів 79 стад у північній частині США: середнє значення становить 22,5% від загальної кількості, межі коливань – від 17,8 до 26,1% (McCarthy et al., 2018). Частка *de novo* синтезованих жирних кислот позитивно корелює із вмістом жиру у молоці (Barbano et al., 2017).

Довголанцюгові жирні кислоти походять, головним чином, із корму, хоча вони також можуть бути мобілізовані із жирової тканини (MacGibbon & Taylor, 2006). Ліпіди корму складаються, головним чином, із гліколіпідів, фосфоліпідів і ТАГ, а головними жирними кислотами є ліолева і ліоленова. В рубці ці ліпіди

гідролізуються до НЕЖК, і стають субстратами для процесів біогідрогенування мікроорганізмами. Довголанцюгові жирні кислоти попадають в тонкий кишечник і проходять через його стінку, ресинтезуються у ТАГ і, як метаболічно активна фракція у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності, транспортуються до молочної залози, де вони звільняються і використовуються для синтезу специфічних молочних ліпідів (про що в окремому розділі).

Пальмквіст і Конрад, згодуючи або інтравенозно інфузуючи $1\text{-}^{14}\text{C}$ пальмітинову кислоту лактуючим коровам, доказали двояке походження довголанцюгових жирних кислот молочного жиру. Вони можуть бути абсорбованими в тонкому кишківнику, як жирні кислоти корму, а також можуть походити із ендogenousного джерела (Palmquist & Conrad, 1971). У тканині молочної залози жирні кислоти, абсорбовані в тонкому кишечнику, у складі ТАГ ліпопротеїнів дуже низької щільності шляхом ендцитозу попадають у клітини секреторного епітелію і шляхом злиття з лізосомами вивільняються із ТАГ та можуть бути утилізовані клітиною (Olofsson & Borén, 2012). Ще один шлях гідролізу ТАГ здійснюється в екстрацелюлярних компартментах – у васкулярному епітелії за допомогою ліпопротеїніпази (Teusink et al., 2003). Акумуляовані вільні кислоти, які вивільнились із ліпопротеїнів дуже низької щільності, можуть алостерично інгібувати ліпопротеїніпазну активність і лімітувати використання довголанцюгових жирних кислот клітинами молочної залози (Argov-Argaman, 2019).

Друге джерело доголанцюгових жирних кислот – це зв'язані з альбуміном НЕЖК плазми крові, як результат ліполізу ТАГ жирової тканини. Ліполіз у жировій тканині індукується катаболічними сигналами. Цим пояснюється факт, що від метаболічного стану організму залежить вміст жиру в молоці, а також розмір жирових кульок (Argov-Argaman et al., 2014).

Пальмквістом і Меттосом у досліджах з інжектуванням $1\text{-}^{14}\text{C}$ -лінолевої кислоти було показано, що 88% довголанцюгових жирних кислот молока є інтестинального походження, тоді як 12% – ендogenousного джерела. Зокрема, 51% лінолевої кислоти в тонкій кишці абсорбується лімфою, з якої 76% включається в молочні ліпіди (екзогенне джерело), тоді як 10% включається в молочні ліпіди через інші метаболічні шляхи (ендогенне джерело) (Palmquist & Mattos, 1978).

На сьогоднішній день встановлено, що понад 95% $\text{C}18$ і довших жирних кислот молока походять із ТАГ ліпопротеїнів крові, головними постачальниками є хіломікрони і ліпопротеїни дуже низької щільності. НЕЖК використовуються також, однак істотним їх внесок є лише за умови високої концентрації, зокрема, в ранні тижні лактаційного періоду при негативному енергетичному балансі, що

зумовлює інтенсивну мобілізацію ліпідів тіла. За умов відсутності негативного енергетичного балансу менше 15% довголанцюгових жирних кислот, що поглинаються молочною залозою, походять з жирової тканини (Palmquist, 2006). Таким чином, проявляється строга залежність між енергетичним балансом тварини і синтезом молочного жиру, за негативного енергетичного балансу в ліпіди молока включається значна кількість С18 кислот, які мобілізуються із жирової тканини, а вміст С18:1 + С18:0 кислот у складі молочного жиру коливається в межах від 15 до 45% (Chilliard et al., 2003).

Незважаючи на відсутність істотного поглинання НЕЖК з плазми крові тканиною молочної залози, встановлено зниження активності радіоактивної мітки НЕЖК при їх проходженні через молочну залозу, що свідчить про «розчинення» жирних кислот і обмін на жирні кислоти, вивільнені в процесі гідролізу ТАГ в капілярах ліпопротеїналіпазою (West et al., 1972). Встановлено високу позитивну корелятивну залежність ($r = 0,76$) між вмістом жиру в молоці і концентрацією НЕЖК в плазмі крові (Pullen et al., 1989).

У складі молочного жиру є три групи жирних кислот, які проявляють взаємні корелятивні залежності вмісту: перша група – це кислоти С18, друга – С10-С16, вміст яких негативно корелює із групою С18, третя група С4-С10, які не проявляють високої корелятивної залежності з двома іншими групами. Ці кореляції є наслідком негативного ефекту довголанцюгових жирних кислот (С18) на синтез *de novo* середньоланцюгових жирних кислот (Barber et al., 1997), а також факту, що С4-С10 кислоти частково утворюються внаслідок метаболічних шляхів, які не включають малоніл-КоА і ацетил-КоА карбоксилазну активність (Palmquist & Jenkins, 1980).

Синтез молочного жиру є багатостадійним, а відтак можливі точки його регуляції включають кожен із процесів, а саме, інтрацелюлярний транспорт жирних кислот та їхніх попередників, синтез жирних кислот *de novo*, десатурацію, синтез ТАГ, секрецію жиру (Baumgard et al., 2002).

Особливої ваги має питання поглинання попередників молочною залозою. Згідно з Кантом і співавторів розуміння цих процесів може опиратись на три гіпотези: 1) молочна залоза контролює постачання попередників з кров'ю відповідно до підтримання інтрацелюлярного енергетичного балансу, що підтверджено для інших тканин (Radegran & Hellsten, 2000); 2) попередники поглинаються із кров'яних капілярів згідно з законом взаємодії мас; 3) швидкість поглинання попередників регулюється синтезом компонентів молока (Cant et al., 2002).

Таким чином, зростання концентрації глюкози в крові, мало б призвести до зниження швидкості потоку крові через молочну залозу, а отже, до зменшеного поглинання амінокислот, жирних кислот, ацетату, бутирату, що повинно проявитися, відповідно, у зниженні синтезу молочних протеїнів і ліпідів. Для перевірки цієї гіпотези Кант і співавтори провели досліди із застосуванням інфузії глюкози в дозі 90 г/год впродовж 10 годин (Cant et al., 2002). Встановлено, що, дійсно, значне зростання (на 75%) концентрації глюкози в крові призвело до зниження швидкості потоку крові в зовнішній клубовій артерії на 16%, а при цьому поглинання глюкози зросло лише на 28%.

Концепція регулювання потоку крові до молочної залози була також підтверджена у експериментах із згодовуванням жирних добавок лактуючим коровам, що викликало зниження потоку крові (Cant et al., 1993). Цю залежність Кантом і співавторами було формалізовано в математичну модель механізму локального контролю потоку крові (Cant & McBride, 1995). Опираючись на запропоновану модель, визначено швидкість поглинання попередників, яка залежить від постійного для кожного попередника коефіцієнта капілярного поглинання (k) і загального об'єму капілярів ($Vol_{cap}N_{cap}$) та визначається за формулою:

$$kVol_{cap}N_{cap} = -\ln(1 - \text{extraction})$$

Зокрема, встановлено, що для ацетату діапазон коливань поглинання (extraction) становить 20%, для гідрооксибутирату 15% при зміні швидкості потоку крові на 16% (Cant et al., 2002). Головним чинником регуляції локальної швидкості потоку крові є відповідність рівня інтрацелюлярного утворення АТФ і її утилізації.

Результатами досліджень Канта і співавторів (Cant et al., 1993; 2002) не підтверджено положення про поглинання попередників згідно закону діючих мас. Зокрема, коли потік крові зменшується до молочної залози завдяки згодовуванню коровам жирних добавок (Cant et al., 1993), поглинання амінокислот зростає для забезпечення певного рівня синтезу молочних протеїнів. Подібно зростає поглинання глюкози при інфузії в дуоденум метіоніну і зниженні потоку крові до молочної залози (Guinard & Ralguin, 1995). Правда, механізм, за яким змінюється екстракція попередників із крові при зміні швидкості потоку крові, є невідомим. Потрібні подальші дослідження для встановлення умов, за яких ефективність транспорту окремих попередників до

секреторних клітин регуляторно змінюється з компенсаторною метою при зміні швидкості потоку крові (Cant et al., 2002).

Третя гіпотеза про те, що швидкість синтезу компонентів молока залежить від швидкості поглинання попередників також не знайшла підтвердження, оскільки очікувалось, що зниження поглинання попередників призведе до зниження синтезу молочних ліпідів. Згідно з результатами експериментів зниження вмісту молочного жиру і протеїнів супроводжувалось зростанням надоїв (Cant et al., 2002).

Модель запропонована Черепановим і співавторами (Cherepanov et al., 2000) визначає потік крові через молочну залозу як головну функцію інтрацелюлярного енергетичного балансу і передбачає зниження потоку крові при підвищенні концентрації глюкози в крові. Виходячи із цієї моделі, оскільки головним чинником контролю є енергетичний баланс, то інші регуляторні елементи залежать від концентрації глюкози в крові. Однак, швидкість потоку контролюється також потребами у попередниках для синтезу компонентів молока (Bequette et al., 2000; Mackle et al., 2000). Хоча цей фактор має менше значення, ніж енергетичні потреби клітин, є певне задане значення (setpoint) синтезу компонентів. Зниження чи зростання постачання попередників до тканин молочної залози компенсується реципрокними змінами швидкості потоку крові з метою забезпечення цього заданого значення молочної продуктивності (Cant & McBride, 1995). Задане значення синтезу компонентів молока знаходиться під нейроендокринним контролем.

У роботі групи авторів, до якої також входив Кант, для вивчення ензиматичної чутливості продукції молочного жиру і ступеня утилізації ацетату залежно від концентрації циркулюючого ацетату застосували інфузію ацетату 40 г/год впродовж 10 годин в зовнішню клубову артерію, живлячу одну половину молочної залози (Purdie et al., 2008). Результати роботи показали, що продукція молочного жиру не зазнала змін, хоча концентрація ацетату зросла на 123%, а поглинання його молочною підвищилось на 128%. Поглинання молочною залозою довголанцюгових жирних кислот і β -гідрооксибутирату не зазнало змін під впливом інфузії ацетату, тоді як спостерігалась тенденція до підвищення поглинання глюкози. Однак, при цьому не змінився рівень продукції лактози, автори вважають, що надлишок глюкози окиснюється для продукції АТФ. Стосовно надлишку поглинутого тканиною молочної залози ацетату, то автори роблять висновок, що він може спрямовуватись в жирову тканину молочної залози, а продукція як молочного жиру, так і протеїну мало залежить від концентрації попередників у крові, що живить молочну залозу. Це вказує на те,

що K_m у рівняннях Мікаеліса-Ментен у реакціях, які описують біосинтез молока, має мале значення, і що V_{max} регулюється, забезпечуючи зміни величини надоїв молока і його композиції.

Щодо поглинання довголанцюгових жирних кислот при зростанні концентрації глюкози в крові отримано інші показники, рівень їх поглинання знизився на 47%, оскільки коефіцієнт капілярного поглинання для ТАГ залежить від активності капілярної ліпопротеїніпази. Рівень глюкози в крові має значний вплив на ліпопротеїніпазну активність (Forsberg et al., 1985 Purdie et al., 2008). Результатами попередніх досліджень не було встановлено залежності ліпопротеїніпазної активності від рівня глюкози в крові, однак, це було зумовлено тим, що ці дослідження базувались на визначенні ліпопротеїніпазної активності молока (Rao et al., 1973). Активність молочної ліпопротеїніпази не відображає активності цього ензиму в капілярному ендотелії (Grummer et al., 1989).

Вперше ліпопротеїліпаза тканини молочної залози була описана Корном (Korn, 1962), який показав присутність цього ензиму в молоці. Ліпопротеїліпаза гідролізує ТАГ хіломікронів і ліпопротеїнів дуже низької щільності, які є основними попередниками довголанцюгових жирних кислот, що поглинаються секреторними клітинами молочної залози (Palmquist, 2006). Характеристика і регуляція ліпопротеїліпази тканини молочної залози детально описана в огляді Бербера і співавторів (Barber et al., 1997). Ліпопротеїліпаза, яка асоційована із ендотелієм судин, звільняється швидко після інтравенозної ін'єкції гепарину і в присутності ТАГ ліпопротеїнів. Активність ліпопротеїліпази молочної залози значно посилюється після родів і втримується на високому рівні впродовж лактації, при цьому паралельно її активність знижується в жировій тканині, що регулюється пролактином (Thompson, 1992).

Довголанцюгові жирні кислоти, які поглинаються із крові, реестерифікуються в молочні ТАГ. Було показано, що зростання рівня глюкози в крові за рахунок її інфузування в дозі від 0 до 62 г/годину паралельно знижувало рівень секреції С18 жирних кислот з молоком, це супроводжувалось зниженням на 60% концентрації НЕЖК в плазмі крові (Hurtaud et al., 1998). НЕЖК в малих кількостях включаються в ліпіди молока, однак, вони майже повністю обмінюються з жирними кислотами, які утворюються в результаті гідролізу ТАГ крові, про що згадувалось вище.

Кант і співавтори наводять чотири можливих кінетичних пояснення факту відсутності ефекту інфузування глюкози на продукцію молочного жиру і зростання включення ацетату в молочний жир (Cant et al., 2002). По-перше,

зниження поглинання попередників не є достатнім для зміни їхніх внутрішньоклітинних концентрацій; по-друге, значення K_m для метаболізму ацетату і довголанцюгових жирних кислот є меншими порівняно з їхніми концентраціями в секреторних клітинах молочної залози; по-третє, значення K_m піддається змінам під час інфузії глюкози; по-четверте, значення V_{max} для метаболізму ацетату і довголанцюгових жирних кислот також змінюється.

Виходячи із того, що з кожного моля ацетату синтезується 0,18 ммоль жирних кислот *de novo* (Cant & McBride, 1995) автори визначили, яка кількість попередників повинна бути поглинута для синтезу секретованої кількості молочного жиру, вона виявилась більшою, ніж передбачено моделлю. Було зроблено висновок, що значно зросла ефективність інтрацелюлярного транспорту ацетату і синтезу жирних кислот.

Таким чином, регуляція транспорту попередників до секреторних клітин молочної залози є складною, описати її механістичними моделями повністю не вдається, оскільки задіяно багато регуляторних процесів, які потребують подальшого вивчення.

Інджейльбертом і співавторами встановлено майже лінійну кореляційну залежність між артеріо-венозною різницею в молочній залозі НЕЖК+ТАГ і їхньою артеріальною концентрацією в межах від 400 до 750 μM (Enjalbert et al., 1998). Механізм перенесення (транспорту) жирних кислот із капілярів у секреторні клітини молочної залози не є повністю вивченим і добре описаним (Palmquist, 2006). Механізм поглинання клітинами екзогенних жирних кислот включає в себе декілька етапів – адсорбцію, активацію і наступне поглинання активованих жирних кислот. Активація проходить в плазматичній мембрані (Грачев и др., 1976).

Віркемп і співавтори вважають, що інтенсивність поглинання жирних кислот може залежати від інтрацелюлярної дифузії або від балансування дифузії і зв'язування екстрацелюлярним альбуміном та інтрацелюлярним зв'язуючим жирні кислоти протеїном (FABP – fatty acid-binding protein) (Veerkamp et al., 1991). Однак, на думку інших авторів, модель, яка включає переносно-залежний транспорт може бути надто повільною для забезпечення надходження жирних кислот (Наїрі & Абурад, 2002). Бербер і співавтори особливу роль у транспорті жирних кислот відводять специфічному протеїну – транслокатору жирних кислот (FAT, CD 36), який працює у взаємодії із FABP (Barber et al., 1997). Довші і більш насичені жирні кислоти проходять через мембрану секреторних клітин швидше, тому що вони є більш гідрофобними (Thompson & Christie, 1991).

Оскільки концентрація КоASH є дуже низькою, лімітуючими ланками у швидкості поглинання жирних кислот є ті, які визначають швидкість включення ацил-КоА у ТАГ, тобто звільнення КоASH для ацил КоА синтази, завдяки чому звільняється місце для зв'язування нової жирної кислоти з FABP, і наступним переміщенням нової жирної кислоти із плазми. Тобто, коли немає інтрацелюлярного вільного місця для зв'язування жирних кислот після гідролізу ТАГ, вони втрачаються молочною залозою як НЕЖК (Palmquist, 2006).

FABPs включені у трансмембранний і інтрацелюлярний транспорт жирних кислот. Вони є групою білків, що зв'язують довголанцюгові жирні кислоти (C16-C20) з високою спорідненістю і молярною стехіометрією 1:1. Вища спорідненість характерна для ненасичених жирних кислот. Крім транспортної функції вони є модуляторами специфічних ензимів ліпідного метаболізму, регуляторами експресії відповідних генів, відповідальними за підтримання рівня жирних кислот у целюлярних мембранах (Storch & Thumser, 2000).

Раніше більшу роль у регулюванні концентрації і транспорті жирних кислот у цитозоль відводили ацил-КоА-зв'язуючим протеїнам (ACBP) (Knudsen et al., 2000). Ці білки зв'язують жирні кислоти із спорідненістю в десять разів вищою, ніж FABPs, тобто вони є ефективнішими у захисті мембран від пошкоджуючих впливів. Багато факторів регулюють концентрацію ацил-КоА в клітинах. За умов, коли концентрація ACBP є неадекватною для зв'язування довголанцюгових ацил-КоА, FABPs виконують функцію буферу, а також захищають мембрани від пошкоджень (Knudsen et al., 2000).

Основний шлях, за яким відбувається асиміляція довголанцюгових жирних кислот, є їх естерифікація, при цьому 75% жирних кислот включається в ТАГ, а решта – у фосфоліпіди (Грачев и др., 1976).

Друга частина жирних кислот синтезується *de novo*. Для цього тканиною молочної залози поглинаються неліпідні сполуки – глюкоза, ацетат і β -гідрооксибутират, кінетика їхнього поглинання описана Міллером і співавторами (Miller et al., 1991).

У 2001 році Бауманом і Гріінарі було сформульовано теорію щодо дефіциту ацетату як причини МЖД (Bauman & Griinari, 2003). В останні роки відновилась увага науковців до зміни співвідношення летких жирних кислот у рубці як чинника регуляції синтезу молочного жиру. Про підвищення продукції молочного жиру і його вмісту в молоці на тлі згодовування ацетату натрію повідомляється в роботі (Urrutia et al., 2019). Румінальна інфузія пропіонату (800 г/добу) знижує вміст жиру на 7,8%, а його продукцію – на 9,8%, тоді як румінальна інфузія ацетату в такій самій кількості підвищує вміст жиру на 6,5%

(Maxin et al., 2011). Однак, результати 28 досліджень заперечують істотний вплив рубцевої пропорції ацетату і пропіонату на синтез молочного жиру (Dewanckele et al., 2019).

Нині увага дослідників сфокусована на характеристиці регуляторних кроків синтезу жирних кислот і їхньої десатурації. Дослідження на клітинному і молекулярному рівнях обіцяють забезпечити можливість регулювання синтезу жирних кислот і їхню десатурацію в тканині молочної залози.

2.8.1. Синтез жирних кислот

Сучасна концепція синтезу молочного жиру здобула початок в 1950-х роках у фізіологічних дослідженнях Попяка і співавторів, якими було встановлено, що коротколанцюгові жирні кислоти синтезуються в секреторних клітинах молочної залози *de novo* із ^{14}C -міченого ацетату (Porjak et al., 1951). А включення трітій-міченої стеаринової кислоти в молочний жир згодом було продемонстровано Гласкоком і співавт. (Glascok et al., 1956).

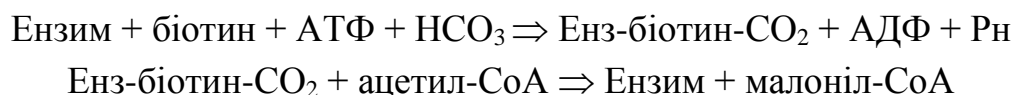
Попередниками *de novo* синтезованих жирних кислот, як уже було вказано, є ацетат і β -гідрооксибутират, хоча ступінь їхньої відносної участі в біосинтезі може бути різним (Annison et al., 1967). В дослідях на культурі клітин молочної залози показано, що β -гідрооксибутират може використовуватись двома окремими шляхами: або після розщеплення до ацетатних одиниць, або у вигляді бутирату (Грачев и др., 1976). У жуйних ацетат і β -гідрооксибутират, головним чином, використовуються як джерело карбонів, а глюкоза як джерело відновлюючих еквівалентів (Bauman & Davis, 1974).

У клітинах молочної залози ацетат і ацетоацетат перетворюються в ацетил-СоА і малоніл-СоА, які разом з бутирил-СоА (із β -гідроксибутирату та С2 плазми) використовуються як попередники для цитозольного синтезу. Процес подовження вуглецевого ланцюга від С2:0 або С4:0 до С16:0 включає циклічну реакцію з утворенням проміжних продуктів (Neville & Picciano, 1997), а від С4:0 до С14:0, через механізм припинення ланцюга (Smith, 1994). Новосинтезовані жирні кислоти транспортуються з цитозолу в ендоплазматичний ретикулум, де вони зв'язуються з гліцерол 3-фосфатом, утворюючи ТАГ.

Окиснення глюкози пентозофосфатним шляхом постачає НАДФ + H^+ , крім того забезпечує гліцерол-3-фосфат для естерифікації жирних кислот. У жуйних біля 30% глюкози метаболізується через пентозофосфатний шлях, 10% утилізується в розщепленні шляхом Ембдена-Мейергофа-Парнаса і 60-70% перетворюється в лактозу (Wood et al., 1965).

У жуйних конверсія глюкози у жирні кислоти є низькою навіть при відсутності ацетату, що свідчить про блокування в якомусь місці на відріжку між фруктозо-6-фосфатом і піруватом, можливо, таким місцем є фосфофруктокіназа чи метаболізм тріозофосфатів, це питання вимагає детального вивчення (Palmquist, 2006). Це пов'язано з економним використанням глюкози жуйними тваринами. Вуглеводи корму у рубці майже повністю ферментуються до летких жирних кислот і лактату, тому глюкоза синтезується у печінці *de novo* і концентрація глюкози у крові жуйних значно нижча, ніж у моногастричних тварин.

Синтез жирних кислот в клітинах молочної залози описаний в огляді Бербера і співавторів (Barber et al., 1997). Перший крок інкорпорації карбону ацетату в жирні кислоти забезпечується ацетил-СоА-карбоксилазою у два етапи (Allred & Reilly, 1997):



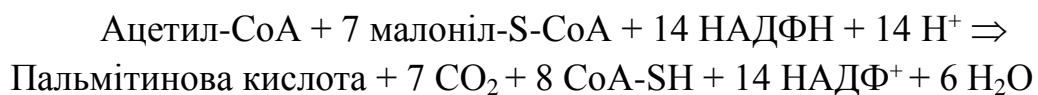
Ацетил-СоА-карбоксилаза – дуже складний ензим, як простетичну групу він містить біотин, ковалентно зв'язаний амідним зв'язком з аміногрупою лізинового залишку однієї з 4-х субодиниць ферменту. Біотинова група служить якби «рухомою рукою», яка здійснює перенесення CO_2 на ацетил-СоА. Приєднання карбоксильної групи до ацетил-СоА і незворотність реакції забезпечується за рахунок енергії АТФ. У печінці, жировій тканині і, можливо, молочній залозі корів ацетил-СоА-карбоксилаза регулюється фосфорилуванням/дефосфорилуванням і алостеричним механізмом, який включає ацил-СоА жирні кислоти і цитрат (Barber et al., 1997).

Ацетил-СоА-карбоксилаза – регуляторний ензим, каталізована ним реакція є лімітуючим етапом, що визначає швидкість усього процесу біосинтезу жирних кислот в тваринних тканинах. Як тільки вміст цитрату в мітохондріях зростає, що спостерігається при високій швидкості утворення мітохондріального ацетил-СоА і АТФ, цитрат виходить із мітохондрій і виступає одночасно в ролі попередника цитозольного ацетил-СоА і алостеричного активатора ацетил-СоА-карбоксилази. Такий шлях утворення необхідного пулу ацетил-СоА, великою мірою, характерний для нежуйних тварин. У жуйних постачання цього субстрату є прямим. Ацетат із крові + СоА + АТФ перетворюються за участю цитозольної ацетил-СоА-синтази у АМФ і ацетил-СоА, котрий може бути використаний у синтезі жирних кислот (Palmquist, 2006), тоді як АТФ-цитрат-ліаза володіє

низькою активністю (Bauman et al., 1970) і розщеплює лише незначну частину цитрату. Цим можна пояснити дуже низький ступінь використання глюкози жуйними в синтезі ліпідів і високий вміст цитрату в молоці (Грачев и др, 1976).

Фолкнер і Поллок (Faulkner & Pollok, 1989) постулювали, що зниження синтезу *de novo* жирних кислот призводить до зниження НАДФ утилізації, а це, в свою чергу, до гальмування ізоцитратного циклу (для продукування НАДФ), що в результаті виливається у зростання цитоплазматичної концентрації цитрату. Дослідженнями встановлено, що при інфузії транс-10, цис-12 КЛК, що є потужним інгібітором синтезу жирних кислот *de novo* в клітинах молочної залози, рівень цитрату в молоці значно підвищується, причому зростання відбувається лінійно із зростанням дози цього ізомеру КЛК (Romo et al., 2000; Mackle et al., 2003; Kay et al., 2007; Rico & Harvatinе, 2013; Toral et al., 2015).

Синтаза жирних кислот у тканинах тварин є одним із найбільш комплексних мультифункціональних ферментів. Вона складається із двох ідентичних поліпептидів, побудованих із 2500 амінокислотних залишків (ММ кожного 270 кДа), кожен із цих ланцюгів містить сім каталітичних субодиниць: кетоацилсинтазу, малоніл/ацетил трансферазу, дегідратазу, єноіл-редуктазу, β-кеторедуктазу, ацилпереносний протеїн і тіоестеразу, які в комплексі забезпечують синтез індивідуальних жирних кислот за загальною схемою (Smith et al., 2003).



Першим кроком є перенесення ініціюючого попередника – ацетил-СоА – на сериновий залишок ацил-трансферази (-O-Ser581), тоді на ацилпереносний білок і β-кетоацилсинтазу, зв'язуючись із залишком цистеїну (-S-Cys161). Головний подовжуючий субстрат – малоніл-СоА – переноситься за допомогою серинового залишку ацилтрансферази (-O-Ser581) на ацилпереносний білок, зв'язуючись із SH-групою 4'- фосфопантетеїну АПБ (Ser2151PSH). Конденсація здійснюється кетоацилсинтазою, при цьому відбувається енергетично сприятливе (різко зростає реакційна здатність утвореного двовуглецевого фрагменту, завдяки чому він швидко може реагувати із ацетильною групою) декарбоксілювання малонілового залишку, результатом чого є звільнення СО₂. Тоді за допомогою системи ензимів відбувається відновлення кетоацильної групи (з утворенням D-гідрооксибутирилу), дегідратація гідроксильної групи і відновлення єнольного подвійного зв'язку з утворенням насиченої жирної кислоти. Як було зазначено вище, джерелом відновлюючих еквівалентів служить

НАДФ + H⁺. Новоутворена подовжена ацильна група займає тепер положення при SH-групі цистеїну, а новий цикл реакцій, який приводить до подовження ланцюга ще на одну двовуглецеву ланку, починається із перенесення наступної малонільної групи з малоніл-CoA на SH-групу фосфопантетеїну АПБ. Цей цикл повторюється із втягненням більшої кількості малоніл-CoA до тих пір, поки жирна кислота специфічною тіоестеразою не звільниться від ензиму, чим закінчується цикл (Smith et al., 2003). Повна серія реакцій триває близько 1 секунди (Smith et al., 2003).

Для ацетил і малоніл субстратів використовується та сама ацилтрансфераза, каталітична швидкість ацилтрансферази зростає при прогресуванні ланцюга від C2 до C12, що свідчить про повільнішу кетоацилсинтазну реакцію на початку нарощування ланцюга, загальна концентрація ковалентно зв'язаних насичених проміжних сполук знижується із зростанням ланцюга до C14 (Smith et al., 2003). Коефіцієнти діючих мас для ланцюгів, довших понад C12, починають зменшуватись при незначній акумуляції C18.

Довжина ланцюга синтезованої жирної кислоти залежить від багатьох факторів. В молочній залозі синтезуються коротколанцюгові жирні кислоти у присутності білка, який наділений активністю ацилтіоестеразної гідролази (Knudsen et al., 1975). Ацилтіоестераза I є білком, зв'язаним із жирнокислотою синтазою, що відповідає за генерування коротколанцюгових жирних кислот. У нежуйних таку функцію виконує тіоестераза II, незв'язана із жирнокислотою синтазою, яка відповідає за синтез середньоланцюгових жирних кислот (Barber et al., 1997). Синтез середньоланцюгових жирних кислот залежить від одночасного звільнення ацил-CoA, продукованих жирнокислотою синтазою, тоді як довголанцюгові жирні кислоти звільняються як вільні жирні кислоти за допомогою тіоестерази I.

Ензиматичний процес подовження вуглецевого ланцюга насичених жирних кислот може відбуватися в мікросомальній фракції клітин і в мітохондріях. У мікросомальній фракції клітини вуглецеві ланцюги насичених жирних кислот з довжиною C16-C18 подовжуються шляхом послідовного приєднання двовуглецевих фрагментів від малоніл-CoA. Цей метаболічний шлях за деякими рисами побічний до синтезу *de novo*, але в ньому компоненти реакцій не зв'язуються з АПБ. У мітохондріях подовження вуглецевого ланцюга може відбуватися в насичених і ненасичених жирних кислотах з довжиною C12-C16. Основними продуктами при цьому є жирні кислоти з довжиною ланцюга C18, C20, C22, C24.

Високоліпідні раціони знижують синтез жирних кислот *de novo*, при цьому зменшується потреба у відновлюючих еквівалентах. Це економить глюкозу, тим самим забезпечує більше її використання в синтезі лактози. Кант і співавтори повідомляють, що до 70% глюкози перетворюється у лактозу при споживанні коровами раціонів з високим жиру, це на 13% більше, ніж при споживанні раціонів з низьким його вмістом (Cant et al., 1993).

Приєднання двовуглецевих комплексів до вихідної ацетильної групи приводить до утворення звичайних жирних кислот з парною кількістю вуглеців в ланцюгу. Якщо вихідним продуктом синтезу є пропіонова кислота з трьома атомами вуглецю, то в результаті утворюються жирні кислоти з непарною кількістю вуглецю. Пропіонова кислота є звичайним продуктом обміну речовин в рубці і в наступному в тканинах перетворюється в метил-малоніл-СоА. Метил-малоніл-СоА дає початок синтезу жирним кислотам з непарною кількістю атомів вуглецю, а також мультирозгалуженим кислотам з довжиною ланцюга меншою С16. Швидкість їхнього синтезу становить одну десяту від швидкості синтезу жирних кислот із прямим ланцюгом (Smith, 1994). Це має місце при згодовуванні великої кількості злакових (Garton et al., 1972).

Попередниками для синтезу ізо- і антеізо- жирних кислот слугують ізовалерил-СоА, ізобутирил-КоА і 2-метил-бутирил-СоА, відповідні кислоти утворюються в процесі рубцевої ферментації із розгалужених амінокислот (Ha & Lindsay, 1990).

В останні роки багато дослідників вивчають можливості зменшення рівня синтезу середньоланцюгових жирних кислот (С12-С16) в молочній залозі (Bouwman et al., 2011), оскільки вони сприяють підвищенню концентрації холестеролу ліпопротеїнів низької щільності в плазмі крові, що спричиняє виникнення серцево-судинних захворювань у людей. Для цього можна використовувати, крім годівельних чинників, генетичні, оскільки існує помірний і високий ступінь спадковості щодо синтезу жирних кислот (Bouwman et al., 2011).

Нафіковим і співавторами були досліджені генетичні маркери, на основі яких можна було б здійснювати селекційний відбір, з-посеред яких успішним виявився стерол регуляторний елемент зв'язуючий фактор транскрипції 1 (SREBF1), що експресує ліпогенні гени – ацетил-СоА карбоксилази α , жирнокислотної синтази, жирнокислотної елонгази β , і стеароїл-СоА десатурази (Nafikov et al., 2013). Виявилось, що гаптотип H1 SREBF1 тісно пов'язаний із зниженням вмісту С12-С14 жирних кислот у складі молочного жиру, однак, також і зі зниженням молочної продуктивності, тоді як інші гаптотипи такої спорідненості не проявляли. Таким чином, підтвердилась гіпотеза, що

поліморфні модифікації SREBF1 спричиняють відмінності у жирнокислотному складі.

Синтез жирних кислот забезпечує органну і видову специфічність ТАГ, зокрема ТАГ молочних ліпідів характеризуються локалізацією коротколанцюгових жирних кислот в 3-й позиції, про що згадувалось вище. При зменшенні кількості коротколанцюгових жирних кислот і зростанні довголанцюгових компенсаторно зростає кількість мононенасичених жирних кислот з метою забезпечення рідкого стану ТАГ при температурі тіла (Jensen, 2000).

Недавні дослідження у галузі ензимного регулювання синтезу жирних кислот в молочній залозі включають вплив цис-9, транс-11 КЛК на синтез і насичення мРНК для ключових ферментів цього процесу, а також вплив її ізомерів на пероксисом проліфератор-активуючі рецептори і стерол регуляторні елемент-зв'язуючі протеїни у факторах ядерної транскрипції (Jenkins, 2006).

В останній час особлива увага сфокусована на стеароїл-СоА десатуразі (SCD), оскільки вона включена в синтез ненасичених жирних кислот і відіграє принципово важливу роль у регуляції плинності молочних ТАГ завдяки утворенню цис- подвійних зв'язків у жирних кислотах, які знижують їх точку плавлення. Десатуразна активність в секреторних клітинах молочної залози забезпечує перетворення насичених жирних кислот, які утворились в результаті рубцевого біогідрогенування, в ненасичені. Дослідження останніх років спрямовані на пошук шляхів підвищення активності Δ^9 -десатурази з метою зниження ступеня насиченості молочного жиру.

Згідно біохімічної класифікації Δ^9 -десатураза називається SCD-СоА-десатураза (EC 1.14.19.1), тому що стеаринова кислота є найбільш загальним субстратом. Реакція окиснення, каталізована цим ензимом, включає цитохром b₅, НАДФ-цитохром b₅-редуктазу і молекулярний кисень, одночасно окиснюється одинарний зв'язок СоА-похідного відповідної жирної кислоти (Palmquist, 2006).

Частина олеїнової кислоти у молочному жирі є результатом активності SCD інтестинального епітелію і тканини молочної залози (De Peters et al., 2001). SCD локалізується в ендоплазматичному ретикулумі, головними субстратами є стеароїл-СоА і пальмітоїл-СоА, крім того, має місце і десатурація транс-моноенів, що має важливе значення через утворення значної кількості цих метаболітів в процесі рубцевого біогідрогенування (Shingfield et al., 2003). Серед них особливо важливе значення має десатурація ВК (транс-11 C18:1) до РК (цис-9, транс-11 C18:2). Тому дослідження, пов'язані із синтезом SCD і експресією мРНК SCD, мають важливе значення (Taniguchi et al., 2004; Corl et al., 2001).

Співвідношення C14:0/C14:1; C18:0/C18:1; транс-11 C18:1/цис-9, транс-11 C18:2 КЛК репрезентують десатуразний індекс і служать для оцінки Δ^9 -десатуразної активності (Baumgard et al., 2002). Однак, з-посеред цих співвідношень прекурсорів і продуктів преференційною щодо оцінки SCD активності є пара C14:0/C14:1, оскільки і попередник і продукт синтезуються в молочній залозі, тоді як інші продукти можуть бути й гуморального походження (Garnsworthy et al., 2010).

Індекс цис-9 C14:1/C14:0 позитивно корелює з відносною кількістю мРНК SCD в соматичних клітинах молока, що вказує на те, що обидва можуть бути маркерами SCD активності в молочній залозі (Feng et al., 2007). Білок ензиму SCD має відносно короткий період піврозпаду – біля 4 годин, і тому генна транскрипція є основним пунктом регуляції його активності (Ozols, 1997).

Синтез SCD у жуйних експресується одним геном (Palmquist, 2006). Встановлено, що активність SCD не регулюється алостерично продуктами реакції чи субстратами. Однак, Δ^9 -десатураза регулюється кормовими факторами, зокрема, глюкозою і ПНЖК, а також гормонами, зокрема, інсуліном і глюкагоном (Ntambi & Miyazaki, 2004).

Ліпідні добавки або знижують мРНК SCD, активність SCD і Δ^9 -десатуразне співвідношення або викликають тенденцію до їхнього зниження у молочній залозі кіз (Bernard et al., 2005), що зумовлено негативним впливом ПНЖК раціону, а також продуктами рубцевого біогідрогенування (транс-ізомерів), тобто має місце їхній взаємний вплив. Про пригнічення SCD активності молочної залози на фоні згодовування ліпідних добавок вказується і в інших роботах (McDonald & Kinsella, 1973; Wahle, 1974). Стеркулінова олія інгібує SCD, однак при цьому не знижується синтез молочного жиру (Harvatine et al., 2009).

Встановлено, що транс-10, цис-12 КЛК змінює співвідношення у парах жирних кислот, що служить оцінкою для Δ^9 -десатурази. Крім того, показано, що утворення мРНК для стеароїл CoA десатурази у тканині молочної залози знижується вдвічі, коли застосовували цей ізомер КЛК (Baumgard et al., 2002). Іншими авторами було показано, що транс-10, цис-12 КЛК знижує генну експресію для Δ^9 -десатурази у культурі 3T3-L1 клітин, тоді як цис-9, транс-11 КЛК не здійснює такого ефекту (Choi et al., 2000). Крім того, було показано, що транс-10, цис-12 КЛК знижує SCD активність в гепатоцитах (Bretillon et al., 1999). Однак, цис-9, транс-11 КЛК і різні ізомери транс-C18:1 (включаючи транс-11) не здійснювали такого ефекту (Park et al., 2000). Такий ефект транс-10, цис-12 18:2 і цис-9, транс-11 підтверджено і в інших роботах (Ntambi & Miyazaki, 2004; Choi et al., 2000). На підставі результатів зроблено, висновок, що чинники,

які спричиняють молочно-жирову депресію, знижують активність SCD (Bauman & Griinari, 2003), як от згодовування риб'ячого жиру (довголанцюгових жирних кислот родини n-3) (Ahnadi et al., 2002).

Слід відзначити, що використання різного інструментарію для SCD активності *in vitro* (мРНК) і *in vivo* (співвідношення між жирними кислотами), впливає на те, що не завжди результати строго узгоджуються. Ці різниці, виявлені між параметрами, можуть бути завдяки (1) факту, що співвідношення цис-9 мононенасичена/насичена насичена жирна кислота може залежати від факторів, інших ніж СКД активність, наприклад точністю визначення цис-9 ізомерів, диференційованим поглинанням різних жирних кислот у різних співвідношеннях молочною залозою для різного використання – перетворення в молочні ліпіди і для власних потреб, про що вже згадувалось вище і (2) обмеженими можливостями мРНК SCD активності *in vitro* для досліджень активності SCD *in vivo* (Bernard et al., 2005).

Поряд з фенотиповими чинниками, активність стеароїл-СоА десатурази, великою мірою залежить від генетичних, як показано у дослідженнях Гернсворсі і співавторів (Garnsworthy et al., 2010), що може бути використаним у селекційних програмах для покращення жирнокислотного складу молочних ліпідів, насамперед, підвищення вмісту ненасичених жирних кислот та РК. Показано, що існують 2-3 разові відхилення у індексі SCD активності серед індивідуальних корів, які утримуються на однакових раціонах (Feng et al., 2007).

2.8.2. Регуляція синтезу жирних кислот

Відповіді молочної залози на включення жирових добавок вивчаються активно впродовж останніх десятиліть. В ранніх дослідженнях Крісті встановлено, що включення в раціони корів жиру знижує в молоці концентрацію жирних кислот з короткими ланцюгами шляхом зниження їнього синтезу *de novo* (Christie, 1979).

Важливо відзначити, що такий ефект здійснювали жирові добавки, які містили як насичені, так і ненасичені жирні кислоти, причому незалежно від наявності захисту від рубцевого біогідрогенування. Згодом було проведено багато досліджень в цьому напрямі, а експериментальний матеріал дозволяє стверджувати про пригнічення синтезу жирних кислот *de novo* клітинами молочної залози при додатковому надходженні кормових ліпідів (Grummer, 1991; Dhiman et al., 2000; Romo et al., 2000; Johnson et al., 2002). Причому, зниження кількості коротко- і середньоланцюгових жирних кислот є більш вираженим, коли тваринам згодовують ліпіди, багаті на C18:2 n-6 жирні кислоти,

порівнюючи з добавками, багатих на жирні кислоти цис-9 C18:1, чи C18:3 родини n-3 (AbuGhazalech et al., 2003).

Дослідження активності основних ензимів, що беруть участь у синтезі молочного жиру та мРНК, що контролюється експресією відповідних генів, були проведені на козах при згодовуванні їм лляної олії (головна кислота – ліноленова) та соняшникової олії (головна кислота – олеїнова) (Bernard et al., 2005). Авторами встановлено, що рівень активності ацетил-СоА карбоксилази і жирнокислотної синтази не зазнає істотних змін при згодовуванні жирових добавок, що узгоджується із подібними дослідженнями, проведеними на коровах (Piperova et al., 2000). Подібно до активності відповідних ензимів, мРНК жирнокислотної синтази чи ацетил-СоА карбоксилази також значно не змінюються, хоча спостерігається зниження секреції суми кислот від C10 до C17, відповідно, на 23 чи 18% при згодовуванні лляної олії і соняшникової олії. Активність ензимів, асоційованих з НАДФ відновленням – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа і малоновий ензим, а також гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа також не зазнають значних змін при додатковому надходженні ліпідів. Відсутність значних змін у активності ключових ферментів синтезу ліпідів та відповідних мРНК узгоджується із незначним (в межах 20%) зниженням секреції жирних кислот C4-C16.

Ці дані контрастують із подібними дослідженнями, проведеними на гризунах, в яких показано негативний ефект раціонів, багатих на n-3 і n-6 кислоти, на експресію генів ліпогенних ензимів в печінці і жировій тканині (Raclot & Oudart, 1999). Це можна пояснити частковим біогідрогенуванням ПНЖК в рубці жуйних і зниженням, відповідно, інгібуючого впливу. Однак, в інших роботах повідомляється про інгібування ацетил-СоА карбоксилази і жирнокислотної синтази в тканині молочної залози на фоні згодовування кормових ліпідів із ПНЖК, що може бути викликане транс-ізомерами C18:1 і C18:2, утвореними в рубці. Таке інгібування підтверджене в умовах *in vitro*, зокрема, встановлено, що в культурі клітин молочної залози транс-11 C18:1 знижує активність ацетил-СоА карбоксилази і жирнокислотної синтази, порівнюючи з олеїновою кислотою (Jayan & Herbein, 2000).

Пізніше в молочній залозі щурів, яким згодовували суміш транс-ізомерів, також встановлено порушення синтезу ліпідів (Assumpcao et al., 2002). У корів на раціонах 25:75 грубі:концентрати із добавкою 5% соєвої олії встановлено зниження мРНК ацетил-СоА карбоксилази і активності цього ензиму та активності жирнокислотної синтази в тканині молочної залози, що супроводжувалось значним зниженням (на 59%) секреції C10-C16 жирних

кислот. Подібно, додавання риб'ячого жиру до раціонів корів знижує в молочній залозі мРНК ацетил-СоА карбоксилази і жирнокислотної синтази, що проявляється на 38% зниженням синтезу С4-С16 жирних кислот (Ahnadi et al., 2002).

Часткові відмінності, які є в літературі стосовно змін активності ацетил-СоА карбоксилази і жирнокислотної синтази в молочній залозі корів у відповідь на ліпідні добавки у корів (Piperova et al., 2000; Ahnadi et al., 2002) та кіз (Bernard et al., 2005), автори пояснюють відмінностями самих ліпідних компонентів, тобто, природи і жирнокислотного складу добавок (риб'ячий жир і рослинна олія), форми цих добавок (насіння чи олія), а також специфічними відмінностями метаболізму жирних кислот у рубці різних видів жуйних. Хоча значно зростає мРНК ліпопротеїнліпази в молочній залозі кіз при згодовуванні козам лляної і соняшникової олії, при цьому ліпопротеїнліпазна активність в молоці різко знижується (Bernard et al., 2005). Подібне зниження ліпопротеїнліпазної активності в молоці при згодовуванні ліпідних добавок зареєстровано також групою дослідників на чолі з Чіліардом (Chilliard et al., 2003).

Таке зниження молочної ліпопротеїнліпазної активності можна пояснити її спрямуванням до капілярних луменів, де проходить абсорбція ТАГ крові, натомість зменшується кількість ферменту в альвеолярних клітинах в напрямі до апікальної мембрани, і відповідно, значно менше її попадає в молоко, згідно з моделлю ліпопротеїнліпазного транспорту в молочній залозі, яка була запропонована Дженсеном (Jensen et al., 1994) і Чіліардом (Chilliard et al., 2003).

Ліпопротеїнліпазна активність в молочній залозі щурів, навпаки, зростає при згодовуванні їм ліпідних добавок (Del Prado et al., 1999). Тоді як у корів в молочній залозі не змінюється при додаванні до раціонів 1,5 чи 3% захищеної олії (Ahnadi et al., 2002).

Значне зростання у складі ліпідів довголанцюгових жирних кислот на фоні відсутності адекватного впливу на ліпопротеїнліпазну активність свідчить про значну роль не тільки ліпопротеїнів у забезпеченні С18 жирними кислотами, але також плазматичних ліпопротеїнів дуже низької щільності і хіломікронів (Gagliostro et al., 1991).

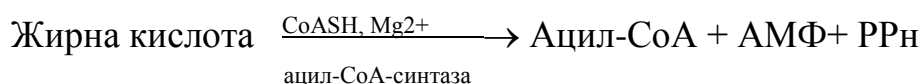
Таким чином, механізм, за яким жирові добавки модулюють секрецію жирних кислот пов'язаний із рівнем експресії генів, які кодують ензими, включені у поглинання жирних кислот і синтез жирних кислот *de novo*. Інші фактори, такі як целюлярна локалізація ензимів і доступність субстратів (наприклад, довголанцюгових жирних кислот у складі ліпопротеїнів дуже

низької щільності) також відіграють значну роль у регуляції активності ферментів, що контролюють біосинтез ліпідів.

2.8.3. Біосинтез триацилгліцеролів і головних фосфоліпідів

Біосинтез триацилгліцеролів і головних фосфоліпідів відбувається із спільних попередників – CoA-похідних жирних кислот і гліцерол-3-фосфату. Гліцерол-3-фосфат може утворюватися двома шляхами – з дигідрооксиацетонфосфату за участю НАД-залежного ферменту гліцеролфосфатдегідрогенази та з гліцеролу за участю гліцеролкінази (Bickerstaffe & Annison, 1971). Однак, головне джерело гліцерол-3-фосфату це утворення його в процесі гліколізу (Bickerstaffe & Annison, 1971). Ензими і регуляція ТАГ синтезу описана в огляді Коулмена і співавт. (Coleman & Lee, 2004).

Жирні кислоти мусять бути активовані до ацил-CoA ефірів:



Активність ацил-CoA синтази змінюється залежно від фізіологічного стану, що свідчить, що ензим відіграє роль в регуляції використання жирних кислот у синтетичних процесах чи процесах окиснення (Coleman et al., 2002).

Ацилювання гліцерол-3-фосфату є першим кроком синтезу ТАГ, а активність ацил-CoA:гліцерол-sn-3-фосфатадилтрансферази (GPAT) є найнижчою серед трансацилюючих ензимів цього шляху, що свідчить про його регуляторну роль у синтезі ТАГ (Coleman & Lee, 2004). Активність цього ензиму активується і інгібується фосфорилуванням і дефосфорилуванням, його роль у синтезі ТАГ є нез'ясованою. Активність GPAT змінюється під впливом гормональних і годівельних чинників (Coleman & Lee, 2004).

Встановлено, що надекспресія гену GPAT індукує утворення ліпідних крапель величезного розміру у дріжджах, клітинній лінії преадипоцитів і слинних залоз (Pagas et al., 2016).

Фосфатидинова кислота (1,2-діацилгліцерол-sn-3-фосфат) займає центральне місце в біосинтезі ліпідів. Вона може перетворитись у цитидин дифосфат-діацилгліцерол, попередник для біосинтезу фосфоліпідів, або дефосфорилуватись, утворивши діацилгліцерол, попередник для ТАГ. Дефосфорилування каталізується ферментом фосфатазою-1 фосфатидинової кислоти, яка є Mg-залежним ферментом і яка переходить із цитозолу в

ендоплазматичний ретикулум в присутності жирних кислот або ацил-КоА (Coleman & Lee, 2004).

Диацилгліцерацилтрансфераза естерифікує як довго-, так і коротколанцюгові жирні кислоти в третій позиції, регуляція його активності описана для печінки і жирової тканини, однак є мало інформації стосовно тканин молочної залози (Palmquist, 2006). Встановлено, що заміна аланіну (232) на лізин в цьому ензимі спричиняє зниження продукування молочного жиру (Palmquist, 2006). В жуйних масляна і капронова кислоти естерифікуються виключно в третьому положенні (Parodi, 1982). Кнудсеном і співавторами було вивчено синтез ТАГ і специфічну інкорпорацію коротко- і довголанцюгових жирних кислот в ТАГ в молочній залозі кіз (Hansen et al., 1984). Довголанцюгові жирні кислоти преференційно естерифікуються в положеннях sn-1 і 2, а диацилгліцери швидко естерифікуються коротко- і середньоланцюговими жирними кислотами в положенні sn-3, які з легкістю звільняються із жирнокислотної синтази, про що вже згадувалось. Ці дослідження вказують на важливість швидкості активації жирних кислот в молочній залозі відповідно до швидкості синтезу *de novo* жирних кислот і постачання α -гліцеролфосфату для синтезу молочного жиру. Якщо постачання екзогенних жирних кислот є низьким, відносна концентрація коротко- середньоланцюгових жирних кислот зростає, однак загальна продукція молочного жиру не підвищується. І навпаки, із зростанням надходження екзогенних довголанцюгових жирних кислот, синтез *de novo* може знижуватись, тому що вони конкурують за диацилтрансферазу. Також обмеження постачання α -гліцеролфосфату призводить до зниження синтезу *de novo* жирних кислот. Авторами зроблено висновок, що регуляція відносних пропорцій коротко-, середньо- і довголанцюгових жирних кислот є складнішою, ніж регуляція ацетил-СоА-карбоксилази. Крім того, авторами зроблено заключення, що унікальне включення коротко- і середньоланцюгових жирних кислот в молочний жир пояснює, що α -гліцеролфосфат є швидко-визначальним для синтезу ТАГ в усіх тканинних жуйних, крім молочної залози. Утворення кожного естерного зв'язку в ТАГ потребує значної кількості енергії.

ТАГ молочного жиру синтезуються в межах ендоплазматичного ретикулуму і механізмом самозбирання перетворюються в жирові кульки. Жирові краплі в процесі екструзії обкутуються плазматичними мембранами. Синтез і секреція ліпідів триває від 4-6 до 8-9 годин. Орієнтовно кожна секреторна клітина в процесі екструзії може виділити від 1 до 3 пкг ліпідів (Медведев, 1970).

2.9. Жирові кульки та їх мембрани

2.9.1. Склад і структура мембран жирових кульок

Велика увага дослідників щодо будови жирових кульок і їх мембран припадала на 70-ті роки минулого століття (Anderson & Brooker, 1975; Patton & Keenan, 1975). В останні роки інтерес відновлюється завдяки новим технічним можливостям для досліджень (Lopez, 2011; Vanderghem et al., 2011; Shere Raza et al., 2021).

Жирові кульки оточені спеціальною тришаровою мембраною, яка побудована з ліпідів і протеїнів (Lopez, 2011). Коли краплі ТАГ секретуються із клітини молочної залози, вони обволікуються плазматичною мембраною, з включенням усіх головних і мінорних сполук, що входять до неї (Spitsberg, 2005). У огляді Кінана і Мазера повідомляється, що матеріал, з якого побудовані мембрани жирових кульок (МЖК) походить із двох джерел: ендоплазматичного ретикулуму протягом формування ліпідних крапель і з пост-Гольджі мембран, які включають апікальні плазматичні мембрани, якими окутується жирова кулька під час секреції ліпідних крапель із секреторної клітини (Keenan & Mather, 2006). Оболонка має товщину біля 10 нм, а площа поверхні МЖК в 1 мл молока становить близько 500 см² (Ward, 2007). Схематичне зображення оболонки жирових кульок представлено на рисунку 2.1.

У побудові МЖК можуть брати участь також мембрани інших інтрацелюлярних утворень. Ця частина мембрани, яка походить із апікальної мембрани клітини, є головною, вона має типовий двошаровий вигляд і електронно-щільну частину з внутрішньої сторони. Ліпідна частина представлена фосфоліпідами, що включають холін, гліколіпідами, цереброзидами і гангліозидами. Матеріал, який походить із ендоплазматичного ретикулуму, є у вигляді моношару протеїнів і полярних ліпідів, що покриває ліпідне ядро ТАГ глобули перед секрецією. Цей моношар містить багато протеїнів, а також фосфатидилетаноламін, фосфатидилінозитол і фосфатидилсерин (Shere Raza et al., 2021). Він відокремлює ліпіди всередині клітини і бере участь в інтрацелюлярному злитті ліпідних крапель між собою. Компоненти цього покриття можуть бути також включені у взаємодію крапель із плазматичною мембраною під час секреції (Keenan & Mather, 2006).

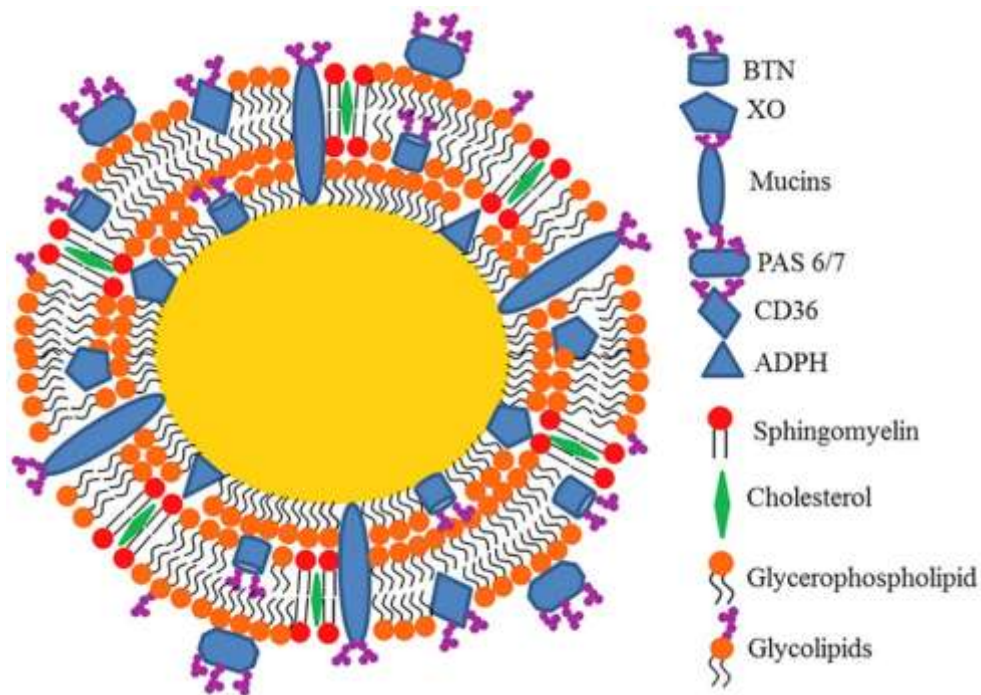


Рис. 2.1. Схематичне зображення оболонки жирової кульки (Singh & Gallier, 2017):

BTN – бутирофілін; XO – ксантинооксидаза; ADPH – адипофілін, CD36 – кластер диференціації; PAS 6/7 – періодат Шиф 6/7

Щодо повної ідентичності МЖК і апікальних мембран секреторних клітин, то біохімічні підтвердження важко отримати, оскільки технічно важко відокремити апікальні ділянки мембран від базальних чи латеральних (Keenan et al., 1989). Однак, порівняння плазматичних мембран, виділених з молочної залози, і МЖК свідчать про подібність полярних ліпідів і протеїнових компонентів (Keenan et al., 1989). Крім того, показано, що бутирофілін (BTN), головний інтегральний білок МЖК, є присутній на апікальній мембрані і концентрується в ділянках мембран, асоційованих із побудовою ліпідних крапель (Mather, 1987).

Головним питанням останніх 25 років щодо секреції жирових кульок було те, які саме протеїни МЖК відповідальні за остаточне формування оболонок і їх вихід з клітини (Bauman et al., 2006). Встановлено, що протеїни бутирофілін і ксантинооксидаза (XO) відіграють визначальну роль у процесі секреції жирових крапель. У моделях із блокуванням генів цих протеїнів у мишей встановлено, що в цитоплазмі нагромаджуються величезні краплі ТАГ, які видаляються з клітини, не обволікаючись цитоплазматичною мембраною, після чого в просторі альвеоли формують масивні агрегати ліпідів. Було запропоновано модель, згідно з якою бутирофілін, як інтегральний білок, взаємодіє з

ксантиндегідрогеназою/оксидазою для сприяння обволіканню плазматичною мембраною ліпідної краплі. Відповідно гени, які кодують ці два білки, можуть бути включеними для генетичного скринінгу молочних корів щодо якості молока (Bauman et al., 2006).

Канно повідомляв, що мембрани жирових кульок побудовані із протеїнів і ліпідів у масовому співвідношенні 1:1 (Kanno, 1990) із незначним вмістом вуглеводів (Ward, 2007), компонентів, супутніх ліпідам, таких як каротин і жиророзчинні вітаміни (Горбатова, 2004). Кавалетто і співавтори повідомляють, що оболонки жирових кульок складаються із 69-73% ліпідів і 22-24% протеїнів (Cavaletto et al., 2008). Згідно Гозмюллера і співавторів оболонки жирових кульок містять від 30 до 75% полярних ліпідів і від 25 до 70% протеїнів (Holzmüller et al., 2016).

Ліпіди оболонок жирових кульок предсталені такими класами: ТАГ (62% від загальних ліпідів), диацилгліцероли (9%), моноацилгліцероли (сліди), стероли (0,2-2,0%), ефіри стеролів (0,1-0,3%), НЕЖК (0,6-6,0%), вуглеводи (1,2%), фосфоліпіди (26-31%) (Keenan & Mather, 2006). Щодо присутності ТАГ в мембранах жирових кульок в науковій літературі триває дискусія.

Фосфоліпідний склад такий: сфінгомієлін – 22%, фосфатидилхолін – 36%, фосфатидилетаноламін – 27%, фосфатидилінозитол – 11%, фосфатидилсерин – 4%, лізофосфатидилхолін – 2%. Біля 60% загального фосфоліпідного пулу молока пов'язано із МЖК (Keenan & Mather, 2006). До складу МЖК входить більше ніж 30 різних фосфоліпідів (Shere Raza et al., 2021).

Лopez і співавтори приводять дані щодо фосфоліпідного складу мембран, вказуючи межі коливань: фосфатидилхолін – 35-36% (від загальних полярних ліпідів), фосфатидилетаноламін – 27-30%, фосфатидилінозитол – 5-11%, сфінголіпіди, головним чином, сфінгомієлін – 25% (Lopez et al., 2008).

Розмір жирових крапель визначає фосфоліпідний склад їх оболонок, фосфатидилінозитол є у більшій концентрації в жирових кульках діаметром 2 мкм, тоді як фосфатидиетаноламін – у більшій концентрації в жирових кульках діаметром 3 мкм. Концентрація фосфатидилхоліну не залежить від розміру жирових кульок (Mesilati-Stahy et al., 2011).

Лу і співавтори порівнювали склад оболонок жирових кульок розміром $7,6 \pm 0,9$ і $3,3 \pm 1,2$ мкм і встановили, що концентрація холестеролу, ненасичених жирних кислот і фосфатидилетаноламіну є вищою у оболонках менших жирових кульок (Jing et al., 2016).

Хімічний склад полярних ліпідів має прямий вплив на молекулярну структуру і організацію МЖК і нановезикул. У біоміметичних моделях із

молочним сфінгомієліном було показано, що його структура самостійно і у поєднанні з холестеролом забезпечує формування рідинно впорядкованих рафтів у зовнішньому шарі оболонки жирових кульок, які є латерально відокремленими від решти фосфоліпідів за аналогією із плазматичними мембранами ссавців (Lopez et al., 2010). Довжина жирнокислотних залишків визначає висоту доменів, що впливає на організацію і топографію мембран. Саме таке гетерогенне пакування сфінгомієліну і структура доменів визначає біологічні ефекти оболонки жирових кульок, зокрема зв'язування бактерій, ензимів і інших протеїнів, а також фізичну стабільність везикул завдяки регуляції різних механізмів (Guyomarc'h et al., 2014).

Фосфоліпіди молока зараз активно вивчаються під кутом зору як мактрикс ліпосом (екзосом, лактосом), які можна розглядати як системи доставки біологічно активних компонентів. Ці ліпосоми являють собою нанокраплі, вони присутні у маслянці після збиття вершків у масло (Arranz & Corredig, 2017). Такі наночастинки діаметром 25 нм присутні у жіночому молоці, вони можуть бути виділені за допомогою ультрацентрифугування. Ліпідомічний і протеомічний аналіз показав, що ці наноструктури утворюються іншим біосинтетичним чи секреторним шляхом, ніж жирові кульки. Ці частинки виконують імуномодуляторну роль (Argov et al., 2008). Повідомляється також про менші розміри цих нанокрапель – до 12 нм (Shere Raza et al., 2021).

В останні роки наночастинки фосфоліпідів і білків – лактосоми почали використовувати як системи доставки біоактивних сполук у фармацевтичній, косметичній та харчовій галузях. Фосфоліпідні везикули являють собою сферичну оболонку з двошаровою структурою, їхня універсальність полягає у здатності захоплювати гідрофільні сполуки і гідрофобні молекули. Важливим аспектом є й те, що вони є біологічно сумісними і здатними доставляти компоненти у травній системі (Arranz & Corredig, 2017).

Глікосфінголіпіди є відносно мінорними компонентами МЖК, однак вони активно вивчаються, оскільки відома роль глікосфінголіпідів і деяких продуктів їхнього розпаду в біологічних феноменах, таких як регуляція росту через модуляцію протеїнкінази і фосфатази (Merrill, 2002).

МЖК містять два нейтральних глікосфінголіпіди – глюкозил-кераміди і лактозилкераміди в приблизно еквімолярних пропорціях. Ідентифіковано дев'ять гангліозидів, два з них головні – GD3 і GM3, інші сім в загальному становлять 20% від їхнього вмісту в МЖК (Keenan & Patton, 1995). Близько 70% нейтральних гліколіпідів молока і 90% гангліозидів асоційовані із МЖК (Jensen, 2002).

Годівельними факторами жирнокислотний склад компонентів мембран жирових кульок, зокрема, за дії кормових ліпідів змінити досить важко, про що вже згадувалось вище (Palmquist & Schanbacher, 1991).

Нині ведуться дослідження, метою яких є пошук можливостей підвищити коцентрацію фосфоліпідів, а зокрема, сфінгомієліну в молоці опосередкованою дією кормових ліпідів на вміст жиру в молоці, що, в свою чергу, здійснює вплив на розмір жирових кульок, а отже, на зміну компонентів в їхніх мембранах. Однак, поки що такі пошуки, зокрема при згодовуванні соєвої олії, не увінчалися успіхом (Graves et al., 2007).

МЖК містять від 1 до 4% протеїнів від загальної їх кількості в молоці (Liao et al., 2011). Біля 500 різних протеїнів ідентифіковано у жіночому молоці, їм приділяється особлива увага завдяки клінічній і біологічній функціям (Сао et al., 2018). Щільний білковий шар розташований між моношаром фосфоліпідів, що контактує з ядром ТАГ, і внутрішньою поверхнею зовнішнього шару, який є двошаром фосфоліпідів (Heid & Keenan, 2005).

Білкові компоненти мембран поділяються за розчинністю на дві фракції. Фракція поганорозчинних білків – структурні білки – вони містять 14% Нітрогену, відрізняються за амінокислотним складом від протеїнів молока (містять менше лізину, валіну, лейцину, глутаміну, аспарагіну та більше – аргініну). В основному, це – трансмембранні протеїни, до зовнішнього їх кінця прикріплені компоненти вуглеводів: гексози, гексозаміни, сіалова кислота, які експонуються назовні і є гідрофільними. Основний трансмембранний протеїн – бутирофілін. Друга фракція – фракція водорозчинних білків, вони також є глікопротеїнами, містять до 18% вуглеводів, в основному це – епітеліальні муцини. До цієї фракції належать також численні ензими, яких є біля 30: ксантинооксидаза, лужна і кисла фосфатаза, глутамінтрансфераза, фосфатидилестераза, нуклеотидаза та ін. (Dewettinck et al., 2008). Домінуючим протеїном є бутирофілін, кількість якого становить біля 40% від загального вмісту протеїнів, наступним за кількістю протеїном є ксантинооксидаза, вміст якої становить 12-13%, а інші протеїни присутні в оболонках у значно менших кількостях (Spitsberg, 2005).

Основними стадіями виділення протеїнів жирових кульок є такі: виділення жирових кульок з незбираного молока центрифугуванням; декількаразове промивання жирових кульок фізіологічним буферним розчином; звільнення мембран жирових кульок фізичним (збивання) або хімічним (екстракція) способами; виділення звільнених мембран ультрацентрифугуванням (90 000-100 000 g протягом 60 хв). В результаті центрифугування отримують

супернатант і фазу мембран жирових кульок. До 20% протеїнів знаходяться у розчинній фазі (супернатанті), решта – у фазі мембран. Основні фракції протеїнів жирових кульок вдається виявити незалежно від застосованого методу. Проте істотні відмінності проявляються щодо численних мінорних компонентів (Юкало, 2021).

Бутирофілін є глікопротеїном з молекулярною масою 66-67 кДа (Franke et al., 1981), він є мозаїчним трансмембранним протеїном і складається із функціонально різних пептидних доменів. Його екзоплазматичний N-термальний домен належить до імуноглобулінів, а цитоплазматичний C-термальний домен (170 амінокислотних залишків) є високостабільним і зустрічається в 20 різних протеїнах (Mather, 2000).

Ксантиноксидаза розташована у протеїновому шарі МЖК, адипофілін розташований з внутрішньої сторони полярного ліпідного бішару, і зв'язуючий жирні кислоти протеїн (FABP) розташований у моношарі, прилягаючому до ліпідного ядра глобули (Vanderghem et al., 2011).

Більшість мембранних протеїнів є глікопротеїнами, зокрема, муцин 1, муцин 15, бутирофілін, кластер диференціації 36 (CD36) і періодат Шиф 6/7 (periodic acid Schiff 6/7, PAS6/7) – лактадерин (Mather, 2000). Усі ці протеїни, крім періодат Шиф 6/7, є трансмембранними протеїнами (Dewettinck et al., 2008). Вуглеводневими компонентами глікопротеїнів є галактоза, N-галактозамін і сіалова кислота (Горбатова, 2004).

За допомогою протеомічних аналізів ідентифіковано понад сотню унікальних пептидних секвенсів, асоційованих із МЖК молока корів і людини (Ward, 2007).

Протеїни МЖК включені у процеси мембранного транспорту, клітинної сигналізації, ліпідного метаболізму, а також протидії різним патогенам (Ward, 2007).

Швидкого прогресу у визначенні основних білків МЖК було досягнуто завдяки застосуванню методів молекулярного клонування, які надали велику кількість інформації, оскільки дані про повні лінійні амінокислотні послідовності можуть бути отримані з відповідних клонованих послідовностей ДНК. Зусиллями Петерсона та його колег в Данії, а Джека і Мазера у Сполучених Штатах визначено послідовності всіх основних білків МЖК. Ці білки включають муцини MUC1 і MUC15, окисно-відновний ензим ксантиндегідрогеназа/оксидаза, інтегральні білки CD36 і бутирофілін, а також ліпідозв'язуючий білок адипопофілін (Vauman et al., 2006).

До складу мембран входять елементи Cu, Fe, Mo, Zn, Co, Mg, Se, Na, K, які є кофакторами ензимів або формують комплекси з мембранними протеїнами, тим самим стабілізуючи структуру мембран. Фосфоліпіди і фосфогліколіколіпіди, зв'язуючи катіони, орієнтують ензими на поверхні мембран (Schmelz et al., 2000).

Встановлено, що ТАГ акумулюються між зовнішньою і внутрішньою частиною бішару мембрани ендоплазматичного ретикулуму, після чого звільняються в цитозоль як краплі, покриті цитоплазматичною частиною мембрани ендоплазматичного ретикулуму (Mather & Keenan, 1998). Попередниками жирових крапель є мікрокраплі діаметром до 0,5 мкм. Краплі ростуть в об'ємі шляхом злиття мікрокрапель між собою і утворюють цитоплазматичні ліпідні краплі (Keenan & Mather, 2006).

Ліпідні краплі мігрують із місця свого утворення в базальній частині секреторної клітини до апікальної мембрани. Деталі механізму переміщення ліпідних крапель залишаються припущеннями, можливо, в ньому задіяні елементи цитоскелетону, однак немає морфологічних свідчень специфічних контактів між ліпідними краплями і елементами цитоскелетону (Keenan & Mather, 2006). В системах, вільних від клітин, жирнокислотна синтаза є здатною транспортувати ліпіди до мікроліпідних крапель і до плазматичного ретикулуму (Keon et al., 1994).

Ліпідні краплі секретуються за апокриновим типом. Механізм запропонований Бергманом і Кнупом в 1959 році, пояснював, що ліпідні краплі тісно контактують з апікальною мембраною, обволікуються нею, і разом з нею відриваються від клітини (Keenan & Mather, 2006). Зараз широко признаним і морфологічно доведеним є механізм, згідно з яким відбувається асоціація між ліпідними краплями і секреторними везикулами в апікальній частині клітини (Kralj & Pipan, 1992).

Хоча склад МЖК добре вивчений, їх структура до сьогодні дискутується. Багато дослідників описують біологічну мембрану як динамічну мозаїчну (рідинномозаїчну) модель, в якій молекули білків занурені із двох сторін мембрани на різну глибину у подвійний шар рухливих вуглеводневих «хвостів» фосфоліпідів; крім того, є білки, які проходять крізь усю мембрану. Будова мембран асиметрична; значна частина поверхні мембран вільна від білків (Тютюнников и др., 1992; Michalski et al., 2005).

Застосування сучасних можливостей мікроскопії дозволило деталізувати структуру МЖК, зокрема, латеральну організацію фосфоліпідів, висвітлюючи неоднорідний розподіл ліпідів і протеїнів (Gallier et al., 2010). За допомогою

флуоресцентної мікроскопії продемонстровано присутність різних ділянок в оболонках – впорядкованих (ліпідних рафтів) і невпорядкованих (Evers et al., 2008). Уперше про наявність ліпідних рафтів в МЖК повідомили Лопез і співавтори, використовуючи конфокальну лазерну скануючу мікроскопію для зразків коров'ячого молока (Lopez et al., 2010). Зображення показали незабарвлені кругові ділянки в латеральній організації через наявність рідинно-впорядкованих фаз, багатих сфінголіпідами та холестеролом, у рідинно-невпорядкованому матриксі ненасичених гліцерофосфоліпідів.

МЖК є унікальними порівняно із іншими біоактивними інгредієнтами завдяки композиційній різноманітності, а також багаточисельності молекул, що пов'язані із мембранами (Ward, 2007). Тому, цілком оправданими є очікування синергізму в біологічній активності між компонентами мембран жирових кульок, що надає їм властивості важливої моделі для розвитку багатьох напрямів науки про функціональні продукти.

Впродовж 15 останніх років нагромаджено багато даних щодо сприятливих для здоров'я людини властивостей, якими наділені компоненти мембран жирових кульок. Серед найважливіших властивостей протеїнів і ліпідів мембран жирових кульок, пов'язаних із сприятливим впливом на здоров'я людини, слід виокремити такі: фактор зниження рівня холестеролу, пригнічення росту ракових клітин, зв'язування і транспортування вітамінів та мікроелементів (селену), пригнічення *Helicobacter pylori*, пригнічення бета-глюкоронідази інтестинальної *E. coli*, дія ксантиноксидази, як антибактеріального агента, бутирофілін як можливий супресор склерозу, а також фосфоліпіди як агенти проти канцеру кишечника, гастроінтестинальних патологій, хвороби Альцгеймера, депресій і стресів. Кожен із цих впливів забезпечує можливість розгляду мембран жирових кульок як потенційних нутріцевтиків (Spitsberg, 2005). Детальніше про це – в окремому розділі.

Однак, використання мембран жирових кульок як самостійного інгредієнту є обмеженим через значну схильність їх ліпідів до окиснення, а також нестабільність кількісних показників при виділенні (Ward, 2007).

2.9.2. Розмір жирових кульок

Як відомо, молочний жир секретується у вигляді мільярдів ліпідних крапель розмір яких може коливатися в межах трьох порядків – від 200 нм до 15 мкм (Argov-Argaman, 2019). Однак, понад 80% жирових кульок мають діаметр більше 1 мкм, з середнім розміром 4 мкм (Bauman et al., 2006). Розмір жирових кульок може коливатись в досить широких межах. Головними механізмами, які

включені у регуляцію інтрацелюлярного розміру жирових кульок, є: 1) ко-регуляція з рівнем інтрацелюлярних ТАГ; 2) наявність мембранного матеріалу 3) злиття ліпідних крапель (Argov-Argaman, 2019).

Ліпідні краплі зростають у розмірі шляхом інкорпорації ТАГ, вивільнених з ендоплазматичного ретикулуму (Gross et al., 2011). При цьому мітохондрії завжди розташовуються біля ліпідних крапель, що може свідчити про важливу роль забезпечення енергією і НАДФ для ензимів ТАГ-синтезу (Walther & Farese, 2009.).

Фізична близькість між ліпідними краплями і мітохондріями може бути поясненням біохімічного зв'язку між розмірами жирових кульок і енергетичним балансом організму – збільшення розмірів пов'язано з негативним енергетичним балансом (Argov-Argaman, 2019). Додатковим свідченням цього є те, що у секреторних клітинах молочної залози, оброблених вільною олеїною кислотою, яка є гуморального походження, зростає кількість мітохондрій, спостерігається вища експресія мітохондріальної активності маркеру НАДФ дегідрогенази (убіхінон) 1 α субкомплексу і зростає розмір жирових крапель порівняно з секреторними клітинами, обробленими пальмітиною кислотою (Cohen et al., 2015), яка може бути синтезована безпосередньо в клітинах молочної залози.

Розмір жирових кульок також регулюється інтенсивністю ТАГ ліполізу в секреторних клітинах, посилення ліполізу призводить до зменшення розмірів жирових кульок (Argov-Argaman, 2019).

Розмір жирових кульок тісно пов'язаний з ліпідомом і протеомом їх оболонки (Lu et al., 2016) і визначається площею загальної поверхні жирових кульок, тобто кількістю покривного матеріалу – мембран. Чим менші жирові кульки, тим більше мембранного матеріалу потрібно для їх окутування. Існує негативна залежність між співвідношенням полярні ліпіди:ТАГ і розміром жирових кульок (Mesilati-Stahy et al., 2011).

Досліджень механізмів контролю співвідношення між фосфоліпідами і ТАГ досить мало, незважаючи на його особливе значення через потенційний вплив на якість молока та молочних продуктів з точки зору органолептичних та оздоровчих властивостей. Запропоновані механізми включають спорідненість та ефективність ензимів циклу Кеннеді, які використовують спільний субстрат для синтезу ТАГ і фосфоліпідів – диацилгліцерол (Hammond et al., 2002). Крім того, лімітуючим чинником для синтезу фосфоліпідів може бути наявність довголанцюгових жирних кислот в секреторних клітинах молочної залози

(Mesilati-Stahy et al., 2012), які походять або з кров'яного руслу, або з жирової тканини, а це в свою чергу, визначається метаболічним статусом організму.

Можливість збільшення розміру ліпідних крапель на тлі зниження експресії генів синтезу фосфатидилхоліну продемонстровано в модельних дослідах, зокрема, на дріжджах (Fei et al., 2011), однак такі дослідження не проведені на тканині молочної залози (Argov-Argaman, 2019).

Третій механізм контролю розміру жирових кульок полягає у контролі за злиттям ліпідних крапель. Процес злиття ліпідних крапель протікає в декілька стадій. На першій стадії краплі наближаються одна до одної, але між ними залишається гідратна плівка. На другій стадії у мембрані відкриваються пори, забезпечуючи зв'язок між двом ядрами ліпідних крапель, в результаті чого вони зливаються, формуючи одну більшу краплю. Пори можуть також і не відкриватись Їх поведінка залежить від фізичних властивостей компонентів фосфоліпідного моношару. Наприклад, фосфатидилетаноламін є негативно викривленим, конусоподібним фосфоліпідом з маленькою передньою групою, що зумовлює нестабільність мембрани та індукує злиття. На противагу, фосфатидилхолін, який є циліндричноподібним фосфоліпідом, забезпечує стабільність мембрани та інгібує злиття (Thiam et al., 2013).

В ліпосомах і синтетичних системах співвідношення між масою фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну визначає стабільність мембран і можливість злиття. Оптимальним співвідношенням між фосфатидилхоліном і фосфатидилетаноламіном, що забезпечує баланс між злиттям і відокремленням жирових крапель, є молярне співвідношення 35:30 (Naque et al., 2001).

В контексті функціонування клітини, слід підкреслити, що мітохондрії відіграють центральну роль у модулюванні складу фосфоліпідів клітинних мембран. Особливо це стосується перетворення фосфатидилсерину у фосфатидилетаноламін, яке здійснюється в мітохондріях за дії фосфатидилсериндекарбоксилази, що може відігравати роль у регуляції стабільності ліпідних крапель (Pereira et al., 2012).

Підтвердженням тому, що мембранний матеріал відіграє роль у регуляції розміру ліпідних крапель, є також факт, що обробка секреторних клітин молочної залози вільною олеїною кислотою сприяє збільшенню розмірів ліпідних крапель на відміну від пальмітинової кислоти, про що вже вказувалось вище. При цьому не спостерігалось відмінностей у вмісті ТАГ. Олеїнова кислота збільшує вміст фосфатидилетаноламіну в клітинах молочної залози, який у, свою чергу, знижує стабільність мембрани і сприяє злиттю ліпідних крапель. А

інгібування синтезу фосфатидилхоліну призводить до зростання розмірів жирових крапель (Cohen et al., 2017).

Наявність захисних ліпопротеїдних оболонок, що покривають кожную жирову кульку, забезпечують тонку дисперсність жирових крапель в плазмі молока і агрегативну стійкість. Молочний жир із плазмою молока формує пряму емульсію, що має дуже важливе значення для процесу його засвоєння новонародженими організмами, а також для технологічної обробки (Горбатова, 2004).

2.9.3. Фактори стабільності жирової емульсії

Жирові кульки в молоці стійкі до флокуляції та коалесценції. Факторами стабільності дисперсних систем – емульсій, які можна розглядати як гідрофобні колоїди, і колоїдів є: термодинамічні та кінетичні. До термодинамічних належать електростатичний заряд поверхні частинок, завдяки якому формується подвійний електричний шар (ПЕШ), адсорбційно-сольватна оболонка та ентропійний фактор, який полягає у тепловому русі частинок і прагненні до рівномірного розподілення в об'ємі. До кінетичних факторів належать: структурно-механічний бар'єр (оболонка) і гідродинамічний бар'єр, який полягає у різниці в'язкості рідин. Стабільність жирової емульсії у молоці зумовлена цими змішаними факторами і усі вони відіграють певну роль. Дзета-потенціал жирових глобул становить приблизно -10 мВ, що вказує на відносно низький внесок від електростатичних відштовхувань (Walstra, 1995).

Одну з найважливіших ролей відіграє структурно-механічний бар'єр, тобто наявність МЖК. Лише після руйнування структури МЖК, наприклад, при механічних впливах, які мають місце при збитті вершків у масло, ліпідні краплі агрегують, утворюючи масло, при цьому руйнується система емульсії молока.

2.9.4. Перетравлення молочного жиру

У мембрані жирових кульок є місця співіснування рідинно-впорядкованої фази, багаті сфінгомієліном і холестеролом і рідинно неупорядкованої, що складається із ненасичених фосфоліпідів, про що згадувалось вище (Gallier et al., 2010). Ці місця співіснування відіграють важливу роль у перетравленні молочного жиру. Як показано у дослідженнях Гальє і співавторів (Gallier et al., 2010) після додавання солей жовчних кислот комплекс підшлункової ліпази-коліпази з жовчними солями адсорбується лише на ділянках моношарової системи із дипальмітоїлфосфатидилхоліном, тобто в рідинно-неупорядкованих ділянках, але не в ущільнених ділянках. Присутність впорядкованих доменів,

багатих сфінгомієліном і холестеролом, захищає жирові кульки від ліполізу (Maldonado-Valderrama et al., 2011).

Протеїни оболонок жирових кульок також відіграють роль у травленні жирових кульок. Високий ступінь глікозилювання оболонок жирових кульок у жіночому і коров'ячому молоці відіграють роль у інгібуванні ензиматичного протеолізу (Vanderghem et al., 2011). Крім того, показано взаємодію β -казеїнів і фосфоліпідів мембрани (Gallier et al., 2011), яка вносить додаткове впорядкування певних ділянок оболонки завдяки протеїн-фосфоліпідній взаємодії.

Гальє із співавторами на моделях, що імітують умови в шлунку і тонкій кишці, дослідили процес травлення жирових кульок (Gallier et al., 2012). Авторами показано, що в умовах *in vitro*, які імітують шлункове травлення, за низьких значень рН жирові кульки залишаються достатньо стабільними (рис.2.2, В). Частина пептидів та β -лактоглобулін також залишаються стійкими до дії пепсину. Фосфоліпіди, протеїни і пептиди стабілізують жирові глобули за низького значення рН. Пептиди проявляють поверхневу активність, достатню, щоб залишитись на поверхні розділу фаз і забезпечити стеричний бар'єр, попереджуючи коалесценцію чи флокуляцію жирових кульок. Крім того, частина протеїнів оболонок жирових кульок є резистентними до протеолізу пепсином. Присутність інтактних чи частково гідролізованих глікопротеїнів оболонок жирових кульок забезпечують високий дзета-потенціал їх поверхні під час шлункового травлення. В умовах *in vitro* визначено швидкість гідролізу шлунковим пепсином протеїнів оболонок жирових кульок сирого молока і встановлено, що ксантинооксидаза і періодат Шиф 6/7 гідролізуються швидше, ніж бутирофілін. Шлунковою ліпазою гідролізуються до вільних жирних кислот і диацилгліцеролів від 10 до 30% ліпідів. Шлункова ліпаза є дуже мало активною (Gallier et al., 2012).

Гальє і співавтори також досліджували шлункове перетравлення жирових кульок вершків, отриманих із сирого коров'ячого молока та нагрітих вершків (до 63°C), у щурів *in vivo*. Вершки були використані для мінімізації впливу казеїнів. Подібна картина щодо перетравлення протеїнів МЖК була зареєстрована щодо обох зразків. Кількість вільних жирних кислот збільшувалась протягом 3 годин після згодовування вершків, що засвідчило про певну ліполітичну активність. І хоча шлункова ліпаза у щурів є малоактивна, натомість активність проявляє кислотостійка лінгуальна ліпаза, продукована залозами фон Ебнера. Ця ліпаза преференційно розщеплює естерні зв'язки у позиції sn-3 у ТАГ, вивільняючи коротоланцюгові і середньоланцюгові жирні кислоти. Оптимальне значення рН

для цієї ліпази в межах 5,0-5,4. Причому, рівень ліполізу є вищий для вершків нагрітих, що пояснюється впливом сироваткових білків на протеїни оболонки жирових кульок і посиленням їх протеолізу. Автори, підсумовуючи про шлункове травлення, зазначають, що, очевидно, що під час шлункового травлення поверхневі структури жирових кульок модифікуються, але без різкого впливу на їх розмір. Шлунковий пепсин частково гідролізує білки оболонки жирових кульок, але пептиди залишаються на поверхні жирової кульки, а фосфоліпіди підтримують її стабільність. Ці структури можуть потенційно затримувати дію шлункової ліпази та обмежують її активність. Вільні жирні кислоти як результат шлункового ліполізу, пептиди та частково модифіковані жирові кульки переміщуються в тонкий кишечник, де вони істотно змінюються (Gallier et al., 2013).

Під час кишкового травлення більшість β -лактоглобуліну і залишкові пептиди гідролізуються трипсином і хімотрипсином, а ліполітичні продукти, звільнені в результаті гідролізу ТАГ ядра глобули, призводять до дестабілізації і коалесценції жирових кульок (рис.2.2, C,D). Нагромаджуючись на поверхні глобули, ліполітичні продукти утворюють ламелярну фазу, яка розчиняється у солях жовчних кислот, формуючи дископодібні міцелли. Спостерігається дестабілізація жирових кульок, що призводить до їх коалесценції і зростання розміру глобул із значеннями від 2,5 до 50 мкм. При цьому змінюється дзета потенціал поверхні жирових кульок, за панкреатичного значення рН він сягає 42,1 мВ. Панкреатичний трипсин і хімотрипсин гідролізують протеїни і пептиди, а панкреатична ліпаза гідролізує молекули триацилгліцеролів до жирних кислот і моноацилгліцеролів, які акумулюються на поверхні розділу фаз. Ліполіз здійснюється дуже швидко, за 5 хв звільняється 30 мкмоль/мл вільних жирних кислот, за 120 хв їх концентрація сягає 114 мкмоль/мл. Швидкий ліполіз веде до нагромадження ліполітичних продуктів на поверхні глобул і це нагромадження знижує швидкість ліполізу, оскільки ядро ТАГ стає менш доступним до дії ліпази до тих пір, поки солі жовчних кислот і фосфоліпіди не будуть готові солюбілізувати продукти ліполізу у міцелли. Насичені і мононенасичені продукти ліполізу мають високий ступінь дисперсності у водному середовищі, вони швидко мігрують з границі фаз вода-жир і не інгібують подальший гідроліз ТАГ. Показано, що попереднє перебування в умовах шлункового соку за дії пепсину істотно підвищує активність панкреатичної ліпази.

Панкреатин є сумішшю різних панкреатичних ензимів і містить також фосфоліпазу, холестеролестерліпазу, відповідно вивільняються жирні кислоти з фосфоліпідів, вітамінів і естерифікованого холестеролу. Однак, домінуючим

ензимом є ліпаза. Синергія між ензимами, коліпазою і солями жовчних кислот забезпечує ліполіз ліпідів жирових кульок. Кон'юговані солі жовчних кислот забезпечують усунування частини матеріалу оболонки жирових кульок із поверхні глобул. Без попереднього гідролізу протеїнів оболонки жирових кульок трипсином, подальший ліполіз був би неможливим.(Gallier et al., 2012).

Емульсія з маленькими жировими кульками перетравлюється швидше, оскільки збільшується поверхня контакту з ензимами (Singh, 2006).

Дослідження Гальє і співавторів доводять велике значення структури оболонки жирових кульок у їх перетравленні. Зроблено висновок, що будь-яка обробка, яка змінює структуру оболонки жирових кульок, впливатиме на їх перетравлення.

Дослідження щодо особливостей травлення компонентів мембран жирових кульок мають також важливе значення для технології створення функціональних продуктів, оскільки вказують на важливість збереження нативного стану мембран жирових кульок чи імітації їх структури.

2.10. Екзосоми

Дослідженням структур – лактосом (екзосом) щораз більше в останні роки приділяється уваги. Це нова група везикулярних структур, які виявлені у молоці. Важливо підкреслити, що переважна більшість досліджень екзосом стосується екзосом жіночого молока. Дуже мало повідомлень щодо екзосом коров'ячого молока (Ortega-Anaya & Jiménez-Flores, 2019).

Особливу зацікавленість викликає їх біологічна роль і вплив на здоров'я людини. Молочні екзосоми є фосфоліпідами, звільненими із клітин, які мають діаметр від 30 до 120 нм і густину від 1,13 до 1,19 г/мл (Zhang et al., 2014), і містять мРНК, мікро-РНК, фрагменти ДНК і протеїни. У молоці, як жіночому, так і коров'ячому, екзосоми транспортують свої РНК складові до імунних клітин, завдяки чому можуть модулювати їх функцію (Zempleni et al., 2017).

Екзосоми і нановезикули секретуються шляхом екзоцитозу як еукаріотичними, так і прокаріотичними клітинами у навколишнє середовище для взаємодії клітин із клітинами, захисту та обміну генетичною інформацією (Rani et al., 2017). Вони стикаються з поверхнею клітин реципієнтів, передають сигнали і переносять свій вміст крізь поверхню, на що клітини дають функціональні відповіді. Цей механізм недостатньо вивчений, вважається, що функціональна відповідь визначається білками і генетичним матеріалом батьківської клітини (French et al., 2017).

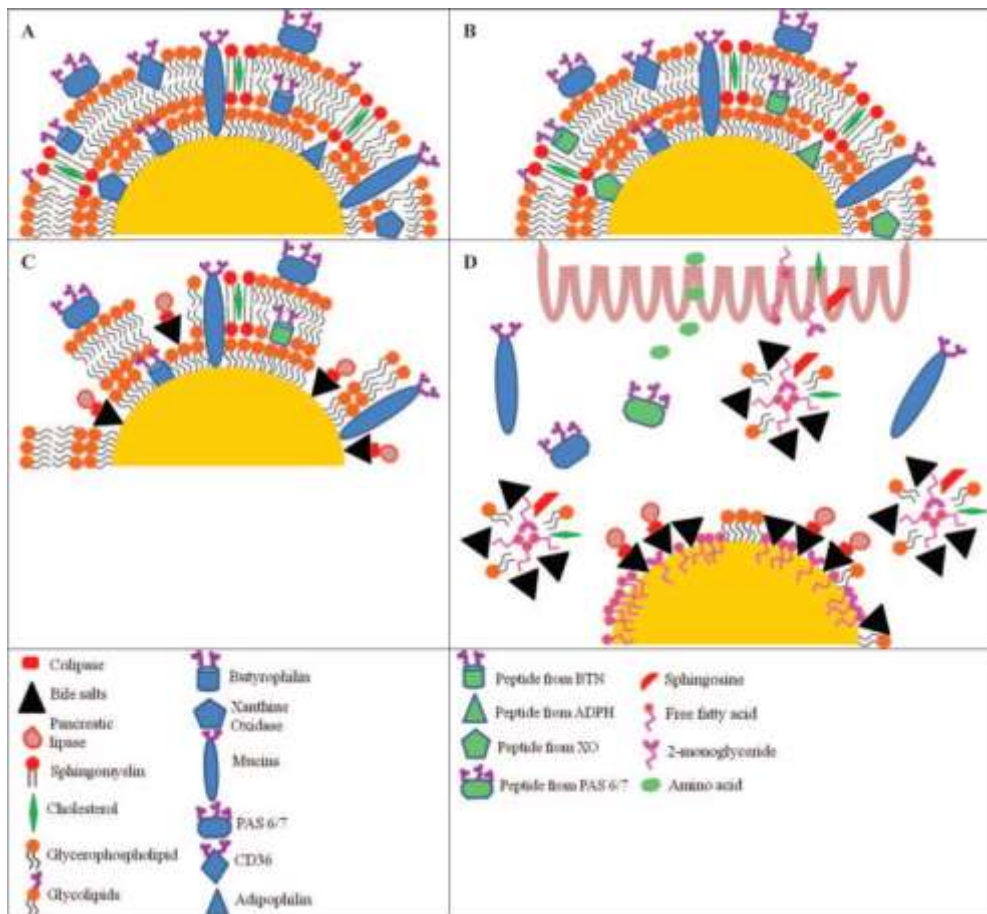


Рис. 2.2. Схематична діаграма ілюстрації змін оболонки жирової кульки під час перетравлення в шлунку і тонкій кишці (Gallier et al., 2012):

А – нативна оболонка жирової кульки. В – жирова кулька в умовах шлунку за рН < 2. Пепсин гідролізує протеїни оболонки жирової кульки у різному ступені, деякі глікопротеїни оболонки є резистентними до протеолізу, отримані пептиди достатньо поверхнево активні, щоб залишатися на межі розділу. С – початок інтестинального перетравлення. Солі жовчних кислот витісняють білки та пептиди і адсорбуються на поверхні розділу. Коліпаза адсорбується на межі, збагаченій солями жовчних кислот, підшлункова ліпаза утворює комплекс з коліпазою. D – трипсин і хімотрипсин гідролізують деякі протеїни і пептиди до амінокислот, які в подальшому всмоктуються через стінку кишечника, а більшість муцинів і частково періодату Шиф 6/7 стійкі до протеолізу. Панкреатична ліпаза гідролізує ядро ТАГ, ліполітичні продукти нагромаджуються на межі розділу фаз жир/вода, а потім розчиняються в змішаних фосфоліпідно-жовчних міцелах для транспортування через стінку кишечника. Подібним чином транспортуються молекули холестеролу.

Останнім часом вважається, що біоактивність екзосом визначається також і їх ліпідними компонентами. Ліпіди, присутні в екзосомах, подібні до тих, що містяться в клітинних мембранах: холестерол, фосфоліпіди та сфінголіпіди. Вони збагачені фосфатидилхоліном, сфінгомієліном і фосфатидилетаноламіном

(Subra et al., 2010). Їх конкретна концентрація та організація у ліпідних областях і рафтах повністю визначені батьківською клітиною (Skotland et al., 2017).

Дослідження, проведені в екзосомах з багатьох типів клітини (В-лімфоцитів, ретикулоцитів, а також тучних та дендритних клітин) людини вказують на те, що фосфоліпіди асиметрично розподілені в бішарі (Skotland et al., 2017). Сфінгомієлін, інші сфінголіпіди та фосфатидилхолін, очевидно, є у зовнішньому шарі, тоді як решта фосфоліпідів – у внутрішньому шарі мембрани. Такий розподіл схильний до модифікації різними білками та ензимами, що може впливати на спорідненість або селективність екзосом (Hankins et al., 2015).

Література до розділу 2

- AbuGhazaleh A. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., & Kalsheur K. F. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 944–953.
- AbuGhazaleh A. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., & Kalsheur K. F. Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma. And milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 3648–3660.
- Ahnadi C. E., Beswick N., Delbecchi I., Kennelly J. J., & Lacasse P. Addition of fish oil to diets for dairy cows. II7 Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *J. Dairy Res.*, 2002. Vol. 69. P. 521–531.
- Allred J. B., & Reilly K. E. Short term regulation of acetyl CoA carboxylase in tissues of higher animals. *Prog. Lipid Res.*, 1997. Vol. 35. P. 371–385.
- Alonso L., Fontecha J., Lozada L., Fraga M. J., & Juarez M. Fatty acid composition of caprine milk: Major, branched-chain, and trans fatty acids. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 878–884.
- Anderson M., & Brooker B. E. Loss of material during isolation of milk-fat globule membrane. *J. Dairy Sci*, 1975. Vol. 58. P. 1442–1448.
- Annison E. F., Linzell J. L., Fazakerley S., & Nichols B. W. The oxidation and utilization of palmitate, stearate, oleate and acetate by the mammary gland of the red goat in relation to their overall metabolism and the role of plasma phospholipids and neutral lipids in milkfat synthesis. *Biochem. J.*, 1967. Vol. 102. P. 637–647.
- Argov N., Wachsmann-Hogiu S., Freeman S. L., Huser T., Le-brilla C. B., & German J. B. Size-dependent lipid content in human milk fat globules. *J. Agric. Food Chem.*, 2008. Vol. 56. P. 7446–7450.

- Argov-Argaman N. Symposium review: Milk fat globule size: Practical implications and metabolic regulation. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 2783–2795.
- Argov-Argaman, N., Mesilati-Stahy R., Magen Y., & Moallem U. Elevated concentrate-to-forage ratio in dairy cow rations is associated with a shift in the diameter of milk fat globules and remodeling of their membranes. *Dairy Sci*, 2014. Vol. 97. P. 6286–6295.
- Arranz E., & Corredig M. Invited review: Milk phospholipid vesicles, their colloidal properties, and potential as delivery vehicles for bioactive molecules 4213. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 4213–4222.
- Assumpcao R. P., Santos F. D., Setta C. L., Barreto G. F., Matta I. E., Estadella D., Azeredo V. B., & Tavares do Carno M. G. Trans-fatty acids maternal diet may impair lipid biosynthesis in mammary gland of lactating rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 2002. Vol. 46. P. 169–175.
- Banks W. Opportunities for varying the composition of cows' milk. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1987. Vol. 40. P. 96–99.
- Banks W., Clapperton J. L., Muir D. D., & Girdler A. K. Whipping properties of cream in relation to milk composition. *J. Dairy Res.*, 1989. Vol. 56. P. 97–105.
- Barbano D. M., Melilli C., Dann H., & Grant R. Infrared milk fatty acid analysis: Experience in the field for farm management. *Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Cornell University, Ithaca, NY, 2017. P. 105–113.
- Barber M. C., Clegg R. A., Travers M. T., & Vernon R. G. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997. Vol. 1347. P. 101.
- Bauman D. E., Mather I. H., Wall R. J., & Lock A. L. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 1235–1243.
- Bauman D. E., Brown R. E., & Davis C. L. Pathways of fatty acid synthesis and reducing equivalent generation in mammary gland of rat, sow, and cow. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1970. Vol. 140. P. 237–244.
- Bauman D. E., & Davis C. L. Biosynthesis of milk fat. Vol. II. New York: Academic Press, 1974. P. 31–75.
- Bauman D. E., & Griinari J M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Ann. Rev. Nutr.*, 2003. Vol. 23. P. 203–227.
- Bauman D. E., & Lock A. L. Conjugated linoleic acid: Biosynthesis and nutritional significance In *Advanced Dairy Chemistry Vol. 2: Lipids*, 3rd ed. Ed by Fox P.F. and McSweeney P.L.H. New York: Springer, 2006. P. 93–136.
- Bauman D. E., & Griinari J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.*, 2003. Vol. 23. P. 203–227.

- Baumgard L. H., Matitashvili E., Corl B. A., Dwyer D. A., & Bauman D. E. trans-10, cis-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2155–2163.
- Bequette B. J., Hanigan M. D., Calder A. G., Reynolds C. K., Lobley G. E., & MacRae* J. C. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when histidine limits milk production. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 765–775.
- Bernard L., Rouel J., Ferlay A., Faulconnier Y., Legrand P., & Chilliard Y. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 1478–1489.
- Bickerstaffe R., & Annison E. F. Triglyceride synthesis in goat and sow mammary tissue. *Int. J. Biochem.*, 1971. Vol. 2. P. 153–162.
- Bilal G., Cue R. I., Mustafa A. F., & Hayes J. F. Genetic parameters of individual fatty acids in milk of Canadian Holsteins *J. Dairy Sci*, 2014. Vol. 97. P. 1150–1156.
- Bitman J., & Wood D. L. Changes in milk-fat phospholipids during lactation. *J. Dairy Sci*, 1990. Vol. 73. P. 1208–1216.
- Bobé G., Hammond E. G., Freeman A. E., Lindberg G. L., & Beitz D. C. Texture of butter from cows with different milk fatty acid compositions. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 3122–3127.
- Bobé G., Minick Bormann J. A., Lindberg G. L., Freeman A. E., & Beitz D. C. Short communication: Estimates of genetic variation of milk fatty acids in US Holstein Cows. *J. Dairy Sci*, 2008. Vol. 91. P. 1209–1213.
- Bouwman A. C., Bovenhuis H., Visker M. H., & van Arendonk J. A. Genome-wide association of milk fatty acids in Dutch dairy cattle. *BMC Genet.*, 2011.
- Brachany E. Y., & Christie W. W. Identification of the saturated oxo fatty acids in cheese. *J. Dairy Res.*, 1992. Vol. 59. P. 57–64.
- Bretillon L., Chardigny J. M., Gregorie S., Berdaux O., & Sebedio J. L. Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities in vitro. *Lipids*, 1999. Vol. 34. P. 965–969.
- Butler G., Stergiadis S., Seal C., Eyre M., & Leifert C. Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J. Dairy Sci*, 2011. Vol. 94. P. 24–36.
- Cant J. P., DePeters E. J., & Baldwin R. L. Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *J. Dairy Sci*, 1993. Vol. 76. P. 2254–2265.

- Cant J. P., & McBride B. W. Mathematical analysis of the relationship between blood flow and uptake of nutrients in the mammary glands of a lactating cow. *J. Dairy Res.*, 1995. Vol. 62. P. 405–422.
- Cant J. P., Trout D. R., Qiao F., & Purdie N. G. Milk synthetic response of the bovine mammary gland to an increase in the local concentration of arterial glucose. *J. Dairy Sci.*, 2002. Vol. 85. P. 494–503.
- Cao X., Kang S., Yang M., Li W., Wu S., Han H., Meng L., Wu R., & Yue X. Quantitative N-glycoproteomics of milk fat globule membrane in human colostrum and mature milk reveals changes in protein glycosylation during lactation. *Food Funct.*, 2018. Vol. 9. P. 1163–1172.
- Cavaletto M., Giuffrida M. G., & Conti A. Milk fat globule membrane components—A proteomic approach. *Bioactive Components of Milk*, 2008. P. 129–141.
- Chen Z. Y., & Nawar W. W. Prooxidation and antioxidative effects of phospholipids in milk fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991. Vol. 68. P. 938–940.
- Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E. G., Luhman C. M., Boylston T. D., Freeman A. E., & Beitz D. C. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. *J. Agric. Food Chem.*, 2004. Vol. 52. P. 3422–3428.
- Cherepanov G. G., Danfaer A., & Cant J. P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cows. *J. Dairy Res.*, 2000. Vol. 67. P. 171–188.
- Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J., & Lamberet G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.*, 2003. Vol. 86. P. 1751–1770.
- Choi Y. J., Kim Y. C., Han Y. B., Park Y., Pariza M. W., & Ntambi J. M. The trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulated stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 1920–1924.
- Christie W. W. The effects of diet and other factors on the lipid composition of ruminant tissues and milk. *Prog. Lipid Res.*, 1979. Vol. 17. P. 245–277.
- Christie W. W., Noble R. C., & Davies C. Phospholipids in milk and dairy products. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1987. Vol. 40. P. 10–12.
- Cohen B. C., Shamay A., & Argov-Argaman N. Regulation of lipid droplet size in mammary epithelial cells by remodeling of membrane lipid composition—A potential mechanism. *PLoS One* 10:e0121645, 2015.

- Cohen B. C., Raz C., Shamay A., & Argov-Argaman N. Lipid droplet fusion in mammary epithelial cells is regulated by phosphatidylethanolamine metabolism. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2017. Vol. 22. P. 235–249.
- Coleman R. A., & Lee D. P. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. *Prog. Lipid Res.*, 2004. Vol. 43. P. 134–176.
- Coleman R. A., Lewin T. M., Van Horn C. G., & Gonzales-Baro M. R. Do long-chain acyl-CoA-synthetases regulate fatty acid entry into synthetic versus degradative pathways? *J. Nutr.*, 2002. Vol. 132. P. 2123–2126.
- Corl B. A., Baumgard L. H., Dwyer D. A., Griinari J. M., Philips B. S., & Bauman D. E. The role of delta(9)-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.*, 2001. Vol. 12. P. 622–630.
- Couvreur S., Hurtaud C., Lopez C., Delaby L., & Peyraud J. L. The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 1956–1969.
- De Peters E. J., German J. B., Taylor S. J., Essex S. T., & Perez-Monti H. Fatty acid and triglyceride composition of milk fat from lactating holstein cows in response to supplemental canola oil. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 929–936.
- Deeth H. C. The role of the phospholipids in the stability of milk fat globules. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1997. Vol. 52. P. 44–46.
- Del Prado M., Villalpando S., Gordilo J., & Hernandez-Montes H. A high dietary lipid intake during pregnancy and lactation enhances mammary gland lipid uptake and lipoprotein lipase activity in rats. *J. Nutr.*, 1999. Vol. 129. P. 1574–1578.
- Dewanckele L., Toral P. G., Vlaeminck B., & Fievez V. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 103:7655–7681.
- Dewettinck K., Rombaut R., Thienpont N., Le T. T., Messens K., & Van Camp. J. Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. *Int. Dairy J.*, 2008. Vol. 18:436–457.
- Dhiman T. R., Hopkins A., & Garg N. Fatty acid composition of dairy foods and their intake in humans. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 485(Abstr.).
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., Galli M. P., Albright K., & Tolosa M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1026–1027.
- Duong S., Strobel N., Buddhadasa S., Auldism M. J., Wales W. J., Moate P. J., Cox G., Orbell J. D., & Cran M. J. Modification of the sterol profile in milk through feeding *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 5933–5944.

- Eckhardt E. R., Wang D. Q., Donovan J. M., & Carey M. C. Dietary sphingomyelin suppresses intestinal cholesterol absorption by decreasing thermodynamic activity of cholesterol monomers. *Gastroenterology*, 2002. Vol. 122. P. 948–956.
- Enjalbert F., Nicot V.-C., Bayourthe C., & Moncoulon R. Duodenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998. Vol. 128. P. 1525–1532.
- Evers J. M., Haverkamp R. G., Holroyd S. E., Jameson G. B., Mackenzie D. D. S., & McCarthy O. J. Heterogeneity of milk fat globule membrane structure and composition as observed using fluorescence microscopy techniques. *Int. Dairy J.*, 2008. Vol. 18. P. 1081–1089.
- Faulkner A., & Pollok H. T. Changes in the concentration of metabolites in the milk from cows fed diets supplemented with soybean oil or fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 1989. Vol. 56. P. 179–183.
- Fei W., Shui G., Zhang Y., Kraemer N., Ferguson C., Kapterian T. S., Lin R. C., Dawes I. W., Brown A. J., Li P., & Huang X. A role for phosphatidic acid in the formation of “supersized” lipid droplets. *PLoS Genet.* 7:e1002201, 2011.
- Feng S., Salter A. M., Parr T., & Garnsworthy P. C. Extraction and quantitative analysis of stearyl-coenzyme A desaturase mRNA from dairy cow milk somatic cells. *J. Dairy Sci.* 2007. Vol. 90. P. 4128–4136.
- Ferreiro T., Gayoso L., & Rodríguez-Otero J. L. Milk phospholipids: Organic milk and milk rich in conjugated linoleic acid compared with conventional milk. *Dairy Sci.* 2015. Vol. 98. P. 9–14.
- Focant M., Mignolet E., Marique M., Clabots F., Breyne T., Dalemans D., & Larondelle Y. The effect of vitamin E supplementation of cow diet containing rapeseed and linseed on the prevention of milk oxidation. *J Dairy Sci.* 1998. Vol. 81. P. 1095–1101.
- Forsberg N. E., Baldwin R. L., & Smith M. S. Roles of glucose and its interactions with acetate in maintenance and biosynthesis in bovine mammary tissue. *J. Dairy Sci.* 1985. Vol. 68. P. 2544–2549.
- Franke F.F., Held H.W., Grund G., Winter S., Freudenstein C., Schmid E., Jarasch E. D., & Keenan T. W. Antibodies to the major insoluble milk fat globule membrane-associated protein: Specific location in apical region of lactating epithelial cells. *J. Cell Biol.*, 1981. Vol. 89. P. 485–494.
- French K. C., Antonyak M. A., & Cerione R. A. Extracellular vesicle docking at the cellular port: Extracellular vesicle binding and uptake. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2017. Vol. 67. P. 48–55.

- Gagliostro G., Cyilliard Y., & Davbicco M. J. Duodenal rapessed oil infusion in early and midlactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 1893–1903.
- Gallier S., Ye A., & Singh H. Structural changes of bovine milk fat globules during in vitro digestion *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95. P. 3579–3592.
- Gallier S., Gragson D., Jimenez-Flores R., & Everett D. Using confocal laser scanning microscopy to probe the milk fat globule membrane and associated proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 2010. Vol. 58. P. 4250–4257.
- Gallier S., Gragson D., Jiménez-Flores R., & Everett D. W. β -Casein-phospholipid monolayers as model systems to understand lipid-protein interactions in the milk fat globule membrane. *Int. Dairy J.*, 2011. Vol. 22. P. 58–65.
- Gallier S., Cui J., Olson T. D., Rutherford S. M., Ye A., Moughan P. J., & Singh H. In vivo digestion of bovine milk fat globules: Effect of processing and interfacial structural changes. I. Gastric digestion. *Food Chem.*, 2013a. Vol. 141. P. 3273–3281.
- Garnsworthy P. C., Feng S., Lock A. L., & Royal M. D. Heritability of milk fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase indices in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 2010. Vol. 93. P. 1743–1748.
- Garton G. A. The composition and biosynthesis of milk lipids. *J. Lipid Res.*, 1963. Vol. 4. P. 237–254.
- Garton G. A., Hovell F. D. D., & Duncan W. R. H. Influence of dietary fatty acids on the fatty acid composition of lamb triglycerides with special reference to the effect of propionate on the presence of branched-chain components. *Br. J. Nutr.*, 1972. Vol. 28. P. 409–416.
- German J. B., Gibson R. A., Krauss R. M., Nestel P., Lamarche B., van Staveren W. A., Steijns J. M., de Groot L. C., Lock A. L., & Destailats F. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur. J. Nutr.*, 2009. Vol. 48. P. 191–203.
- Glascock R. F., Duncombe W. G., & Reimus L. R. Studies on the origin of milk fat. 2. The secretion of dietary long-chain fatty acids in milk by ruminants. *Biochem. J.*, 1956. Vol. 62. P. 535–541.
- Glasser F., Doreau M., Ferlay A., & Chilliard Y. Technical note: Estimation of milk fatty acid yield from milk fat data. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2302–2304.
- Graves E. L. F., Beaulieu A. D., & Drackley J. K. Factors affecting the concentration of sphingomyelin in bovine milk. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 706–715.

- Griinari J. M., Dwyer D. A., Mcguire M. A., Bauman D. E., Palmquist D. L., & Nurmela K. V. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 1251–1261.
- Grisart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M., & Snell R. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense mutation in the bovine *DGAT1* gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.*, 2002. Vol. 12. P. 222–231.
- Gross D. A., Zhan C., & Silver D. L. Direct binding of triglyceride to fat storage-inducing transmembrane proteins 1 and 2 is important for lipid droplet formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011. Vol. 108. P. 19581–19586.
- Grummer R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 3244–3257.
- Grummer R. R., Maurer S. A., Stieve D. E. & Dentine M. R. Assesment of lipoprotein activators of skim milk lipoprotein lipase and the relationship between lipoprotein lipase activity and milk fat synthesis. *J. Dairy Sci*, 1989. Vol. 72. P. 1451–1458.
- Guesnet P., Antoine J. M., Rochette de Lempdes J. B., Galent A., & Durand G. Polyunsaturated fatty acid composition of human milk in France: Change during the course of lactation and regional differences. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1993. Vol. 47. P. 700–710.
- Guibault G. G., Hock B., & Shmidt R. A piezoelectric immunobiosensors in drinking water. *Biosens. Bioelectronics*, 1992. Vol. 7. P. 411–419.
- Guinard J., & Ralguin H. Effects of graded amounts of duodenal infusion of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1995. Vol. 78. P. 2196–2207.
- Guo J., Astrup A., Lovegrove J. A., Gijbbers L., Givens D. I., & Soedamah A. S. Milk and dairy consumption and risk of cardiovascular diseases and all-cause mortality: Dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur. J. Epidemiol.*, 2017. Vol. 32. P. 269–287.
- Guyomarc'h F., Zou S., Chen M. H., Milhiet P. E., Godefroy C., Vie V., & Lopez C. Milk sphingomyelin domains in biomimetic membranes and the role of cholesterol: Morphology and nanomechanical properties investigated using AFM and force spectroscopy. *Langmuir*, 2014. Vol. 30. P. 6516–6524.
- Ha J. K., & Lindsay R. C. Method for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty acids in cheese and milk fat. *J. Dairy Sci*, 1990. Vol. 73. P. 1988–1999.

- Ha Y. L., Grimm N. K., & Pariza M. W. Anticancerogens from fried ground beef: heat altered derivates of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 1987. Vol. 8. P. 1881–1887.
- Hajri T., & Abumrad N. A. Fatty acid transport across membranes: Relevance to nutrition and metabolic pathology. *Am. Rev. Nutr.*, 2002. Vol. 22. P. 383–415.
- Hammond L. E., Gallagher P. A., Wang S., Hiller S., Kluck-man K. D., Posey-Marcos E. L., Maeda N., & Coleman R. A. Mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase-deficient mice have reduced weight and liver triacylglycerol content and altered glycerolipid fatty acid composition. *Mol. Cell. Biol.*, 2002. Vol. 22. P. 8204–8214.
- Hankins H. M., Baldrige R. D., Xu P., & Graham T. R.. Role of flippases, scramblases and transfer proteins in phosphatidylserine subcellular distribution. *Traffic*, 2015. Vol. 16. P. 35–47.
- Hansen H. O., Grunnet I., & Knudsen J. Triacylglycerol synthesis in goat mammary gland. Factors influencing the esterification of fatty acid synthesized de novo. *Biochem J.*, 1984. Vol. 220. P. 521–527.
- Haque M. E., McIntosh T. J., & Lentz B. R. Influence of lipid composition on physical properties and peg-mediated fusion of curved and uncurved model membrane vesicles: «Nature’s own» fusogenic lipid bilayer. *Biochemistry*, 2001. Vol. 40. P. 4340–4348.
- Harmer W. R., & Wijesundera C. Heat stability of milkfat in relation to vegetable oils. *Austral. J. Dairy Technol.*, 1996. Vol. 51. P. 108–111.
- Harvatine K. J., Boisclair Y. R., & Bauman D. E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal.*, 2009. Vol. 3. P. 40–54.
- Heck J. M., van Valenberg H. J., Dijkstra J., & van Hooijdonk A. C. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *J. Dairy Sci*, 2009. Vol. 92. P. 4745–4755.
- Hedegaard R. V., Kristensen D., Nielsen J. H., Frøst M. B., Østdal H., Hermansen J.E., Kröger-Ohlsen M., & Skibsted L. H. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative change in milk. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 495–504.
- Heid H. W., & Keenan T. W. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur. J. Cell Biol.*, 2005. Vol. 84. P. 245–258.
- Hillbrick G., & Augustin M. A. Milkfat characteristics and functionality: Opportunities for improvement. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2002. Vol. 57. P. 45–51.
- Hulshof P. J. M., van Roekel-Jansen T., van de Bovenkamp P., & West C. E. Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in the Netherlands. *J. Food Compost. Anal.*, 2006. Vol. 19. P. 67–75.

- Hurtaud C., Ralquin H., & Verite R. Effects of graded duodenal infusions of glucose on yield and composition of milk from dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 3239–3247.
- Huth P. J., & Park K. M. Influence of dairy product and milkfat consumption on cardiovascular disease risk: A review of the evidence. *Adv. Nutr.*, 2012. Vol. 3. P. 266–285.
- Holzmüller W., Müller M., Himbert D., & Kulozik U. Impact of cream washing on fat globules and milk fat globule membrane proteins. *Int. Dairy J.*, 2016. Vol. 59. P. 52–61.
- Jahreis G., Fritsche J., Mockel P., Schone F., Moller U., & Steinhart H. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr. Res.*, 1999. Vol. 19. P. 1541–1549.
- Jakobsen J., Saxholt E. Vitamin D metabolites in bovine milk and butter. *J. Food Compost. Anal.*, 2009. Vol. 22. P. 472–478.
- Jayan G. C., & Herbein J. H. Healthier dietary fat using trans-vaccenic acid. *Nutr. Food Sci*, 2000. Vol. 30. P. 304–309.
- Jenkins T. C., & McGuire M. A. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 1302–1310.
- Jensen D. R., Gavigan S., Sawicki V., Witsel D. L., Eckel R. H., & Neville M. C. Regulation of lipoprotein lipase activity and nPNA in the mammary gland of the lactating mouse *Biochem. J.*, 1994. Vol. 298. P. 321–327.
- Jensen R. C., & Newberg D. S. Bovine milk lipids. In *Handbook of Milk Composition* by ed. Jensen R.C. San Diego, 1995. P. 543–575.
- Jensen R. G. Invited review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to december 2000. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 295–350.
- Jensen R. G. & Newberg D. S. Bovine milk lipids. In *Handbook of Milk Composition* ed by Jensen R.G. - San Diego: Academic Press, 1995. P. 543–575.
- Jensen R. G., Ferris A. M., & Lammi-Keefe C. J. The composition of milk fat. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 3228–3243.
- Jimenez-Flores R. Trends in research for alternate uses of milk fat. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 2644–2650.
- Jing L., Argov-Argaman N., Angrek J., Boeren S., van Hooijdonk T., Vervoort J., & Hettinga K. A. The protein and lipid composition of the membrane of milk fat globules depends on their size 4726. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99. P. 4726–4738.

- Johnson K. A., Kincaid R. L., Westberg H. H., Gaskins C. T., Lamb B. K., & Cronrath J. D. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 1509–1515.
- Jones E. L., Shingfield K. J., Kohen C., Jones A. K., Lupoli B., Grandison A. S., Beever D. E., Williams C. M., Calder P. C., & Yaqoob P. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 2923–2937.
- Kanno C. Secretory membranes of the lactating mammary gland. *Protoplasma*, 1990. Vol. 159. P. 184–208.
- Kay J. K., Mackle T. R., Bauman D. E., Thomson N. A., & Baumgard L. H. Effects of a supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on bioenergetic and milk production parameters in grazing dairy cows offered ad libitum or restricted pasture. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 721–730.
- Kaylegian K. E., & Lindsay R. C. Milk fat usage and modification. In *Handbook of Milkfat Fractionation Technology and Application*. Champaign, 1995. P. 1–18.
- Keenan T. W., & Dylewski D. P. Intracellular origin of milk lipid globules and the nature and structure of the milk lipid globule membrane. In *Advanced Dairy Chemistry. 2: Lipids*. Ed by Fox P.F. 2nd edn. London: Chapman and Hall, 1995. P. 89–130.
- Keenan T. W., & Mather I. H. Intracellular origin of milk fat globules and the nature of the milk fat globule membrane. In *Advanced Dairy Chemistry Vol. 2: Lipids*, 3rd ed. Ed by Fox P.F. and McSweeney P.L.H. New York: Springer, 2006. P. 137–171.
- Keenan T. W., & Patton S. The milk fat globule membrane. In *Handbook of Milk Composition* by ed. Jensen R.G. San Diego, 1995. P. 5–49.
- Keenan T. W., Valivullah H. M., & Dunlevy J. T. Isolation of plasma membranes from mammary gland by two phase polymer partitioning. *Anal. Biochem.*, 1989. Vol. 177. P. 194–198.
- Kelly M. L., Kolver E. S., Bauman D. E., Van Amburgh M. E., & Muller L. D. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 1630–1636.
- Keon B. H., Ankrapp D. P., & Keenan T. W. Cytosolic lipoprotein particles from milk-secreting cells contain fatty acid synthase and interact with endoplasmic reticulum // *Biochim. Biophys. Acta*, 1994. Vol. 1215. P. 327–336.
- Kintner J. A., & Day E. A. Major free fatty acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 1965. Vol. 48. P. 1575–1581.

- Knudsen J., Clark S., & Dils R. Acyl-CoA hydrolase(s) in rabbit mammary gland which control the chain length of fatty acids synthesized. *Biochem. Biophys., Res. Com.* 1975. Vol. 65. P. 921–926.
- Knudsen J., Neegaard T. B. F., Gaigg B., Jensen M. V., & Hansen J. K. Role of acyl-CoA binding protein in acyl-CoA metabolism and acyl-CoA-mediated cell signaling. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 294S–298S.
- Korn E.D. The lipoprotein lipase of cow's milk. *J. Lipid Res.*, 1962. Vol. 3. P. 246–249.
- Kralj M., & Pipan N. The role of exocytosis in the apocrine secretion of milk lipid globules in mouse mammary gland during lactogenesis. *Biol. Cell.*, 1992. Vol. 75. P. 211–216.
- Kris-Etherton P. M., & Yu S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: Human studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997. Vol. 65 (Suppl). P. 1628S–1644S.
- Kritchevsky D. Effects of triglyceride structure on lipid metabolism. *Nutr. Rev.*, 1988. Vol. 46. P. 177–181.
- Lange, Y., & T. L. Steck. Cholesterol homeostasis and the escape tendency (activity) of plasma membrane cholesterol. *Prog. Lipid Res.*, 2008. Vol. 47:319–332.
- Larsen M. K., K. K. Andersen, N. Kaufmann, & L. Wiking Seasonal variation in the composition and melting behavior of milk fat. *J. Dairy Sci*, 2014. Vol. 97. P. 4703–4712.
- Lashkari S., Moller J. W., Jensen S. K., Hellgren L. I., Sørensen M. T., Theil P. K., & Sejrsen K. Fatty acid profile of phospholipids and sphingomyelin in milk and regulation of sphingomyelin synthesis of mammary glands in cows receiving increasing levels of crushed sunflower seeds. *J. Dairy Sci*, 2020. Vol. 103. P. 2255–2263.
- LeDoux M., Rouzeau A., Bas P., & Sauvant D. Occurrence of trans-C18:1 fatty acid isomers in goat milk: Effect of two dietary regimens. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 190–197.
- Liao Y., Alvarado R., Phinney B., & Lönnerdal B. Proteomic characterization of human milk fat globule membrane proteins during a 12 month lactation period. *J. Proteome Res.*, 2011. Vol. 10. P. 3530–3541.
- Lopez C. Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*, 2011. Vol. 16. P. 391–404.

- Lopez C., Cheng K., & Perez J. Thermotropic phase behavior of milk sphingomyelin and role of cholesterol in the formation of the liquid ordered phase examined using SR-XRD and DSC. *Chem. Phys. Lipids*, 2018. Vol. 215. P. 46–55.
- Lopez C., Blot M., Briard-Bion V., Cirie C., & Graulet B. Butter serums and buttermilks as sources of bioactive lipids from the milk fat globule membrane: Differences in their lipid composition and potentialities of cow diet to increase n-3 PUFA. *Food Res. Int.*, 2017. Vol. 100. P. 864–872.
- Lopez C., Madec M., & Jimenez-Flores R. Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. *Food Chem.*, 2010. Vol. 120. P. 22–33.
- Lopez C., Briard-Bion V., Menard O., Rousseau F., Pradel P., & Besle J. M. Phospholipid, sphingolipid, and fatty acid compositions of the milk fat globule membrane are modified by diet. *J. Agric. Food Chem.*, 2008. Vol. 56. P. 5226–5236.
- Lu J., Argov-Argaman N., Angrek J., Boeren S., van Hooijdonk T., Vervoort J., & Hettinga K. A. The protein and lipid composition of the membrane of milk fat globules depends on their size. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99. P. 4726–4738.
- Lucey J. A., Otter D., & Horne D. S. A 100-Year Review: Progress on the chemistry of milk and its components. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 9916–9932.
- MacGibbon A. K. H., & Taylor M. W. Composition and structure of bovine milk lipids. In *Advanced Dairy Chemistry Vol. 2: Lipids*, 3rd ed. Ed by Fox P.F. and McSweeney P.L.H. New York: Springer, 2006. P. 1–42.
- Mackle T. R., Dwyer D. A., Ingvarsten K. L., Chouinard P. Y., Ross D. A., & Bauman D. E. Effects of insulin and postprandial supply of protein on use of amino acids by the mammary gland for milk protein synthesis. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 93–105.
- Mackle T. R., Kay J. K., Auld M. J., McGibbon A. K. H., Philpott B. A., Baumgard L. H., & Bauman D. E. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk fat concentration and yield from pasture-fed dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 644–652.
- Maldonado-Valderrama J., Wilde P., Macierzanka A., & Mackie A. The role of bile salts in digestion. *Adv. Colloid Interface Sci*, 2011. Vol. 165. P. 36–46.
- Martin M-J., Martin-Sosa S., & Hueso P. Bovine milk gangliosides: Changes in ceramide moiety with stage of lactation. *Lipids*, 2001. Vol. 36. P. 291–298.
- Massaro M., Carluccio M. A., & DeCaterina R. Direct vascular antiatherogenic effects of oleic acid: a clue to the cardioprotective effects of the Mediterranean diet. *Cardiologia*, 1999. Vol. 44. P. 507–513.

- Mather I. H. Proteins of the milk-fat-globule membrane as markers of mammary epithelial cells and apical plasma membrane. In *The Mammary Gland. Development, Regulation and Function*. Ed. by Neville M.C., Daniel C.W. New York: Plenum Press, 1987. P. 217–267.
- Mather I. H., & Keenan T. W. Origin and secretion of milk lipids. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 1998. Vol. 3. P. 259–273.
- Mather I. H. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 203–247.
- Maxin G., Glasser F., Hurtaud C., Peyraud J. L., & Rulquin H. Combined effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid, propionate, and acetate on milk fat yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2011. Vol. 94. P. 2051–2059.
- McCarthy M. M., Overton T. R., Mechor G. D., Bauman D. E., Jenkins T. C., & Nydam D. V. Short communication: Field study to investigate the associations between herd-level risk factors for milk fat depression and bulk tank milk fat percent in dairy herds feeding monensin. *J. Dairy Sci*, 2018. Vol. 101. P. 3118–3125.
- McDonald T. M., & Kinsella J. E. Stearyl-CoA desaturase of bovine mammary microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1973. Vol. 156. P. 377–390.
- Mensink R. P., Zock P. L., Kester A. D., & Katan M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003. Vol. 77. P. 1146–1155.
- Merrill A. H. De novo sphingolipid biosynthesis: A necessary, but dangerous, pathway. *J. Biol. Chem.*, 2002. Vol. 277. P. 25843–25846.
- Mesilati-Stahy R., Malka H., & Argov-Argaman N. Association of plasma insulin concentration to fatty acid distribution between milk fat and membrane synthesis. *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95. P. 1767–1775.
- Mesilati-Stahy R., Mida K., & Argov-Argaman N. Size-dependent lipid content of bovine milk fat globule and membrane phospholipids. *J. Agric. Food Chem.*, 2011. Vol. 59. P. 7427–7435.
- Michalski M. C., Briard V., & Juaneda P. CLA profile in native fat globules of different sizes selected from raw milk. *Int. Dairy J.*, 2005a. Vol. 15. P. 1089–1094.
- Miller P. S., Reis B. L., Calvett C. C., DePeters E. J., & Baldwin R. L. Patterns of nutrient uptake by the mammary glands of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 3791–3799.

- Moate P. J., Chalupa W., Boston R. C., & Lean I. J. Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 4730–4739.
- Molkentin J., & Precht D. The influence of autoxidation on milk fat composition. *Kieler Milchwirtschaft. Berichte*, 1993. Vol. 45. P. 373–383.
- Moore J. H., & Christie W. W. Lipid metabolism in the mammary gland of ruminant animals. *Prog. Lipid Res.*, 1979. Vol. 17. P. 347–395.
- Morrissey P. A., & Hill T. R. Fat-soluble vitamins and vitamin C in milk and milk products. *Advanced dairy chemistry*, 2009. Vol. 3. P. 527–572.
- Mottram H. R., & Evershed R. P. Elucidation of the composition of bovine milk fat triacylglycerols using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 2001. Vol. 926. P. 239–253.
- Nafikov R. A., Schoonmaker J. P., Korn K. T., Noack K., Garrick D. J., Koehler K. J., Minick-Bormann J., Reecy J. M., Spurlock D. E., & Beitz D. C. Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1) polymorphism and milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 2605–2616.
- Neville M. C., & Picciano M. F. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Annu Rev Nutr.*, 1997. Vol. 17. P. 159–83.
- Ntambi J. M., & Miyazaki M. Regulation of stearoyl-CoA desaturase and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.*, 2004. 43. P. 91-104.
- O'Donnell A. M., Spatny K. P., Vicini J. L., & Bauman D. E. Survey of the fatty acid composition of retail milk differing in label claims based on production management practices. *J. Dairy Sci*, 2010. Vol. 93. P. 1918–1925.
- O'Donnell-Megaró A. M., Barbano D. M., & Bauman D. E. Survey of the fatty acid composition of retail milk in the United States including regional and seasonal variations. *J. Dairy Sci*. 2011. Vol. 94. P. 59–6.
- Olofsson S. O., & Borén J. Apolipoprotein B secretory regulation by degradation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2012. Vol. 32. P. 1334–1338.
- Ortega-Anaya J., & Jiménez-Flores R. *Symposium review: The relevance of bovine milk phospholipids in human nutrition—Evidence of the effect on infant gut and brain development*. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 2738–2748.
- Ozols J. Degradation of hepatic stearoyl CoA Δ^9 -desaturase. *Mol. Biol. Cell.*, 1997. Vol. 8. P. 2281–2290.
- Pagac M., Cooper D. E., Qi Y., Lukmantara I. E., Mak H. Y., Wu Z., Tian Y., Liu Z., Lei M., Du X., & Ferguson C. SEIPIN regulates lipid droplet expansion and

- adipocyte development by modulating the activity of glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Cell Reports*, 2016. Vol. 17. P. 1546–1559.
- Palmquist D. L. Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids*. Springer, 2006. P. 43–92.
- Palmquist D. L. & Jenkins T.C. A 100-year review: Fat feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 10061–10077.
- Palmquist D. L. Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon / In *Advanced of Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids*, 3rd ed. Ed by Fox P.F. and McSweeney P.L.H. New York: Springer, 2006. P. 43–91.
- Palmquist D. L., & Jenkins T. C. Fat in lactation rations for dairy: A review. *J. Dairy Sci*, 1980. Vol. 63. P. 1–14.
- Palmquist D.L., & Mattos W. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (I-Carbon-14) linoleic acid in lactating cows. *J. Dairy Sci*, 1978. Vol. 61. P. 561–565.
- Palmquist D. L., & Schanbacher F. L. Dietary fat composition influences fatty acid composition of milk fat globule membrane in lactating cows. *Lipids*, 1991. Vol. 26. P. 718–722.
- Palmquist, D. L., Beaulieu A. D., & Barbano D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci*, 1993. Vol. 76. P. 1753–1771.
- Palmquist D. L., & Conrad H. R. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. *J. Dairy Sci*, 1971. Vol. 54. P. 1025–1033.
- Park Y., Storkson J. M., Ntambi J. M., Cook M. E., Sih C. J., & Pariza M. W. Inhibition of hepatic stearyl-CoA desaturase activity by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000. Vol. 1486. P. 285–292.
- Parks O. W., Allen C., & Cornell D. G. Observations on Free Fatty Acids of Skim Milk. *Journal of Dairy Science*, 1977. Vol. 60 (1). P. 24–28.
- Parodi P. W. Conjugated octadecadienoic acids in milk fat. *J. Dairy Sci*, 1977. Vol. 60. P. 1150–1153.
- Parodi P. W. Positional distribution of fatty acids in triglycerides from milk of several species of mammals. *Lipids*, 1982. Vol. 17. P. 437–442.
- Parodi P. W. Positional distribution of fatty acids in the triglyceride classes of milk fat. *J. Dairy Res.*, 1982. Vol. 49. P. 73–81.
- Parodi P. W. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci*, 1977. Vol. 60. P. 1550–1553.
- Parodi P. W. Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? *Int. Dairy J.*, 2009. Vol. 19. P. 345–361.

- Patton S., & Jensen R. G. Lipid metabolism and membrane functions of the mammary gland. *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, 1975. Vol. 14. P. 163–277.
- Patton S., & Keenan T. W. The milk fat globule membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, 1975. Vol. 415. P. 273–309.
- Pereira L., Girardi J. P., & Bakovic M. Forms, crosstalks, and the role of phospholipid biosynthesis in autophagy. *Int. J. Cell Biol.*, 2012.
- Piperova L. S., Teter B. B., Bruckental I., Sampugna J., Mils S. E., Yurawech M. P., Fritsche J., Ku K., & Erdman R. A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 2568–2574.
- Popjak G., French T. H., & Folley S. J. Utilization of acetate for milk-fat synthesis in the lactating goat. *Biochem. J.*, 1951. Vol. 48. P. 411–416.
- Precht D., & Molkentin J. C18:1, C18:2 and C18:3 trans and cis fatty acid isomers including conjugated cis Δ 9, trans Δ 11 linoleic acid (CLA) as well as total fat composition of German human milk lipids. *Nahrung*, 1999. Vol. 43. P. 233–244.
- Precht D., & Molkentin J. Rapid analysis of the trans-octadecenoic acid in milk fat. *Int. Dairy J.*, 1996. Vol. 6. P. 791–809.
- Precht D., & Molkentin J. Trans-geometrical and positional isomers of linoleic acid including conjugated linoleic acid (CLA) in German milk and vegetable fats. *Fett/Lipid*, 1997. Vol. 99. P. 319–326.
- Pullen D. L., Palmquist D. L., & Emery R. S. Effect of days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *J. Dairy Sci*, 1989. Vol. 72. P. 49–58.
- Purdie N. G., Trout D. R., Poppi D. P., & Cant J. P. Milk synthetic response of the bovine mammary gland to an increase in the local concentration of amino acids and acetate. *J. Dairy Sci*, 2008. Vol. 91. P. 218–228.
- Raclot T., & Oudart H. Selectivity of fatty acids on lipid metabolism and gene expression. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999. Vol. 58. P. 633–646.
- Radegran G., & Hellsten Y. Adenosine and nitric oxide in exercise-induced human skeletal muscle vasodilatation. *Acta Physiol. Scand.*, 2000. Vol. 168. P. 575–591.
- Rani P., Yenuganti V. R., Shandilya S., Onteru S. K., & D. Singh. miRNAs: The hidden bioactive component of milk. *Trends Food Sci. Technol.*, 2017. Vol. 65. P. 94–102.
- Rao D. R., Hawkins G. E., & Smith R. C. Effect of glucose and insulin on lipoprotein lipase activity in adipose tissues and milk. *J. Dairy Sci*, 1973. Vol. 56. P. 1415–1419.

- Redgrave T. G., Kodali D. R., & Small D. M. The effect of triacyl-sn-glycerol structure on the metabolism of chylomicrons and triacylglycerol-rich emulsion in the rat. *J. Biol. Chem.*, 1988. Vol. 263. P. 5118–5123.
- Rico D. E., & Harvatine K. J. Induction of and recovery from milk fat depression occurs progressively in dairy cows switched between diets that differ in fiber and oil concentration. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 6621–6630.
- Romo G. A., Erdman R. A., Teter B. B., Sampugnan J., & Casper D. P. Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with [cis or trans fatty acids. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2609–2619.
- Rueda R., Maldonado J., Narbano E., & Gil A. Neonatal dietary gangliosides. *Early Hum. Dev.*, 1998. P. S135–S147.
- Salfer I. J., Dechow C. D., & Harvatine K. J. Annual rhythms of milk and milk fat and protein production in dairy cattle in the United States *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 742.
- Schmelz E. M., Sullards M. C., Dillehay D. L., & Merrill A. H. Jr. Colonic cell proliferation and aberrant crypt foci formation are inhibited by dairy glycosphingolipids in 1,2-dimethylhydrazine-treated CF-1 mice. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 522–527.
- Selner D. R., & Schultz L. H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated oil to lactating cows // *J. Dairy Sci*, 1980. Vol. 63. P. 1235–1241.
- Shere R G., Herzig K.-H., Leppäluoto J. Invited review: Milk fat globule membrane - A possible panacea for neurodevelopment, infections, cardiometabolic diseases, and frailty. *J. Dairy Sci*, 2021. Vol. 104. P. 7345–7363.
- Shingfield K. J., Ahvenjarvi S., Toivonen V., Arola A., Nurmela K. V. V., Huhtanen P., & Griinari J. M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci*, 2003. Vol. 77. P. 165–179.
- Singh H. The milk fat globule membrane—A biophysical system for food applications. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*, 2006. Vol. 11. P. 154–163
- Singh H., & Gallier S. Nature's complex emulsion: The fat globules of milk. *Food Hydrocolloids*, 2017. Vol. 68. P. 81–89.
- Skotland T., Sandvig K., & Llorente A. Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward. *Prog. Lipid Res.*, 2017. Vol. 66. P. 30–41.
- Slotte J. P. Sphingomyelin-cholesterol interaction in biological and model membranes. *Chem. Phys. Lipids*, 1999. Vol. 102. P. 13–27.
- Small D.M. The effects of glyceride structure on absorption and metabolism. – *Annu. Rev. Nutr.*, 1991. Vol. 11. P. 413–134.

- Smet K., Coudijzer K., Fredrick E., Campeneere S. De, Block J. De, Wouters J., Raes K., & Dewettinck K. Crystallization behavior of milk fat obtained from linseed-fed cows. *J. Dairy Sci*, 2010. Vol. 93. P. 495–505.
- Smith S. The animal fatty acid synthase: jne gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J.*, 1994. Vol. 8. P. 1248–1259.
- Smith S., Witkowski A., & Joshi A.K. Structural and functional organisation of the animal fatty acid syntahse. *Prog. Lipid Res.*, 2003. Vol. 42. P. 289–317.
- Smith S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *Faseb J.*, 1994. Vol. 8. P. 1248–59.
- Spanos G. A., Shwartz S. J., van Breeman R. B., & Huang C.-H. High-prfaormance liquid chromatography with light-scattering detection and desorption chemical-ionization tandem mass spectrometry of milk fat triacylglycerols. *Lipids*, 1995. Vol. 30. P. 85–90.
- Spitsberg V.L. Invited rewiw: Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 2289–2294.
- Storch J., & Thumser A. E. A. The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000. Vol. 1486. P. 28–44.
- Subra C., Grand D., Laulagnier K., Stella A., Lambeau G., Paillasse M., De P. Medina, B. Monsarrat, B. Perret, S. Silvente-Poirot, M. Poirot, and M. Record. Exosomes account for vesiclemediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins. *J. Lipid Res.*, 2010. Vol. 51. P. 2105–2120.
- Taniguchi M., Mannen H., Oyama K., Shimakura Y., Oka A., Watanbe H., Kojima T., Komatsu M., Harper G. S., & Tsuji S. Differences in stearyl-CoA desaturase mRNA levels between Japanese Black and Holstein cattle. *Livestock Prod. Sci*, 2004. Vol. 87. P. 215–220.
- Teusink B., Voshol P. J., Dahlmans V. E., Rensen P. C., Pijl H., Romijn J. A., & Havekes L. M. Contribution of fatty acids released from lipolysis of plasma triglycerides to total plasma fatty acid flux and tissue-specific fatty acid uptake. *Diabetes*, 2003. Vol. 52. P. 614–620.
- Thiam A. R., Farese Jr. R. V., & Walther T. C. The biophysics and cell biology of lipid droplets. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2013. Vol. 14. P. 775–786.
- Thompson G.E. Prolactin and the onset of mammary extraction of plasma triglycerols during lactogenesis in the goat. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1992. Vol. 102A. P. 665–667.
- Thompson G. E., & Christie W. W. Extraction of plasma triglycerols by the mammary gland of the lactating cow. *J. Dairy Res.*, 1991. Vol. 58. P. 251–255.

- Timmen H., & Patton S. Milk fat globules: Fatty acid composition, size, and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids*, 1988. Vol. 23. P. 685–689.
- Toral P. G., Chilliard Y., Rouel J., Leskinen H., Shingfield K. J., & Bernard L. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 7277–7297.
- Urrutia N. Bomberger R. Matamoros C. & Harvatine K. J. Effect of dietary supplementation of sodium acetate and calcium butyrate on milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 5172–5181.
- Van Aken G.A. & Visser K.A. Firmness and crystallization of milk fat in relation to processing conditions // *J. Dairy Sci.* - 2000. Vol. 83. - P. 1919–1932.
- Van Aken G. A., ten Grotenhuis E., van Langevelde A. J., & Schenk H. Composition and crystallization of milk fat fractions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999. Vol. 76. P. 1331–1323.
- Vanderghem C., Francis F., Danthine S., Deroanne C., Paquot M., De Pauw E., & Blecker C. Study on the susceptibility of the bovine milk fat globule membrane proteins to enzymatic hydrolysis and organization of some of the proteins. *Int. Dairy J.*, 2011. Vol. 21. P. 312–318.
- Veerkamp J. H., Peters R. A., & Maatman R. G. H. J. Structural and functional features of different types of cytoplasmic fatty acid-binding proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1991. Vol. 1081. P. 1–24.
- Wahle K. W. Desaturation of long-chain fatty acids by tissue preparations of the sheep, rat and chicken // *Comp. Biochem. Physiol.* 1974. Vol. B 48. P. 87–105.
- Walstra P. Physical chemistry of milk fat globules. Pages 131–178 in *Advanced Dairy Chemistry: Lipids*. 2nd ed. Vol. 2. P. F. Fox, ed. Chapman and Hall, London, UK, 1995.
- Walther T. C., & Farese R. V. The life of lipid droplets. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009. 1791. P. 459–466.
- Wang W., Allen J. C., & Swaisgood H. E. Binding of vitamin D and cholesterol to β -lactoglobulin. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 1054–1059.
- Ward R. E. Sources and characteristics of milk fat globule membranes. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90 (Suppl.1). P. 429(Abstr.).
- West C. E., Bickerstaffe R., Annison E. F., & Linzell J. L. Studies on the mode of uptake of blood triglycerides by the mammary gland of the lactating goat. The uptake and incorporation into milk fat and mammary lymph of labeled glycerol, fatty acids and triglycerides. *Biochem. J.*, 1972. Vol. 126. P. 477–490.

- Wiking L., Frost M. B., Larsen L. B., & Nielsen J. H. Effects of storage conditions on lipolysis, proteolysis and sensory attributes in high quality raw milk. *Milchwissenschaft*, 2002. P. 190–194.
- Wood H. G., Peeters G. J., Verbeke R., Laurysens M., & Jacobson B. Estimation of the pentose cycle in the perfused cow's udder. *Biochem. J.*, 1965. Vol. 96. P. 607–615.
- Zhang Z., Wang C. X., Li T., Liu Z., & Li L. J. Comparison of ultracentrifugation and density gradient separation methods for isolating Tca8113 human tongue cancer cell line-derived exosomes. *Oncol. Lett.*, 2014. Vol. 8. P. 1701–1706.
- Zempleni J., Aguilar-Lozano A., Sadri M., Sukreet S., Manca S., Wu D., Zhou F., & E. Mutai. Biological activities of extracellular vesicles and their cargos from bovine and human milk in humans and implications for infants. *J. Nutr.* 2017. Vol. 147. P. 3–10.
- Горбатова К. К. Физико-химические и биохимические основы производства молочных продуктов. СПб.: ГИОРД, 2004. 362 с.
- Грачев И. И., Попов С. М., & Скопичев В. Г. Цитофизиология секреции молока. Ленинград: Наука, 1976. 242 с.
- Гуляев-Зайцев С. С. Физико-химические основы производства масла из высокожирных сливок / Под общ. ред. д-ра хим. наук Н. Н. Круглицкого. Москва: Пищ. пром-сть, 1974. 135 с.
- Медведев И. К. Биосинтез основных компонентов молока. В кн. XI съезд Всесоюз. физиол. об-ва. Тез. науч. сообщ. Ленинград, 1970. Т.1. С. 345–348.
- Нечаев А. П., Траубенберг С. Е., Кочеткова А. А. и др. Пищевая химия. СПб.: ГИОРД, 2001. 592 с.
- Тараненко А. Г. Регуляция молокообразования. Ленинград: Агропромиздат, 1987. 237 с.
- Тепел А. Химия и физика молока. М.: Пищевая промышленность, 1979. 623 с.
- Тютюнников Б. Н., Бухштаб З. И., Гладкий Ф. Ф. и др. Химия жиров. М.: Колос, 1992. 448 с.
- Цехмістренко С. І., Кононський О. І. Біохімія молока та молокопродуктів: навч. посібник. Біла Церква, 2014. 168 с.
- Цісарик О.Й., Білик О.Я., Мусій Л.Я., Сливка І.М. Хімія і фізика молока. Львів: Центр навчальної літератури, 2019. 200 с.
- Цісарик О. Й., & Дроник Г. В. Жирнокислотний склад молочного жиру корів. *Біологія тварин*, 2008. Т. 10, № 1–2. С. 84–102.
- Чагаровський О.П., Ткаченко Н.А., Лисогор Т.А. Хімія молочної сировини. Одеса, 2013. 268 с.

Энсер М. Химическое, биохимическое и питательное значение жиров животного происхождения / В кн. Жиры в питании с.-х. животных. М.: Агропромиздат, 1987. 406 с.

РОЗДІЛ 3

ФАКТОРИ ВПЛИВУ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МОЛОЧНИХ ЛІПІДІВ ТА ЙОГО МОДЕЛЮВАННЯ

3.1. Вплив чинників на жирнокислотний склад молочного жиру

Вміст жиру в молоці і його склад залежать, головним чином, від двох процесів – метаболізму ліпідів у рубці і метаболізму ліпідів в молочній залозі. Крім того, здійснює вплив звільнення жирних кислот з жирових депо під час негативного енергетичного балансу в період ранньої лактації, що впливає на кінцеву жирнокислотну композицію молочних ліпідів.

Вміст окремих жирних кислот у складі молочних ліпідів коливається в досить широких межах, що є свідченням впливу багатьох чинників на нього, як фенотипових, так і генотипових. Чинники, які впливають на склад жирних кислот молочних ліпідів, розділяють на біологічні (порода корів, індивідуальні властивості, рівень молочної продуктивності, стадія лактації) та зовнішні – годівельні (частка грубих кормів у раціоні, частка концентратів у раціоні, співвідношення між концентратами і грубими кормами, жирові добавки) і менеджмент (сезон року, тип утримання, умови годівлі) (Hanuš et al., 2018). У кількісному відношенні генетичні чинники відіграють значно меншу роль у впливі на жирнокислотну композицію (біля 20%) порівняно з годівельними чинниками (понад 55%), на частку усіх інших припадає решта (Hanuš et al., 2018).

Склад жирних кислот безпосередньо впливає на біологічну цінність молока, його органолептичні та технологічні властивості, а також на економічну оцінку молока і молочних продуктів. Оскільки у складі молочних ліпідів є жирні кислоти, які проявляють позитивний вплив на здоров'я споживачів, але й є кислоти, з якими пов'язують ризики для здоров'я, тому велике зацікавлення дослідників викликає пошук шляхів можливостей зміни жирнокислотної композиції.

3.1.1. Вплив генетичних чинників

Щодо впливу породи корів на склад жирних кислот молочних ліпідів дані літератури є неоднозначними. ДеПетерс і співавтори вказують, що відмінності у жирнокислотному профілі ліпідів молока корів різних порід (голштинської, бурої швіцької і джерсейської) є незначними (DePeters et al., 1995), що кореспондується із результатами, отриманими Дженсеном, який вважає, що ці відмінності остаточно нівелюються під час перероблення молока (Jensen, 2002).

Однак, Моралес і співавтори встановили, що у молочному жирі корів джерсейської породи частка кислот C4:0-C14:0 і C18:0 є більшою, тоді як C16:1 і C18:1 меншою, порівнюючи з молочним жиром корів голштинської породи (Morales et al., 2000). Цікавим є пояснення такої відмінності, яку автори пов'язують із ефективнішою абсорбцією купруму коровами джерсейської породи (Du et al., 1996). Купрум інгібує вплив на активність стеароїл-CoA десатурази (Thompson et al., 1973). Встановлено, наприклад, що дефіцит купруму в раціоні викликає підвищення концентрації цис-9, транс-11 C18:2 в молоці, як результат десатурації транс-11 C18:1 (Morales et al., 2000).

Інші повідомлення підтверджують те, що у корів джерсейської породи вміст жирних кислот в молочному жирі, які синтезуються *de novo*, є вищим, ніж у корів голштинської породи (Poulsen et al., 2012). Крім того, встановлено, що рівень спадковості для *de novo* синтезованих жирних кислот є значно вищим, ніж для жирних кислот C18, відповідно, генетичний потенціал для зміни вмісту *de novo* синтезованих жирних кислот є значно вищим, ніж для зміни C18 жирних кислот, вміст яких є більш залежним від чинників годівлі (Krag et al., 2013).

В умовах органічних ферм у жирнокислотному складі молока корів симентальської породи значно більший вміст C12, цис-9 C16:1, C18:2, C18:3, цис-9 C20:1, C20:4 n-6, ПНЖК і мононенасичених жирних кислот порівняно з молоком голштино-фризьких корів. Крім того, молоко симентальських корів містить менший вміст C15:0, C18:0, C20:0, C22:0 і цис-9, транс-11 C18:2. Співвідношення поліненасичених/насичених жирних кислот і мононенасичених/насичених жирних кислот та лінолевої/ліноленової кислот є значно вищим у молочному жирі сименталів і відповідно меншим є тромбогенний індекс (Pilarczyk et al., 2015).

Генетичні фактори в межах однієї породи також впливають на жирнокислотну композицію. Дослідження, проведені на 2001 коровах-первістках данської голштино-фризької породи в зимовий і літній періоди для виключення фактору відмінності годівельних раціонів в різні сезони року, вказують на помірний і середній рівень спадковості (0,33-0,74) для коротко- і середньоланцюгових жирних кислот і помірний (0,19-0,43) для довголанцюгових в обидва періоди року (Duchemin et al., 2013).

У нещодавно опублікованій роботі приводяться результати досліджень генетичної мінливості щодо основних п'яти груп жирних кислот: коротколанцюгових, середньоланцюгових, довголанцюгових, насичених і ненасичених, проведених на понад 10 тисячах корів голштинської породи першої лактації (Narayana et al., 2017). Отримані результати засвідчують, що

середньодобова спадковість протягом лактації для середньоланцюгової групи жирних кислот була вищою (0,32), ніж для коротколанцюгової (0,24) та довголанцюгової (0,23) груп. Середньодобова спадковість для групи насичених жирних кислот була більшою (0,33), ніж для групи ненасичених жирних кислот (0,21). Розрахункові середньодобові генетичні кореляції були позитивними серед усіх груп жирних кислот і коливались від помірного до високого (0,63-0,96). Генетичні кореляції ілюстрували схожість та відмінності у походженні та структурі груп жирних кислот на основі довжини ланцюга та насиченості. Ці результати дають докази існування генетичних змін у групах жирних кислот та можливості поліпшення профілю жирних кислот за допомогою генетичного відбору.

Важливо відзначити, що коротко- і середньоланцюгові жирні кислоти, які синтезуються в секреторних клітинах молочної залози, проявляють від середнього до високого ступеня спадковість, тоді як вміст довголанцюгових жирних кислот, які є гуморального походження, залежить від годівельних чинників і обміну ліпідів та проявляє низький рівень спадковості (Buitenhuis et al., 2014).

Бастін і співавтори вказують про спадковість для насичених жирних кислот на рівні 0,426, для ненасичених – 0,233, зокрема для мононенасичених – 0,212, для поліненасичених – 0,298. Також відзначено, що із збільшенням ланцюга жирної кислоти рівень спадковості знижується – для коротколанцюгових він становить 0,438, для середньоланцюгових – 0,434, для довголанцюгових – 0,199. Спадковість для окремих жирних кислот знаходиться в межах спадковості відповідних груп (Bastin et al., 2011). Ці результати підтверджують те, що коротколанцюгові жирні кислоти перебувають під більшим генетичним контролем, ніж довголанцюгові.

Важливо підкреслити, що поліненасичені жирні кислоти не синтезуються в жуйних тварин, їх вміст залежить від споживання і процесів біогідрогенування у рубці. Оскільки рівень їх успадкування є більшим, ніж мононенасичених, то можна припустити, що включення ПНЖК у молочні ліпіди є більшою мірою під генетичним контролем, ніж синтез мононенасичених жирних кислот. Вміст цис-9 C18:1 у складі молочного жиру є індикатором мобілізації жирових резервів організму.

Деякі автори вважають, що відмінності в успадкуванні можуть створити можливість для змін жирнокислотної композиції шляхом селекції тварин і якби ці можливості були реалізовані, такі вдосконалені породи представляли б

постійніше і надійніше рішення, ніж зміни у системах тваринництва (Bilal et al., 2014).

Цікаві дослідження нещодавно проведено по ідентифікації геномних регіонів чи окремих генів, пов'язаних із складом жирних кислот, використовуючи загальногеномні дослідження (Genome-wide association study – GWAS) для генетичних порівнянь між італійською голштинською та італійською симентальською породою (Palombo et al., 2018). Авторами встановлено, що не тільки добре відомі гени є пов'язані із якісною характеристикою молочних ліпідів як FASN, SCD та DGAT1. Окрім цих генів встановлено ряд генів-кандидатів, деякі з яких тісно пов'язані із обміном ліпідів. Однак, слід зауважити, що в літературі є відносно мало повідомлень щодо впливу генетичних чинників на жирнокислотну композицію молочних ліпідів.

3.1.2. Вплив стадії лактації

Другим фактором впливу на жирнокислотну композицію молочних ліпідів є стадія лактації. Молоко від корів в період ранньої лактації містить менше кислот C4-C12, порівнюючи з серединою лактації і пізньою лактацією (Auld et al., 1998). Вказані відмінності не залежать від сезонних впливів (кормових), а є показником того, що в цей період значна кількість поживних речовин корму використовується для забезпечення енергетичних потреб і спостерігається мобілізація жирних кислот із жирових депо, тобто склад жирних кислот є відображенням енергетичного статусу організму. Звільнення з жирової тканини довгаланцюгових жирних кислот і підвищений рівень НЕЖК викликає гальмування синтезу *de novo* жирних кислот у секреторній тканині молочної залози, оскільки інгібується активність ацетил-СоА карбоксилази, що каталізує синтез малоніл-СоА, проміжної сполуки у синтезі жирних кислот. Синтез C4:0 не інгібується, оскільки він не залежить від ацетил-коензим А карбоксилазного шляху. Інгібування є більш вираженим, чим довший карбоновий ланцюг жирної кислоти. Окреме місце займає C16 жирна кислота, оскільки вона має двояке походження – гуморальне і синтез *de novo*. Із зниженням жирової мобілізації знижується концентрація НЕЖК в плазмі крові, особливо C18:0 і C18:1, а, відповідно, зменшується включення цих кислот у молочні ліпіди. Проявляється строга залежність між енергетичним балансом тварини і синтезом молочного жиру, при негативному енергетичному балансі в ліпіди молока включається значна кількість C18 кислот, які мобілізуються із жирової тканини, а вміст C18:1 + C18:0 кислот у складі молочного жиру може коливатися в межах 15 до 45%. Ці результати підтверджуються й іншими авторами, які показують що на початку

лактаційного періоду (80 днів), коли в організмі тварини спостерігається висока інтенсивність ліполітичних процесів, частка кислот C18:0 і C18:1 у складі молочного жиру є вищою (Bastin et al., 2011). Щодо вмісту цис-9, транс-11 C18:2, то зміни залежно від стадії лактації є незначними (Chilliard et al., 2003). Ненасичені жирні кислоти, особливо мононенасичені, піддаються більшим коливанням, ніж насичені упродовж лактації, а вміст довголанцюгових жирних кислот варіює в ширших межах порівняно з коротколанцюговими і середньоланцюговими.

3.2. Напрями моделювання жирнокислотного складу молочних ліпідів

Актуальним напрямом досліджень в біохімії молока і фізіології лактації є вивчення шляхів моделювання вмісту окремих жирних кислот, які здійснюють негативний вплив на здоров'я людини. Так, кислоти C12:0, C14:0 і C16:0 завдяки впливові на рівень сироваткового холестеролу і ліпопротеїнів дуже низької щільності, можуть сприяти розвитку атеросклерозу і коронарних тромбозів, тоді як високе споживання ненасичених жирних кислот має зворотний ефект (Ulbricht & Southgate, 1991, Mensink et al., 2003; Fernandez & West, 2005). Викликає занепокоєння високе співвідношення насичених жирних кислот до ненасичених у молочному жирі, оскільки існує зв'язок між споживанням насичених жирних кислот і різними біомаркерами ризику виникнення кардіоваскулярних захворювань, зокрема, підвищення кров'яного тиску, інсулінової резистентності, гіперліпідемії, підвищеного рівня ліпопротеїнів низької щільності (Mensink et al., 2003).

Ульбріхом і Соузгейтом було запропоновано індекси, які визначають вплив на здоров'я: атерогенний індекс – сума у % C12:0 + 4×C14:0 + C16:0/n-3 FA + n-6 FA (n-6 C18:1×0,5), що визначає ступінь ризику виникнення кардіоваскулярних захворювань і тромбогенний – сума у % 4C14:0 + C16:0 + C18:0/n-3 FA + n-6 FA (n-6 C18:1×0,5) (Ulbricht & Southgate, 1991). Ці індекси показують, що кислоти C12:0; C14:0; C16:0 є атерогенними, кислоти C14:0; C16:0; C18:0 є тромбогенними, а поліненасичені n-3 і n-6, а також мононенасичені жирні кислоти є антиатерогенними і антитромбогенними. Слід зазначити, що кислота C14:0 є в чотири рази більш атерогенна, а кислота C18:1 має вдвічі менший ефект, ніж поліненасичені жирні кислоти.

На противагу індексам, що вказують про шкідливий вплив, запропоновано «індекс підвищення здоров'я» («health-promoting index»), який визначається відношенням суми у % ненасичених жирних кислот до суми у % C12:0 + 4×C14:0 + C16:0 у жирнокислотній композиції молока (Chen et al., 2004).

Виходячи із визначення вказаних індексів, можна зробити висновок про те, що бажані зміни полягають у частковій заміні кислот C12:0, C14:0, C16:0 в молочному жирі ненасиченими жирними кислотами. Для прикладу, рекомендації Круглого столу з проблем молочного жиру (США, Вісконсин, 1988) пропонують такий склад «ідеального» жиру: не більше як 8% насичених, 82% мононенасичених і 10% ПНЖК (Jenkins & McGuiret, 2006).

Серед ненасичених жирних кислот у складі молочного жиру особлива увага приділяється вакценовій (транс-11 C18:1) і рубцевій (цис-9, транс-11 C18:2), оскільки в останні роки встановлено їхній унікальний вплив на здоров'я людини (про це в окремому розділі). Тому особлива увага науковців сфокусована саме в напрямі підвищення вмісту у складі молочного жиру цих кислот.

Моделюванням жирнокислотної композиції можна добитись покращення функціональних властивостей молочного жиру, тому зусилля багатьох дослідників сконцентровані саме у цьому напрямі. Зокрема, в роботі Боуба і співавторів було показано, що селекція – один із шляхів, завдяки якому можна досягнути оптимізації жирнокислотної композиції, зокрема ними було показано, що за індексом підвищення здоров'я молочного жиру можна розділити корів на дві категорії – із високим і низьким вмістом ненасичених жирних кислот, головним чином, за рахунок олеїнової кислоти, в межах однієї породи (Vobe et al., 2007). При цьому дуже важливо відзначити, що корови із високим індексом підвищення здоров'я в більшій мірі реагують на згодовування ліпідних добавок у вигляді ростованого насіння сої чи риб'ячого жиру. Найуспішнішим шляхом у моделюванні жирнокислотної композиції є саме годівельні чинники.

3.3. Моделювання жирнокислотної композиції за допомогою годівельних факторів

Як було уже зазначено, жирнокислотна композиція молочних ліпідів, великою мірою, залежить від процесів метаболізму ліпідів у рубці. Відповідно, на склад молочного жиру істотно впливають годівельні чинники, зокрема, вид грубих кормів, співвідношення грубих кормів/концентровані корми і рівень крохмалю, кількість і вид ліпідних добавок і взаємодія цих чинників, що здійснює вплив на дуоденальний потік і частку індивідуальних жирних кислот (Bernard et al., 2018).

3.3.1. Жирнокислотний склад залежно від системи годівлі

У метааналізі впливу системи годівлі: пасовищного утримання із часткою концентратів (0-44% від СР корму), стійлового із переважанням частки грубих

кормів (>65% від СР корму) і стійлового з переважанням концентрованих кормів (частка грубих кормів <65% від СР корму) повідомляється про те, що вміст лінолевої, ліноленової і загальних С18 кислот лінійно зростає із збільшенням споживання цих кислот із кормом за всіх годівельних систем (Khiaosaard et al., 2015). Однак, слід відзначити, що ефект був більш вираженим за пасовищної системи утримання, особливо щодо ліноленової кислоти і суми С18 кислот. При цьому, вміст вакценової і рубцевої кислот у складі молочних ліпідів проявляв позитивну кореляцію із сумою лінолевої і ліноленової кислот у складі кормів, також цей ефект більшою мірою проявлявся під час пасовищного утримання.

Аналізуючи склад молочного жиру залежно від системи утримання, встановлено, що частка кислот С10:0, С12:0, С14:0 і С16:0 вірогідно більша, коли застосовують цілорічну стійлову систему, порівнюючи з системою із літнім випасанням. При цьому частка ненасичених жирних кислот, зокрема, С18:2 і С18:3 є вірогідно більшою в молочному жирі корів, які в літній період випасаються, більшою в них є також частка вакценової і рубцевої кислот. Аналізуючи динаміку змін вмісту окремих жирних кислот по місяцях, встановлено, що найбільшим змінам піддається вміст кислот С16:0, цис-С18:1 і транс-11 С18:1 (Jahreis et al., 1996).

Згодовування великих кількостей концентратів (зерна) упродовж стійлового утримання викликає типову реакцію, що проявляється у зростанні надоїв, зменшенні вмісту жиру в молоці та зміні його жирнокислотного складу, а саме, у зменшенні частки кислот С6-С16 і зростанні частки С18 ненасичених кислот. Зниження вмісту молочного жиру пояснювалось кількома теоріями, з яких дві заслуговували на найбільшу довіру: 1) неадекватна продукція ацетату і бутирату для забезпечення синтезу молочного жиру; 2) пропіонат, який утворюється при ферментації зерна стимулює підвищення концентрації інсуліну в крові, що викликає зменшене надходження метаболітів до тканин молочної залози. Однак, останні дослідження переконують у неправомірності жодної теорії (Bauman & Griinari, 2003). Головною причиною спростування цих теорій є фокусування уваги на дослідженнях впливу транс-ізомерів жирних кислот, як головних факторів депресії синтезу молочного жиру. Встановлено, що згодовування великих кількостей концентратів викликає підвищення продукції транс-10 С18 кислот (Jenkins & McGuire, 2006), про що вказувалось в розділі 1.

Випасання корів з точки зору покращення жирнокислотного складу є доброю стратегією, оскільки при цьому збільшується частка бажаних жирних кислот, головним чином цис-9 С18:1, цис-9, транс-11 С18:2 та цис-мононенасичених жирних кислот і зменшується частка насичених жирних

кислот порівняно із згодовування силосу. З консервованих кормів найбільш придатним є силос бобових і змішаний силос порівняно з кукурудзяним силосом (Samková, 2011).

За результатами метааналізу впливу годівельної системи встановлено, що за пасовищного утримання істотно знижується частка середньоланцюгових насичених жирних кислот, зменшується співвідношення між насиченими і ненасиченими жирними кислотами, між кислотами родин n-6 і n-3, що важливо, знижується атерогенний індекс (наприклад, до 2,45 проти 3,82 при згодовуванні кукурудзяного силосу), зростає індекс пластичності молочного жиру (відношення цис-9 C18:1/C16:0) порівняно із використанням трав'яного, кукурудзяного, бобового силосів (Hanuš et al., 2018).

Істотний вплив на склад жирних кислот молочного жиру має спосіб утримання – звичайний чи органічний. Оскільки органічний спосіб передбачає пасовищне утримання, то відповідним чином це впливає на жирнокислотну композицію. У молоці корів органічних стад співвідношення між кислотами родин n-6 і n-3 становить 2,65 проти 4,69 у звичайних стадах (Hanuš et al., 2018).

3.3.2. Вплив вмісту жиру в раціонах на жирнокислотний склад

Значну роль у моделюванні жирнокислотної композиції молока відіграють склад, в тому числі й жирнокислотний, кормів у раціонах годівлі жуйних, зокрема, корів (Jensen, 2002), кіз (Chilliard et al., 2003) і овець (Wocquier & Caja, 2001).

Дослідження, присвячені впливу згодовування жиру на молочну продуктивність і вміст жиру в молоці, розпочались давно – в кінці 19 ст. З того часу і до сьогодні увага багатьох вчених концентрується на дослідженнях впливу жирових добавок у різних формах на склад і властивості молока і молочного жиру, зокрема.

Низькожирні раціони знижують продукцію молока і молочного жиру, а також значно знижують частку і продукцію C18 жирних кислот, при цьому частка C16:0 зростає до 50% від загальної кількості жирних кислот. Зростання вмісту C18 кислот перебуває у прямолінійній залежності від вмісту цих кислот в кормах і виражається залежністю:

$$y = 75 + 0,54x$$

де y – загальна кількість C18 жирних кислот в молочному жирі (г/добу);

x – загальна кількість спожитих C18 жирних кислот (г/добу).

Таким чином, С18 жирні кислоти корму трансформуються в молочні жирні кислоти з ефективністю 54% (Banks et al., 1976). Ці результати узгоджуються із повідомленнями інших дослідників, якими встановлено максимальний перехід, що становить 60% при 80% перетравності кормового жиру (Palmquist, 1991).

3.3.3. Вплив жирнокислотного складу кормових ліпідів на вміст жирних кислот у молочному жирі

Відповідь жирнокислотного складу молочного жиру на згодовування жирових добавок є комплексною, тому що перехід ненасичених жирних кислот в ліпіди молока значно знижується завдяки багатьом факторам, найважливішими з-посеред яких є біогідрогенування рубцевими мікроорганізмами, швидкість інтестинальної абсорбції, конкуренція у поглинанні між жировою тканиною і молочною залозою (Jenkins & McGuire, 2006).

Велике значення має довжина ланцюга жирних кислот кормових ліпідів, крім того, існує й різний рівень чутливості впливу на окремі жирні кислоти молочного жиру залежно від довжини ланцюга, особливо це стосується С16 і С18 жирних кислот, про що вказувалось вище. Вплив на С16 жирні кислоти є менш вираженим, оскільки компенсаторно знижується синтез *de novo* С16:0 при зростанні надходження довголанцюгових жирних кислот із кормом. Так, вміст пальмітинової кислоти підвищується із 45 до 53% при включенні високопальмітинових (68%) добавок, тоді як включення соєвої олії, в якій 90% С18 кислот, підвищує загальну кількість С18 жирних кислот в молочному жирі із 25 до 60%. Продукція С6-С14 жирних кислот в обох випадках знижується, тоді як продукція С16:0 зростає при згодовуванні пальмової олії і знижується при згодовуванні соєвої олії (Banks et al., 1976). Подібно, включення до раціонів кокосової олії, яка багата на С12:0 і С14:0, підвищує рівень цих кислот у складі молочного жиру і знижує частку і продукцію коротколанцюгових жирних кислот і С16:0 (Storry et al., 1971). Частка олеїнової кислоти зростає до 48% в молочному жирі при згодовуванні олеаміду, як рубцево інертного джерела олеїнової кислоти (Jenkins, 1998).

Перехід олеїнової кислоти в молочні ліпіди проявляє лінійну залежність від надходження з нахилом кривої 0,541 при інфузуванні її в сичуг 0-350 г/добу, синтез *de novo* жирних кислот при цьому знижується (LaCount et al., 1994).

Рівень лінолевої кислоти у складі молочних ліпідів також перебуває в лінійній залежності від її рівня в кормах, так перехід лінолевої кислоти із канолової олії в молочні ліпіди становить 0,527 при інфузії 0-90 г/добу (LaCount et al., 1994). Гейджмейстер і співавтори повідомляють про подібний ступінь

переходу лінолевої кислоти в молочні ліпіди – 42-57% від інфузованої її кількості у сичуг (Hagemester et al., 1991).

3.3.4. Вплив різних форм жирових добавок на жирнокислотний склад молочних ліпідів

В літературі нагромаджений великий матеріал щодо впливу жирових добавок в різних формах та в різних дозах на жирнокислотний склад молочних ліпідів.

Жирові добавки, які використовують в годівлі корів, включають традиційні жирові добавки, наприклад, сало, насіння олійних рослин, рибну олію, а також комерційні продукти, такі як кальцієві солі жирних кислот пальмової олії, гранульовані (prilled) жирні кислоти сала, насіння високоолеїнової генетично модифікованої сої, чи нові сорти високоліноленового лляного насіння (Moate et al., 2007; Shingfield et al., 2013; Bernard et al., 2018).

Сало довгий час використовували як джерело енергії в годівлі корів, однак, встановлено, що включення його до раціонів значно знижує вміст жиру в молоці, що супроводжується зростанням концентрації транс-10 C18:1 у складі молочного жиру (Onetti et al., 2002).

Головним джерелом для C20:3 n-6 і C20:4 родини n-6 у складі молочного жиру є C18:2 n-6 жирна кислота, яка надходить із плазми крові і десатурується за дії Δ^5 - і Δ^6 -десатураз (Hermansen et al., 1995; Lour & Herbein, 2003). Згодовування високолінолевих раціонів, порівнюючи із високоолеїновими, сприяє збільшеній екстракції C18:2 n-6 із ТАГ+НЕЖК плазми крові і призводить до зростання концентрації і продукції арахідонової кислоти в молочному жирі (Lour & Herbein, 2003).

Важливі дослідження проведені щодо впливу на жирнокислотний профіль ліпідів молока добавок у кількості 400 г/добу у складі коротко- + середньоланцюгові та довголанцюгових жирних кислот у різних співвідношеннях: 20:80, 40:60 і 60:40 (Sun et al., 2013). Композиція жирних кислот цих добавок була подібною до композиції жирних кислот у молочному жирі. За результатами досліджень зроблено висновок, що збільшення частки коротко- і середньоланцюгових жирних кислот у добавці збільшує синтез молочного жиру та відповідно вміст коротко- і середньоланцюгових жирних кислот у його складі.

Вплив олійних культур

Найбільш поширеним і досліджуваним джерелом жиру, який застосовують для модифікації жирнокислотного складу молочного жиру, є насіння або олія

олійних культур. Форми насіння олійних різні, тому що, звичайно, насіння олійних з метою підвищення їхнього споживання і перетравності піддають обробці – розмеленню, екструдованню, пелетуванню. Однак, це може призвести до зниження захисту від рубцевого біогідрогенування, тому також застосовують різні способи захисту.

Так, згодовування насіння сої протягом 5 тижнів у кількості 15% від СР корму підвищує кількість кислот від С4:0 до С14:0, С18:0, С18:2 і С18:3, тоді як кількість С16:0, транс- С18:1 і загальної С18:1 зменшується (Morales et al., 2000). Слід відзначити, що паралельно із згодовуванням повноскладового насіння сої Моралес і співавтори вивчали вплив купруму на жирнокислотний профіль. Відомо, що купрум є прооксидантом, а оскільки насіння сої сприяє підвищенню поліненасичених жирних кислот, то важливо при цьому проаналізувати антиоксидантні властивості молока і молочних продуктів. Встановлено, що купрум змінює активність Δ^9 -десатурази, і дефіцит купруму сприяє підвищенню концентрації цис-9, транс-11 КЛК, про що вже згадувалось. Одночасно встановлено, що яловичий жир при цьому може містити більше ВК.

Насіння сої може мати різний жирнокислотний профіль. Лопесом і співавторами досліджено вплив згодовування високолінолевого екструдованого соєвого борошна (15% олеїнової і 54% лінолевої кислот); екструдованого високоолеїнового соєвого борошна (73% олеїнової і 8% лінолевої кислот) і повноскладового термічно обробленого насіння сої з вмістом олеїнової кислоти 75,4% і лінолевої – 7%. Концентрація жиру в раціонах була на одному рівні. Основні зміни жирнокислотного профілю стосувались кислот С18:1 і С18:2. У молочному жирі корів, які споживали високолінолеве соєве борошно, встановлено вищий вміст лінолевої кислоти – 3,31 проти 1,43 і 1,83% у двох інших групах, відповідно, натомість менший вміст цис-9 С18:1 – 17,6 проти 20,5%, у них також відзначений вищий рівень α -ліноленової кислоти – 0,62 проти 0,35 і 0,43%. У корів, яким згодовували високолінолеве борошно, зареєстровано вищий вміст транс-10 С18:1 (0,48 проти 0,42 і 0,40%), транс-11 С18:1 (1,34 проти 0,77 і 0,78%) і цис-9, транс-11 С18:2 (0,54 проти 0,36%) відповідно. Жирнокислотний профіль молочного жиру корів, які отримували високолінолеве борошно, відрізнявся вищим вмістом ПНЖК і меншим – мононенасичених, при цьому вміст насичених жирних кислот у всіх групах був однаковим – в межах 68% (Lopes et al., 2017).

Діман і співавтори провели порівняльні дослідження впливу сирого насіння сої (18% заміни зерна), насіння після термічного оброблення (18% заміни зерна) і соєвої олії (3,6% заміни зерна) на жирнокислотний склад ліпідів молока

(тривалість експерименту 5 тижнів) (Dhiman et al., 2000). Ними встановлено, що частка кислот C18:0, C18:1, C18:2 зростала при згодовуванні соєвих ліпідів у всіх формах, порівнюючи з контролем, що суперечить результатам, отриманим Моралесом і співавторами щодо C18:1 (Morales et al., 2000). Середнє значення зростання вказаних жирних кислот в досліджах Дімана і співавторів становило 41, 43 і 65%, відповідно. Причому, зростання частки C18:2 кислоти було відносно значнішим при згодовуванні подрібненого сирого насіння сої і сої після термооброблення порівняно з оліями (соєвою і лляною). Це пояснюється повільнішим вивільненням ліпідів із насіння в рубці і можливістю меншої біогідрогенізації, ніж при згодовуванні вільної олії. Згодовування жиру у складі насіння дає можливість для всмоктування більшої кількості ненасичених жирних кислот у тонкому кишечнику. Відповідно, таке зростання цих кислот в молоці пов'язане із вищим ступенем їх переходу із кормів у молоко. Частка кислоти C18:3 у складі молочних ліпідів є вищою при згодовуванні сирого і обробленого насіння сої порівняно з контролем. Вищий рівень цієї кислоти в молоці може бути пов'язаний із вищим вмістом її у кормах. При згодовуванні вільної олії рівень цієї кислоти в молоці порівняно із згодовуванням насіння є меншим, що може бути пов'язано із вищим ступенем рубцевої біогідрогенізації. При згодовуванні насіння знижується рівень депресивного впливу на вміст жиру у молоці, порівнюючи із згодовуванням олії. Це підтверджується дослідженнями Банкса і співавторів, які відзначають, що надходження соєвої олії 24 рази на добу має менший депресивний ефект на вміст жиру в молоці, ніж надходження цієї олії двічі на добу (Banks et al., 1980). В цьому контексті важливими є давніші дослідження Могамеда і співавторів, які показали, що додавання ПНЖК у вільній формі викликає зниження вмісту жиру в молоці, тоді як додавання їх у виді насіння підтримує або підвищує вміст жиру в молоці (Mohamed et al., 1988). Однак, Чіліард і співавтори вважають (Chilliard et al., 2003), що, навпаки, вільні олії, на відміну від цільного насіння приводять до менш ефективного біогідрогенування і, як результат, до значнішого включення ПНЖК в молочний жир у кіз.

Проведено дослідження впливу ліпідних добавок на вміст непарних та розгалужених жирних кислот у складі молочного жиру, оскільки ліпідні добавки впливають істотно на метаболізм у рубці (Baumann et al., 2016). Жирні кислоти ізо- C14:0 та ізо- C16:0 позитивно корелюють із продукцією ацетату в рубці, тоді як C15:0 і C17:0 негативно корелюють із продукцією ацетату, однак позитивно – з продукцією пропіонату (Fievez et al., 2012). Авторами проведено експеримент, під час якого в рубець інфузували соєву олію або емульсію насичених жирних

кислот, а також в сичуг інфузували емульсію насичених жирних кислот. Кількість доданих ліпідів становила 450 г/добу. Встановлено, що при інфузуванні в рубець соєвої олії вміст непарних жирних кислот знижується порівняно з контролем і з іншими групами, тоді як вміст суми розгалужених жирних кислот майже не зазнає змін. Існують відмінності щодо індивідуальних ізо-, антеізо- і непарних жирних кислот. Наприклад, при інфузуванні соєвої олії порівняно з контролем зменшується як вміст, так і продукція ізо-C13:0, ізо-C15:0, антеізо-C17:0, сума антеізо- форм, аналогічно як C13:0, C15:0, C17:0 і сума непарних жирних кислот. Однак, при цьому зростає вміст ізо-C17:0 і продукція ізо-C14:0. За дії ненасичених жирних кислот знижується вміст *de novo* синтезованих жирних кислот в молочному жирі та зростає вміст C18 кислот, в тому числі C18:0, цис- і транс-C18:1 та цис-9, транс-11 C18:2 порівняно з контролем і тваринами, які отримували насичені жирні кислоти (Baumann et al., 2016). Рубцеві амілолітичні бактерії збагачені антеізо- жирними кислотами, а рубцеві целюлозолітичні бактерії мають вищий вміст ізо- жирних кислот, що створює можливості для прогнозування співвідношення рубцевих бактерій, використовуючи вміст цих форм жирних кислот у складі молочного жиру (Fievez et al., 2012). Інфузування насичених жирних кислот викликало значне підвищення концентрації і продукції антеізо- C13:0, антеізо- C17:0, суми антеізо- форм, ізо- C18:0, цис-9 C17:1, а також суми непарних жирних кислот у складі молочного жиру порівняно із інфузуванням соєвої олії. Оскільки в дослідженні Баумана і співавторів рівень ізо-жирних кислот за дії соєвої олії не зазнав істотних змін порівняно з контролем, то можна припустити, що безперервне інфузування ПНЖК у рубець у вказаній кількості не здійснило негативного впливу на целюлозолітичну мікрофлору рубця, що ще раз доказує про важливість способу введення і дозування ліпідних добавок (Baumann et al., 2016). Однак, зниження вмісту непарних жирних кислот у складі молочного жиру у групі, в якій тваринами інфузували соєву олію, порівняно з контролем, свідчить про певний вплив ПНЖК на рубцеву мікрофлору, які синтезують ці кислоти.

Найпоширенішим є згодовування насіння сої і ріпаку. Так, за результатами метааналізу Хануса і співавторів (Hanus et al., 2018) співвідношення між насиченими і ненасиченими жирними кислотами знижується до 1,79 і 2,24 при згодовуванні насіння ріпаку і насіння сої порівняно із згодовуванням кукурудзяного силосу (3,03), а також при цьому знижується співвідношення між n-6 і n-3 жирними кислотами (до 1,71 і 2,49 проти 6,21, відповідно), зменшується атерогенний індекс (до 2,17 і 2,52 проти 3,82, відповідно) зростає індекс пластичності молочного жиру (до 0,92 і 0,75 проти 0,50, відповідно).

Джонсон і співавтори вивчали вплив включення до раціонів корів насіння бавовни і ріпаку (раціони містили 2,3, 4,0 і 5,6% жиру) (Johnson et al., 2002). Авторами показано, що при включенні насіння олійних у складі молочних ліпідів знижується концентрація C10:0, C12:0, C14:0 і C16:0, а концентрація C18:0, C18:1 і, зокрема, транс- C18:1 зростає.

Згодовування ріпакового насіння (суміш екструдованого борошна і насіння, жир каноли становив 2% від СР корму) здійснює позитивний ефект на жирнокислотний профіль молочних ліпідів, який проявляється у зниженні (статистично вірогідно) вмісту C12:0; C14:0; C16:0 та підвищенні C18:0, значному підвищенні C18:1, тенденції до підвищення C18:2 і C 18:3, однак при цьому зменшився як вміст жиру в молоці, так і його продукція при збільшенні надоїв (Bayourthe et al., 2000).

Багаточисельні літературні джерела повідомляють про те, що згодовування різних видів незахищених ліпідних добавок призводить до зростання частки C18:0 і C18:1 кислот за рахунок C8-C14 кислот у складі молочного жиру (Schmidely & Sauvant, 2001; Chilliard et al., 2003). Це пояснюється біогідрогенуванням у рубці ПНЖК рослинних ліпідів з утворенням C18:0 і C18:1, в тому числі, й транс- ізомерів, які інгібують синтез *de novo* жирних кислот, головним чином C8-C16 (Grummer, 1991). Причому, зниження кількості коротко- і середньоланцюгових жирних кислот залежить від природи ліпідної добавки, воно є вираженішим, коли тваринам згодовують ліпіди, багаті на C18:2 n-6 жирні кислоти, порівнюючи з добавками, багатими на цис-9 C18:1, чи C18:3 n-3 жирні кислоти (Abu Ghazaleh et al., 2003).

Щодо C16:0, то кінцева її кількість, великою мірою, залежить від рівня споживання цієї кислоти. Зниження частки кислот C12-C16 відображається у різкому зниженні атерогенного індексу молочного жиру, зокрема, із 2,92 у контролі до 1,21 при згодовуванні лляної олії, до 1,61 – лляного насіння, до 1,36 – соняшникової олії, до 1,52 – соєвого насіння (Chilliard et al., 2003). При згодовуванні коровам розмеленого насіння льону, яким заміняли 1 кг концентрованих кормів, атерогенний і тромбогенний індекси молочного жиру знизились відповідно на 30 і 16% (Santillo et al., 2016). Подібні дані отримані у інших дослідах: із застосуванням насіння олійних рослин (Dhiman et al., 1999) і рослинних олій (Dhiman et al., 2000).

Велике зацікавлення науковців викликає дослідження можливостей збагачення молочного жиру кислотами родини n-3, у зв'язку з чим вивчається роль цих кислот у складі корму (Moallem, 2018). Якщо жирними кислотами родини n-6 збагачені корми для корів, то споживання кислот родини n-3

обмежується використанням спеціальних добавок насіння чи олії льону (джерело ліноленової кислоти) або рибачого жиру (джерело ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот). При цьому збагачення молочних продуктів кислотами цієї родини має спеціально важливе значення для здоров'я споживачів.

Про зростання жирних кислот родини n-3 у молочному жирі при згодовуванні розмеленого насіння льону повідомляється у ряді робіт (Resende et al., 2015; Nafla et al., 2016; Brito et al., 2017; Benbrook et al., 2018). Зокрема, при згодовуванні насіння сої або насіння льону (у кількості 10% від СР корму) співвідношення між кислотами родини n-6/n-3 зменшується із 3,03 до 1,50 (Isenberg et al., 2019).

Згодовування ріпакового і лляного насіння у співвідношенні 3:1 у кількості 0, 3,5, 6,8 і 10,2% від СР корму коровам данської джерсейської і данської голштинської породи призвело до збільшення вмісту у складі молочного жиру С18 кислот, за винятком С18:2, та зменшення вмісту кислот С6-С16. Збільшене надходження насіння олійних викликало вираженіший ефект, причому відповідь була значнішою у корів голштинської, ніж джерсейської породи (Larsen et al., 2012). При цьому теж зростало співвідношення між ненасиченими і насиченими жирними кислотами, теж більш виражене у корів голштинської породи.

Згодовування екструдованого насіння льону призводить до істотного зменшення частки насичених жирних кислот, зростання мононенасичених та зменшення співвідношення між кислотами родин n-6/n-3 у молочному жирі (Ferlay et al., 2013; Oeffner et al., 2013). Цікаво, що частка ейкозапентаєнової кислоти у складі молочного жиру також зростала при згодовуванні екструдованого лляного насіння в кількості 4% від СР корму – удвічі порівняно з контролем (Moallem, 2009) і у 4,5 рази – при згодовуванні інкапсульованого насіння льону, що забезпечувало споживання 376,2 г/добу жирних кислот родини n-3 (Zachut et al., 2010).

Згодовування рибачого жиру і морських водоростей

Рибачий жир порівняно з рослинними оліями і тваринним жиром містить значно більшу кількість ПНЖК. Зокрема, в дослідженнях Чоуінарда і співавторів був використаний рибачий жир з таким складом, у %: С14:0 – 7,1, С16:0 – 17,3, С16:1 – 10,7, С18:0 – 2,9, С18:1 – 12,8, С18:2 – 0,9, С18:3 – 0,6, С20:5 – 17,%, С22:6 – 23,8% (Chouinard et al., 2001). Додавання рибачого жиру до раціонів лактуючих корів являє значний інтерес, оскільки рибачий жир є потужним джерелом важливих для здоров'я людини кислот родини n-3. Показано, що рибачий жир викликає зміни жирнокислотної композиції молочного жиру, що

проявляються у зниженні частки більшості насичених жирних кислот. На фоні згодовування риб'ячого жиру зростає концентрація С18:1. Слід відзначити, що частка С14:0 змінюється незначно, більш істотно реагує кислота С16:0, її вміст знижується із зростанням дози риб'ячого жиру. На жаль, вміст кислот С20:5 і С20:6 в цих дослідженнях не визначався.

Про зміну у складі молочного жиру кислот С20:5 і С20:6 повідомляється в роботі Шінгфілда і співавторів. Цими авторами показано, що включення до раціонів риб'ячого жиру приводить до зростання вмісту і секреції С20:5 n-3 і С22:6 n-3. Це забезпечується ефективним перенесенням цих кислот із корму в молоко, коефіцієнт ефективності трансферу становить 0,020 і 0,018, відповідно (Shingfield et al., 2006) і знаходить підтвердження в дослідженнях інших авторів (Chilliard et al., 2001; Shingfield et al., 2003). Однак, перенесення довголанцюгових жирних кислот коливається залежно від тривалості згодовування риб'ячого жиру, найвищий показник трансферу встановлено на рівні 0,09 і 0,16 (Cant et al., 1997). В роботі Шінгфілда і співавторів (Shingfield et al., 2006) встановлено, що поглинанням молочною залозою С20:5 n-3 і С22:6 n-3 з перебігом досліду знижується, що може бути наслідком підвищення інтенсивності рубцевого метаболізму цих кислот, або може відображати зсув включення цих кислот із ТАГ крові до фосфоліпідів.

Вищий відсоток трансферу С20:5 і С22:6 у молочні ліпіди встановлено в наступних роботах, він становить 4-5%, як відповідь на згодовування незахищеного риб'ячого жиру риб'ячого жиру (3% від СР) (Kitessa et al., 2001; Chilliard et al., 2001). При цьому зростає концентрація транс С18:1, знижується вміст С18:0, різко (+36%) зростає вміст олеїнової кислоти, очевидно, за рахунок мобілізації ліпідів, оскільки різко знижується споживання сухої речовини корму (на 50%), при цьому також різко знижується вміст і продукція молочного жиру.

В дослідях *in vitro* встановлено, що і тип, і кількість риб'ячого жиру впливають на ефективність біогідрогенування цих кислот (Dohme et al., 2003). Частковий захист завдяки казеїново-формальдегідній оболонці забезпечує уникнення зростання С18:1, однак не транс- С18:1 ізомерів, і зростання С20:5 та С22:6 (відсоток трансферу становить 6-7%) (Kitessa et al., 2001).

При згодовуванні коровам риб'ячого жиру (2% від СР кормів раціону) концентрація усіх коротколанцюгових жирних кислот зменшується, за винятком С4:0, вміст якої залишається постійним та, відповідно, зростає концентрація довголанцюгових жирних кислот (Baer et al., 2001). При цьому знижується вміст С18:0 і цис-9 С18:1 (статистично вірогідно), однак концентрація інших індивідуальних ізомерів С18:1 зростає (також вірогідно). Подібні результати

представлені Франкліном і співавторами (Franklin et al., 1999), які вказують, що включення у раціони морських водоростей знижує концентрацію цис-9 C18:1. Однак, загальний вміст C18:1 не змінюється, що свідчить, що концентрація інших ізомерних форм зростає.

Оскільки в багатьох роботах стверджувалось про позитивний вплив на жирнокислотний склад молочних ліпідів поєднання рослинної олії з риб'ячим жиром при їхньому спільному згодовуванні коровам (Baer et al., 2001; Kalsheur et al., 2004), для продовження таких досліджень Шінгфілд і співавтори провели вивчення впливу соняшникової олії і риб'ячого жиру (Shingfield et al., 2006). Раціони містили 0 (контроль) і 45 г/день/кг СР суміші рибної і соняшникової олії у співвідношенні 1:2. Досліджували композицію ліпідів молока, починаючи з 1-го дня згодовування впродовж 28-денного періоду. Результати проведених експериментів свідчать, що кількість коротко- та середньоланцюгових кислот у складі молочних ліпідів знижується при згодовуванні соняшникової олії і риб'ячого жиру. Зниження концентрації C18:0 в молоці під впливом соняшникової олії і риб'ячого жиру може бути наслідком як ефекту інгібування процесів біогідрогенування C18 ненасичених жирних кислот у рубці ПНЖК риб'ячого жиру (Scollan et al., 2001; Shingfield et al., 2003), так і кислотами C18:2 родини n-6 соняшникової олії (Harfoot et al., 1973). Концентрація C18:0 кислоти у складі молочних ліпідів знижується до 5-го дня згодовування соняшникової олії і риб'ячого жиру, досягаючи рівня 2,4 г/100 г жирних кислот, після чого вона починає підвищуватись. Важливо підкреслити, що динаміка зміни концентрації цієї кислоти відображає динаміку змін інтенсивності синтезу жирних кислот *de novo* у молочній залозі. Однак, при цьому поступове відновлення концентрації C18:0 після 5-го дня згодовування дослідних раціонів супроводжується зниженням вмісту молочного жиру і його продукції. Автори вважають очевидним фактом, що молочна залоза потребує певної кількості кислоти цис-9 C18:1 (Loog et al., 2005), велика частка якої утворюється завдяки дії Δ^9 -стеароїл-CoA десатурази на C18:0, яка поглинається з ліпідів крові (Chilliard et al., 2001). Автори роблять висновок, що зміни вмісту C18:0 в молочному жирі і його секреція під впливом раціонів із включенням соняшникової олії та риб'ячого жиру відображають адаптацію до гострого зниження поступлення C18:0 до молочної залози. Нестача надходження C18:0 для ендогенного синтезу цис-9 C18:1 ініціює зниження синтезу молочних ліпідів з метою забезпечення їх плинності для ефективної секреції.

Включення до раціонів корів морських водоростей також призводить до змін жирнокислотного профілю молочних ліпідів. При згодовуванні 50, 100 або

150 г/добу морських водоростей встановлено, що вміст докозагексаєнової кислоти у молочних ліпідах зростає із зростанням дози водоростей і при найбільшій дозі він на 0,29% більший, ніж у контролі, при цьому також із зростанням дози водоростей знижується частка насичених жирних кислот і співвідношення кислот родин n6/n3 (Till et al., 2019).

3.4. Шляхи підвищення рубцевої кислоти у складі молочного жиру

Різниця у вмісті РК в молоці залежать від індивідуальних особливостей утворення РК і її попередника ВК в рубці, що значною мірою зумовлено годівельними факторами, а також активністю Δ^9 -десатурази в тканині молочної залози (Lock & Garnsworthy, 2002; Peterson et al., 2002; Bauman et al., 2003; Lock et al., 2005).

Стадія лактації, молочна продуктивність, вміст жиру в молоці і продукція молочного жиру не здійснюють впливу на концентрацію цис-9, транс-11 C18:2 або вплив є мінімальним (Kelsey et al., 2003; Lock et al., 2005). Однак, є повідомлення, які вказують на зростання рівня РК в молочному жирі корів із прогресуванням лактаційного періоду при пасовищному утриманні корів (Auldist et al., 1998). Про зростання рівня РК після 16-го тижня лактації повідомляється також в роботі Кей і співавторів (Kay et al., 2004). Правда, зміни, зареєстровані в цих дослідженнях були незначними, вони становили <3 мг/г жирних кислот.

Концентрація РК може бути значно підвищена шляхом селекції, оскільки, існує широкий діапазон індивідуальних коливань її вмісту (Kelly et al., 1998). Було продемонстровано індивідуальні коливання у вмісті РК від 9,9 до 51,7 мг/г молочного жиру в молоці корів тієї самої стадії лактації і, які отримували такі самі раціони в таких самих умовах утримання. Таким чином, є додаткові фактори, що впливають на рівень цис-9, транс-11 C18:2 в молочному жирі, зокрема, індивідуальна генетична регуляція діяльності рубцевої мікрофлори.

Однак, найбільш успішним у підвищенні вмісту РК в молоці є шлях маніпуляцій із годівельними раціонами (Bauman et al., 2007). Дані про діапазон коливань вмісту в молоці для цис-9, транс-11 C18:2 (між мінімальним і максимальним значенням майже у 10 разів) і для транс-11 C18:1 (майже у 20 разів) (Moate et al., 2007) свідчать про можливість істотної зміни їхнього вмісту в молоці.

Дослідження показують, що існує три способи підвищення вмісту РК у молочному жирі: 1) – додавання до раціонів ненасичених жирних кислот у складі ліпідів рослинного походження (Kelly et al., 1998) та риб'ячого жиру (Chouinard

et al., 2001; Baer et al., 2001); 2) – спрямовані зміни рубцевої ферментації (Griinari et al., 1998); 3) – додавання до раціонів синтетичних препаратів КЛК (Loor & Herbein, 1998).

Бауманом і співавторами було проаналізовано отримані літературні дані результатів впливу годівельних факторів на вміст РК в молочному жирі. Автори розділили їх на три групи: а) раціони, що містять субстрати для біосинтезу РК чи ВК в рубці; б) фактори, які впливають на рубцеву екологію і в) поєднання перших і других (Bauman et al., 1999). Ліпідні компоненти, в свою чергу, було класифіковано і вказано їхній вплив на вміст РК в молоці, (* – кількість повідомлень):

- ненасичені жири замість насичених – підвищення (*3);
- рослинні олії, зокрема:
 - рослинні олії – підвищення (*8);
 - доза рослинних олій – підвищення в дозозалежний спосіб (*4);
 - кальцієві солі рослинних олій – підвищення (*1);
- високоолійне рослинне насіння, зокрема:
 - сире цільне насіння – відсутність впливу (*2);
 - оброблене насіння – підвищення (*4);
- високоолійне зерно кукурудзи і силос – мінімальний ефект (*2);
- жирові тваринні субпродукти – мінімальний ефект (*1).

Модифікатори рубцевого середовища здійснюють такі впливи:

- співвідношення в раціоні грубі корми:концентрати – змінний ефект (*4);
- рівень неструктурних вуглеводів в раціоні – мінімальний ефект (*2);
- обмежена годівля – змінний ефект (*3);
- риб'ячий жир/рибне борошно – підвищення (*5);
- морські водорості – підвищення (*1);
- йонофори – змінний ефект (*3);
- буферні агенти в раціоні – незначний ефект при достатній кількості клітковини (*1);
- концентрація купруму в раціоні – при низьких концентраціях – підвищення (*3).

Поєднання добавок до раціонів і факторів, що викликають зміни у рубцевому середовищі, зумовлюють такі впливи:

- пасовищне утримання – підвищення, порівнюючи із згодовуванням консервованих кормів (*7);
- стадія вегетації рослин – збільшення при меншій зрілості рослин (*2).

Добавки синтетичного препарату КЛК зумовлюють підвищення вмісту РК в молоці в дозозалежний спосіб (*9).

Велике значення на вміст РК здійснює спосіб утримання – органічний чи звичайний. За органічного способу вміст РК в молочному жирі становить 0,91, а ВК – 2,74 проти 0,64 і 1,82, відповідно, при звичайному утримання (Hanus et al., 2018).

З-посеред багатьох даних слід загострити увагу на впливі добавок рослинних олій. Келлі і співавтори встановили, що добавки рослинних олій, які багаті на лінолеву кислоту, впливають в найбільшій мірі на збагачення молока РК, при цьому спостерігається чітка залежність між дозою добавки і рівнем РК (Kelly et al., 1998).

Авторами показано, що згодовування соняшnikової олії, багатой на лінолеву кислоту, сприяє підвищенню РК у складі молочного жиру до 24,4 мг/г жиру, тоді як згодовування високоолеїнових і високоліноленових рослинних олій забезпечує підвищення РК до 13,3 і 16,7 мг/г. Це підтверджено в інших роботах (Bauman et al., 2001; Chilliard et al., 2000).

Із 2000 р. напрям досліджень, пов'язаний із підвищенням вмісту РК в молоці, набув активного розвитку. Зокрема, в 2001 р. Чоуінардом і співавторами було проведено комплексні дослідження в шести дослідах щодо впливу ліпідних добавок у різних формах і кількостях (Chouinard et al., 2001). Авторами показано, що кальцієві солі жирних кислот із ріпакової, соєвої і лляної олій в незначній мірі змінили частку загальних С18:2 і С18:3 жирних кислот у складі молочного жиру. Це пояснюється тим, що кальцієві солі у рубці дисоціюють і піддаються біогідрогенізації з утворенням проміжних транс-ізомерних сполук. Однак концентрація транс-11 С18:1 і цис-9, транс-11 С18:2 у складі молочного жиру значно підвищується, зокрема РК (у 4–6 разів), більш істотно при згодовуванні соєвої і лляної олії, тобто олій, що характеризуються вищим вмістом С18:2 і С18:3 кислот. В каноловій олії був високий вміст олеїнової кислоти (58,5%) і помірний вміст лінолевої (23,0%) і ліноленової (7,7%). Соєва олія, навпаки, містила високу концентрацію лінолевої (54,5%), меншу кількість олеїнової (23,3%) і ліноленової (5,9%), тоді як лляна – найвищу кількість ліноленової (51,4%), меншу олеїнової (20,1%) і лінолевої – (18,2%) (Chouinard et al., 2001). Цими самими авторами встановлено, що згодовування насіння, підданого тепловому обробленню, також сприяє підвищенню концентрації РК в молоці. Зокрема, вивчення трьох способів обробки насіння сої – екструзія, мікронізація (грунтується на розпушуванні-розшаруванні і обжарюванні з обертанням) і обжарювання – показало, що спосіб технологічної обробки не здійснює істотного

впливу на величину надоїв чи вміст жиру в молоці. Порівнянням жирнокислотної композиції молочного жиру встановлено, що різні способи обробки насіння викликали мінімальні за величиною відмінності. При цьому вміст РК підвищився в два-три рази, порівнюючи із контролем. Температура екструзії (120, 130 і 140°C) не мала значення для концентрації РК в молоці, вона становила 19,9 проти 4,2 мг/г жиру в контрольній групі (згодовування сирого насіння сої) (Chouinard et al., 2001). За результатами експерименту авторами було зроблено висновок, що ендогенний синтез РК із трансвакценової кислоти, очевидно, є головним джерелом зростання її рівня в молочному жирі (Chouinard et al., 2001).

Про відсутність впливу температури обсмаження соєвого насіння (115, 130 і 145 °C) на вміст РК повідомляється в роботі (Rafiee-Yarandi et al., 2016), при цьому порівняно з контролем у молочному жирі корів, які отримували соєве насіння, вміст РК зріс у 1,5 рази. У попередніх дослідженнях колективом цих авторів було встановлено відсутність відмінностей у вмісті цис-9 C18:1 кислоти, в той же час вміст транс-11 C18:1 кислоти був на 11,4% вищим, коли тваринам згодовували екструдоване насіння сої (Chouinard et al., 1997). Про зростання вмісту РК і ВК в молоці при згодовуванні екструдованого соєвого насіння є повідомлення і в роботах інших авторів (Whitlock et al., 2002). Відомо, що температурна обробка впливає на доступність як протеїну, так і жиру для рубцевої мікрофлори (Reddy et al., 1994).

Згодовування зерна і силосу із високоолійної кукурудзи сприяє підвищенню рівня РК із 2,8 при згодовуванні кормів із традиційних сортів кукурудзи до 4,6 мг/г жирних кислот (Chouinard et al., 2001).

За результатами метааналізу впливу різних годівельних чинників (Hanus et al., 2018) показано, що найвищий вміст РК зареєстровано при пасовищному утриманні (1,30%), при згодовуванні трав'яного, бобового і кукурудзяного силосу він становить 0,54, 0,51 і 0,45%, відповідно, а при згодовуванні насіння сої і ріпаку – 0,66 і 0,75%.

Про зростання концентрації цис-9, транс-11 C18:2 у молочному жирі при згодовуванні розмеленого насіння льону на тлі згодовування великої кількості грубих кормів повідомляється у ряді недавніх робіт (Benbrook et al., 2018; Brito et al., 2017; Resende et al., 2015; Nafla et al., 2016; Isenberg et al., 2018).

При згодовуванні коровам сала і тваринних жирів рівень РК у складі молочного жиру зростає незначно. Для синтезу РК необхідними є попередники – лінолева і ліноленова кислоти, які представлені у тваринних жирах у невеликих кількостях порівняно із рослинними жирами (Chouinard et al., 2001).

Згодовування коровам висушених оливкових вичавок (побічний продукт при виробництві оливкової олії) у кількості 10% від СР корму викликало зростання вмісту цис-9, транс-11 С18:2 до 0,56 проти 0,46% у контролі, а транс-11 С18:1 до 1,1 проти 0,67%. При цьому знизилися атерогенний (3,62 проти 4,36) та тромбогенний (4,07 проти 4,74) індекси молочного жиру (Castellani et al., 2017). Подібні результати отримано при згодовування силосованої оливкової макухи, якою заміняли 10% СР корму раціону. Встановлено, що вміст цис-9, транс-11 С18:2 зріс із 0,59 до 0,65% (Neofytou et al., 2020). При цьому не було зареєстровано міжгрупових відмінностей у експресії 11 ключових генів, які контролюють синтез, поглинання, сатурацію, регуляцію транскрипції жирних кислот.

Для підвищення рівня РК в молочному жирі більш ефективним є риб'ячий жир, ніж рослинні ліпіди, що також продемонстровано колективом авторів на чолі з Чоуінардом. Показано, що згодовування риб'ячого жиру в дозі 200 і 400 мл/день викликає зміни жирнокислотної композиції ліпідів молока, які проявляються у зниженні вмісту більшості насичених жирних кислот, зростанні концентрації С18:1 і, зокрема, транс-11 С18:1. Концентрація РК зросла при згодовуванні риб'ячого жиру приблизно у 4 рази, значно зросла також кількість кислот родини n-3 (Chouinard et al., 2001).

Подібні результати отримані Байєром і співавторами, якими встановлено, що при згодовуванні риб'ячого жиру більше, ніж в чотири рази зростає концентрація ВК і також майже в чотири рази – РК (Baer et al., 2001). Підвищення вмісту РК на 360% досягнуто при згодовуванні коровам у складі раціону 2% від СР риб'ячого жиру (Donovan et al., 2000).

Включення до раціонів корів морських водоростей призводить до зростання вмісту цис-9, транс-11 С18:2. При згодовуванні 0, 50, 100 або 150 г/добу морських водоростей встановлено, що її вміст становить 0,61 0,76 0,86, 0,90% відповідно у складі молочного жиру (Till et al., 2019).

Максимального ефекту для підвищення вмісту РК у молочному жирі можна досягнути при поєднанні риб'ячого жиру із рослинною олією чи насінням олійних, в жирнокислотному складі яких є С18:2 n-6 жирні кислоти (Whitlock et al., 2002; Abu Ghazaleh et al., 2003). Встановлено, що на фоні згодовування соняшникового насіння додавання риб'ячого жиру сприяє підвищенню вказаних жирних кислот, натомість, додавання лляної олії такого ефекту не проявляє (Kalsheur et al., 2004).

Поєднання морських ліпідів і рослинних олій або насіння олійних, багатих на С18:2 родини n-6, для підвищення вмісту в молоці цис-9, транс-11 КЛК,

значною мірою, полягає у змінах рубцевої біогідрогенізації, наслідком чого є збільшене надходження транс-11 C18:1 і ендогенна конверсія її в тканині молочної залози (Shingfield et al., 2006). Це підтверджено результатами досліджень Лі і співавторів, в яких продемонстровано, що докозагексаєнова кислота, якою багата риб'ячий жир, інгібує відновлення транс-11 C18:1 до C18:0 у рубці (Lee et al., 2005).

Олред і співавтори згодовували коровам кальцієві солі пальмової олії і риб'ячого жиру (2,7% від СР) самостійно та в поєднанні із екструдованим повноскладовим насінням сої (5% від СР) або соєвою олією (0,75% від СР) на фоні раціону із співвідношенням грубі корми:концентрати 44:56 (Allred et al., 2006). В молоці корів усіх дослідних групах підвищувався рівень цис-9, транс-11 C18:2, досягаючи максимуму при поєднанні кальцієвих солей та соєвої олії – 1,74 проти 0,56 г/100 г жирних кислот у контролі, більш значне підвищення вмісту ВК, було зареєстровано в групі, де поєднувались три олії – 7,81 г/100 г жирних кислот. Ці дані вказують на те, що наявність лінолевої кислоти в раціоні сприяє утворенню транс-11 ізомерів в рубці. Те, що лінолева кислота є важливішою, порівнюючи із олеїною, для підвищення концентрації ВК в молоці підтверджено також в роботах АбуГазалеха і співавторів (AbuGhazaleh et al., 2003, 2005). При поєднанні трьох олій відзначено значно вищий десатураційний індекс молочного жиру корів дослідних груп. Слід зазначити, що у сирі, виготовленому із молока дослідних корів, вміст рубцевої і вакценової кислот був подібним при збереженні ідентичних міжгрупових тенденцій. При цьому не відзначено відмінностей у молочній продуктивності та вмісті компонентів молока між контрольними тваринами і тваринами, які отримували ліпідні добавки. Автори вважають, що це зумовлено рубцевим захистом ПНЖК риб'ячого жиру і рекомендують застосовувати його в такій формі та у поєднанні з рослинними оліями для збагачення молока РК і ВК, а крім того, ці олії збагачують молоко кислотами родини n-3 (Allred et al., 2006).

Дослідження поєднання впливу соняшникової олії і риб'ячого жиру знайшло продовження в роботі Круз-Хернандеза і співавторів (Cruz-Hernandez et al., 2007). Авторами було використано три дози соняшникової олії – 1,5, 3,0 і 4,5% плюс стабільну дозу риб'ячого жиру – 0,5% від СР кормів раціону із співвідношенням грубі корми:концентрати 50:50. Встановлено, що із зростанням дози соняшникової олії лінійно зростає частка загальних транс- C18:1 кислот і РК у складі молочного жиру. При довготривалому згодовуванні частка транс-11 C18:1 зростає до 38-го дня при найменшій дозі соняшникової олії, тоді як при дозі 3% вона залишається стабільною, а при дозі 4,5% знижується. Показано, що

вміст РК в молочному жирі становить на 10-й день згодовування 0,43, 1,5, 1,9 і 3,4% у контролі і дослідних групах, відповідно, а на 38-й день – 0,42, 2,15, 2,09 і 2,78%. При цьому РК є основним кон'югованим ізомером у всіх групах – від 66 до 85%. Зроблено висновок, що оптимальною є кількість 3% соняшnikової олії у поєднанні з рибною олією за умови високого рівня клітковини в раціоні, при цьому також забезпечується втримування високої концентрації ВК і РК в молоці впродовж довготривалого згодовування цих ліпідних компонентів

Однак, суттєвим недоліком застосування риб'ячого жиру є зниження вмісту і продукції молочного жиру, викликане ПНЖК риб'ячого жиру (Donovan et al., 2000; AbuGhazaleh et al., 2003; Rego et al., 2005).

Слід відзначити, що у роботах, присвячених вивченню впливу згодовування рослинних олій на вміст РК в молоці, є значні варіації у відповідях. Частина цих варіацій зумовлена часом, необхідним для рубцевої адаптації до підвищеного рівня ліпідів в кормах, що приводить до утворення специфічних проміжних сполук біогідрогенування. Наприклад, встановлено, що включення до раціонів рибної і соняшnikової олії в кількості 45 г/день/кг СР корму у співвідношенні 1:2 сприяє підвищенню концентрації цис-9, транс-11 С18:2 в молоці до 5-го дня, після чого концентрація починає знижуватись, однак, до кінця досліду (28 днів) вміст цього ізомеру у складі молочного жиру в 5 разів перевищує його вміст у контролі (Shingfield et al., 2006).

Досліди із додаванням 12 і 18 г/кг СР корму/добу риб'ячого жиру і соняшnikової олії відповідно (Shingfield et al., 2005) показали, що концентрація загальних кон'югованих ізомерів лінолевої кислоти і цис-9, транс-11 КЛК після 13-го дня згодовування становила 3,43 і 3,0 г/100 г жирних кислот, відповідно. Це вказує, що кількості менші 30 г/кг соняшnikової олії можуть забезпечити відповідний рівень збагачення молока КЛК.

Зміни у вмісті РК у складі молочного жиру, що протікають в часі, зареєстровані і в інших роботах. Концентрація цис-9, транс-11 КЛК при згодовуванні раціонів з добавками 5 г рибної і 20 г соєвої олії/кг СР/добу максимально підвищилась до 1,48 г/100 г жирних кислот після 21-го дня згодовування, після 35-го дня настало зниження до 0,78 г/100 г жирних кислот (AbuGhazaleh et al., 2004). На противагу, вміст РК в молоці при згодовуванні висококонцентратних раціонів із добавками 52 г/кг СР/добу соняшnikової олії (Bauman et al., 2000) досягнув піку в період від 7 до 10-го дня згодовування, а після 21-го дня її вміст значно знизився. Зменшення вмісту цис-9, транс-11 С18:2 у складі молочного жиру з перебігом часу експерименту автори пов'язують із зростанням вмісту транс-10 С18:1, що є свідченням зсуву шляхів

біогідрогенування в рубці. Зміни біогідрогенізаційних шляхів викликаються селективним впливом ПНЖК на чисельність і активність специфічних популяцій бактерій.

Тип раціону відіграє важливу роль в утворенні РК. Включення 50 г/кг СР/добу ріпакової олії у концентрати на фоні згодовування трав'яного силосу, показало, що збагачення молока РК з 0,46 до 1,02 г/100 г жирних кислот настає після 7-го дня і триває до 42-го дня (Ryhanen et al., 2005). Згодовування коровам при пасовищному утриманні повноскладового насіння сої і ріпаку викликає довготривале підвищення вмісту РК на 28 і 43%, відповідно (Lawless et al., 1998). Інші повідомлення також вказують, що на раціонах з високим співвідношенням грубих кормів і концентратів – 60:40 (Bell et al., 2006) та 73:27 (Roy et al., 2006), які відповідно містили сафлорову олію (6%) і лляну олію (5%), також втримується впродовж довгого часу підвищений рівень транс-11 С18:1 і цис-9, транс-11 С18:2 у складі молочних ліпідів.

Значна кількість клітковини в раціоні у поєднанні з невеликими дозами олійних, що містять значну кількість ПНЖК, сприяє утворенню в рубці, головним чином, ВК і РК (Kraft et al., 2003; Cruz-Hernandez et al., 2007). Підвищення кількості концентратів у раціоні, що містять легкоперетравлювані вуглеводи і олійні з високим вмістом ПНЖК, викликає зсув в рубцевій популяції бактерій, наслідком чого є продукування значних кількостей транс-10 С18:1 (Piperova et al., 2000; Kim et al., 2002) і транс-7, цис-9 С18:2 (Piperova et al., 2000) і відповідно, менше ВК і РК. Про це повідомляється і в інших роботах (Piperova et al., 2000; Piperova et al., 2002; Lour et al., 2002).

Таким чином, умовами для підтримання на високому рівні впродовж тривалого часу вмісту ВК (на рівні 4%) і РК (на рівні 2%) у складі молочних ліпідів при згодовуванні олій є, по-перше, висока кількість клітковини в раціоні, а по-друге, помірні дози рослинної олії (3%) і риб'ячого жиру (0,5%). Вищі дози рослинної олії (4,5%) сприяють значному підвищенню концентрації транс-10 С18:1 у складі молочного жиру до 5% на 10-й день згодовування і зростанні до 6% до 38-го дня. Підтвердженням цьому служать результати роботи АбуГазалеха і Голмса, в якій впродовж 8-ми тижнів коровам згодовували 100 г рибної і 300 г соняшnikової олії замість 400 г насиченого жиру у контролі. Концентрації РК і ВК досягали максимуму через 1 тиждень у корів дослідної групи і на такому високому рівні втримувались до кінця досліду (AbuGhazaleh et al., 2007).

Однак, слід зазначити, що добавки рослинної олії і риб'ячого жиру викликають зниження вмісту молочного жиру (на 12% при постійній дозі

риб'ячого жиру 0,5% та дозах 1,5% і 3,0% рослинної олії та 15% при дозі 4,5% рослинної олії (Cruz-Hernandez et al., 2007).

У попередні роки в більшості робіт, присвячених збагаченню молока РК, використовувались як ліпідні добавки рослинні олії, багаті на лінолеву кислоту, що цілком закономірно, оскільки саме при її біогідрогенуванні як проміжні сполуки утворюється цис-9, транс-11 C18:2. Однак, при цьому не дооцінювалась роль десатураційних процесів в тканинах молочної залози. Нині багато дослідників як ліпідні добавки використовують високоолеїнові рослинні олії. Так, згодовування коровам повноскладового соєвого і ріпакового насіння у поєднанні з випасанням корів приводить до зростання вмісту РК в молоці на 28 і 43%, відповідно (Lawless et al., 1998).

Таким чином, кількість і вид ліпідних добавок в раціоні, а також композиція основного раціону здійснює значний вплив на зміни вмісту РК в молочному жирі, які повинні досліджуватись тривалий час впродовж згодовування.

Значний вплив на рівень РК в молоці здійснює споживання коровами свіжої трави на пасовищах. Діманом і співавторами показано, що молоко корів, які випасаються, містить 22,7 мг/г молочного жиру цис-9, транс-11 КЛК і це є значно вищим показником, порівнюючи із згодовуванням коровам консервованих грубих кормів (Dhiman et al., 1996). Діманом і співавторами також були проведені досліді, в яких корів було розділено на три групи, які відповідно отримували одну-третю, дві-третьох або повністю добову кількість кормів із пасовища (Dhiman et al., 1999). Авторами встановлено, що вміст РК в молоці корів трьох груп, відповідно, становив 8,9, 14,3 і 22,1 мг/г жирних кислот. Згодом було підтверджено лінійну залежність між рівнем споживання свіжої трави і вмістом РК в молоці (Couvreur et al., 2006).

В молоці корів у країнах, де використовуються пасовищна система утримання – Новій Зеландії, Ірландії, країнах Північної Європи, зареєстровано підвищений рівень РК, порівнюючи з молоком корів у країнах, де віддають перевагу цілорічному стійловому утриманню (Coakley et al., 2007). І щораз більше експериментів підтверджують вищу концентрацію цис-9, транс-11 КЛК в молоці корів, які випасаються, порівняно з молоком корів, яким згодовують консервовані грубі корми (Dewhurst et al., 2006). Крім того, було встановлено, що спостерігається зниження рівня РК в молочному жирі, коли коровам згодовують траву після скошення і легко прив'ялу (Offer, 2002). Це пов'язано із утворенням продуктів окиснення жирних кислот у траві після того, як зруйнуються клітинні стінки і рослинні ліпази вивільняють неестерифіковані C18 кислоти, які дуже

швидко перетворюються в гідропероксиди ПНЖК за дії ліпоксигеназ (Feussner & Wasternack, 2002). Гідропероксиди ПНЖК далі катаболізуються, утворюючи кінцеві продукти окиснення жирних кислот (FAOP), такі як альдегіди, спирти, які зумовлюють «зелений запах» (green odor) і мають антимікробну активність (Strobel et al., 2001).

Лі і співавтори вивчали вплив продуктів окиснення жирних кислот на рубцеву популяцію і шляхи метаболізму ліпідів *in vitro* (Lee et al., 2007). Гідропероксиди 1,2-диметилетилгідропероксид і довголанцюговий альдегід транс-2 деценал здійснюють вплив на ліпідний метаболізм, що проявляється у зростанні вмісту проміжних і кінцевих сполук біогідрогенування – C18:0 і транс-C18:1, більш значне транс-10, ніж транс-11, та зниженні вмісту C12:0- C16:0, цис- C18:1, а також загальної кількості розгалужених і непарних жирних кислот при культивуванні в умовах *in vitro* (Lee et al., 2007). Відсутність пригнічення процесів біогідрогенування автори пояснюють тим, що в їхній роботі окремі сполуки діяли індивідуально, тоді як значний антимікробний ефект гідропероксидів ліпідів пояснюється колективним синергізмом сполук окремих класів (Strobel et al., 2001). Однак, значне зниження вмісту розгалужених і непарних жирних кислот, які є мікробними маркерами (Kim et al., 2005), а також зниження вмісту кислот C12:0-C16:0, які є головними компонентами мікробних ліпідів, при зростанні концентрації в культуральному середовищі FAOP вказує на зміни мікробної популяції в рубці. При цьому отримані цікаві результати щодо чисельності мікроорганізмів: через дві години культивування із 1,2-диметилетилгідропероксидом вона незначно зростає порівняно з контролем, а через 24 години вірогідно знижується, більш стрімко при зростанні дози гідропероксиду (Lee et al., 2007). Автори припускають, що продукти окиснення ліпідів змінюють шляхи біогідрогенації через їхню антимікробну активність щодо групи В бактерій. Про зсув шляхів біогідрогенізації при додаванні окиснених ліпідів в культуральне середовище і підвищення концентрації транс-10 ізомерної форми повідомляється також в роботах (Vazquez-Anon et al., 2006; Wasowska et al., 2006).

Таким чином, при випасанні корів і споживанні ними свіжої трави створюються більш сприятливі умови для зростання потоку транс-11 C18:1 із рубця, що, в кінцевому результаті, приводить до підвищеного вмісту цис-9, транс-11 C18:2 в молоці.

Для встановлення ефективності підвищення вмісту ВК і РК шляхом змін годівельних раціонів часто послуговуються визначенням співвідношення транс-10 і транс-11 C18:1 у складі молочних ліпідів, на ньому сконцентрована основна

увага дослідників. Однак, слід врахувати, що воно не відповідає утвореним в рубці кількостям цих ізомерів. Це зумовлено тим, що транс-10 C18:1, яка продукується в рубці, не десатурується в тканині молочної залози і переходить в молочні ліпіди (Kramer et al., 2004), тоді як кількість транс-11 C18:1 значно знижується завдяки Δ^9 -десатуразній активності і перетворенні її у цис-9, транс-11 C18:2 (Bauman et al., 2001). Менше уваги звертається на пару КЛК ізомерів цис-9, транс-11 і транс-7, цис-9 C18:2. Однак, співвідношення цієї пари є також важливим, тому що ці ізомери КЛК репрезентують ключові метаболіти двох популяцій рубцевих бактерій, що продукують різні кінцеві продукти метаболізму ПНЖК (Cruz-Hernandez et al., 2007). Тому необхідним є визначати в складі молочних ліпідів усі транс-ізомерні форми C18:1 і кон'юговані ізомери C18:2, кількість яких може досягати до 10 і 0,5%, відповідно (Cruz-Hernandez et al., 2007).

3.5. Вплив згодовування насіння ріпаку на жирнокислотний склад молочних ліпідів

Нами були проведені дослідження змін жирнокислотного складу молочних ліпідів за згодовування коровам подрібненого сирого насіння ріпаку (Tsisaryk, 2004; Цісарик, 2009а, Цісарик, 2010а, б, в). Зокрема, досліджено жирнокислотний склад ліпідів молока за згодовування насіння ріпаку коровам української червоно-рябої молочної породи (Цісарик, 2009а). У дослідному періоді (тривалістю 60 днів) коровам дослідної групи замість 12 % протеїну корму за рахунок концентрованих кормів було включено насіння ріпаку сорту Дангал (1,2 кг/добу). Частка концентрованих кормів у структурі раціону становила біля 40 %, частка протеїну – 14,4 %, частка клітковини – біля 20 %. У контрольному раціоні концентрація енергії становила 9,64 МДж/кг СР, вміст жиру – 3,2 %, в дослідному раціоні – 10,10 МДж/кг СР, а вміст жиру – 5,8 %. Додаткове надходження жирних кислот з насінням ріпаку для корів дослідної групи становило 344,2 г/добу, що на 76 % більше, ніж у корів контрольної групи, в тому числі ПНЖК – на 143,8 г/добу (на 62,7 %) більше, ніж у контролі (табл. 3.1). Ліпідний комплекс насіння ріпаку (сорт Дангал) характеризується співвідношенням вмісту олеїнової:лінолевої:ліноленової кислот – 2,8:1,5:1, за рахунок чого змінилось співвідношення між жирними кислотами корму. У складі корму раціону корів дослідної групи зросла концентрація усіх C18 кислот, однак найвагомніше – C18:1 (майже втричі) та ліноленової (майже вдвічі). Змінилось співвідношення між ліноленовою та лінолевою кислотами – до 0,54 у

складі корму дослідного раціону проти 0,47 у контрольному. Індекс насиченості ліпідів корму в раціонах знизився від 0,30 у контрольному до 0,16 у дослідному.

Таблиця 3.1

Уміст жирних кислот у складі корму раціонів корів та їх споживання

Код жирних кислот	Контрольна група		Дослідна група	
	Споживання, г/добу	Вміст, г/кг СР корму	Споживання, г/добу	Вміст, г/кг СР корму
12:0	1,125	0,06	1,06	0,06
14:0	3,28	0,18	3,09	0,17
15:0	2,39	0,13	2,19	0,13
16:0	82,39	4,55	87,44	5,05
16:1	3,69	0,20	4,15	0,24
18:0	11,25	0,62	15,35	0,89
18:1	105,75	5,84	280,04	16,2
18:2	156,38	8,63	241,53	13,96
18:3	72,9	4,03	131,42	7,60
20:0	4,64	0,26	4,19	0,24
20:1	6,26	0,34	19,15	1,11
22:1	–	–	4,56	0,26
Сума	450,0	24,86	794,2	45,91
Насичені	105,1	5,81	113,3	6,55
Мононенасичені	115,7	6,39	307,9	17,78
Поліненасичені	229,2	12,66	373,0	21,56
Відношення між кислотами n-3/n-6 ряду	0,47	–	0,54	–
Індекс насиченості	0,30	–	0,16	–

Згодовування насіння ріпаку викликало тенденцію до зростання вмісту жиру в молоці та здійснило істотний вплив на композицію жирних кислот молочного жиру, про що засвідчують дані, наведені у таблицях 3.2 та 3.3. До головних змін слід віднести істотне зменшення частки середньоланцюгових насичених жирних кислот (C12-C16). Зареєстроване нами зниження їх вмісту в молочному жирі є закономірним, оскільки в крові підвищується вміст довголанцюгових жирних кислот, які інгібують синтез *de novo* жирних кислот у

тканині молочної залози шляхом впливу на ацетил-CoA карбоксилазну активність, та преференційно включаються у молочні ТАГ, про що було вказано вище. У складі середньоланцюгових жирних кислот найбільш істотно знижується частка C14:0, що узгоджується із змінами в складі ліпідів плазми крові (табл. 1.5). При цьому важливо відзначити, що частка коротколанцюгових кислот C4-C10 змінюється незначно.

Наші результати щодо змін частки середньоланцюгових жирних кислот у молочному жирі узгоджуються з результатами робіт, у яких вивчався вплив згодовування канолового насіння в різних формах при кількості доданих ліпідів канולי, співмірній з нашою (Tymchuk et al., 1998; Bayourthe, 2000), при згодовуванні розмеленого насіння ріпаку в більших кількостях (Chichlowski et al., 2005), канолової олії (Loor et al., 2002), а також ліпідів інших рослинних джерел – соняшника (Cruz-Hernandez et al., 2007), сої і льону (Dhiman et al., 2000), риб'ячої олії (Baer et al., 2001) та інфузії в сичуг довголанцюгових жирних кислот (Romo et al., 2000). Пальмквістом зазначено, що серед олійних саме насіння канולי спричиняє найбільш істотне зниження вмісту лауринової та міристинової кислот у молочному жирі (Palmquist, 2006). Відповідь кислот C4-C8 є менш вираженою, тому що ці кислоти в клітинах молочної залози можуть синтезуватись шляхом, що не пов'язаний із малоніл-CoA. Масляна кислота займає цілком окреме місце, оскільки вона, в основному, синтезується з оксидутирату (Baer et al., 2001). Ця кислота є важливою з точки зору впливу на здоров'я людини (Belobrajdic & McIntosh, 2000). В огляді Глессера та співавторів приводяться дані про відсутність впливу на C4:0 та незначене зниження C6-C8 у складі ліпідів молока під впливом насіння олійних (Glasser et al., 2008). Щодо коротколанцюгових жирних кислот дані авторів не завжди однакові – повідомляється про відсутність впливу (Bayourthe et al., 2000), зниження (Aldrich et al., 1997; Chichlowski et al., 2005) і підвищення їх вмісту (Loor et al., 2002).

Вплив на вміст коротколанцюгових жирних кислот залежить від кількості доданих ліпідів, із збільшенням – вплив вагомий, що пов'язано із інгібуванням синтезу жирних кислот *de novo*, а регуляція відносних пропорцій коротко-, середньо- і довголанцюгових жирних кислот є більш складною, ніж регуляція активності ацетил-CoA-карбоксилази (Hansen et al., 1984).

Згодовування ріпакового насіння спричинило зростання частки ненасичених жирних кислот у молочних ліпідах, що підвищує біологічну цінність жиру, однак вагомим щодо впливу на здоров'я споживачів є зниження частки середньоланцюгових насичених жирних кислот. Середньоланцюгові насичені жирні кислоти (C12:0-C14:0) спричиняють підвищення рівня

холестеролу у крові та атерогенні впливи, про що вже вказувалось, причому сусідні кислоти C10:0 та C18:0 такого ефекту не проявляють.

Згодовування ріпакового насіння спричинило зниження вмісту суми непарних жирних кислот у складі молочних ліпідів (на першому етапі дослідного періоду – вірогідне, на другому – тенденційне). У складі молочних ліпідів непарні та розгалужені <C16 можуть бути двоякого походження – гуморального і синтезу *de novo* з пропіонової кислоти через перетворення в метил-малоніл-CoA (Smith, 1994).

За нашими результатами можна зробити висновок, що під час першого етапу дослідного періоду спостерігається інгібування *de novo* синтезу C15:0, ізо-C14:0, антеізо-C14:1 та C15:0, а на другому – вміст цих кислот, за винятком ізо-C14:0 не відрізнявся від контролю, що є, очевидно, наслідком адаптаційних процесів. Дані літератури підтверджують зниження вмісту C15:0 у молочних ліпідах, яке є співмірним з нашими результатами (Bayourthe et al., 2000; Ward et al., 2002).

Вміст стеаринової кислоти в молочному жирі корів дослідної групи був вищим порівняно з контролем, на другому етапі дослідного періоду – вірогідно, що узгоджується з даними літератури при згодовуванні канолового насіння у кількостях, співмірних з нашими (Bayourthe et al., 2000; Ward et al., 2002; Chichlowski et al., 2005). Збільшення кількості канолового насіння в раціонах спричиняє істотніші відмінності вмісту C18:0 (Aldrich et al., 1997; Chichlowski et al., 2005).

Поглинання секреторними клітинами молочної залози довголанцюгових жирних кислот залежить від їх концентрації (в складі ТАГ) у плазмі крові. Наші досліді проводились на коровах протягом середини лактації, тобто енергетичного гомеостазу, тому мобілізація ТАГ із жирових депо не здійснювалась, однак, як відомо, відбувається постійний обмін жирними кислотами між ТАГ крові і жирових депо (Chilliard et al., 1991), через те ніколи не є відомим точне походження C18:0 і цис-9 C18:1 жирних кислот в складі молочних ліпідів – екзогенне чи за рахунок мобілізації. C18:0 активно десатурується в клітинах молочної залози; встановлено, що біля 54% додатково поглинутої при згодовуванні ліпідних добавок C18:0 десатурується (Glasser et al., 2008a). Через це ліпідні добавки, які містять C18 жирні кислоти, спричиняють зростання їх вмісту в складі молочного жиру. Однак, коли рівень C18 жирних кислот в молочному жирі досягає біля 52% від загальної кількості, що супроводжується відповідно зниженням частки C4-C16 жирних кислот,

ефективність перенесення С18 жирних кислот із крові різко знижується (Glasser et al., 2008a).

У наших експериментах зареєстровано істотне зростання вмісту цис-9 С18:1 в складі молочного жиру – на 23,1% у середньому за дослідний період, що також узгоджується із даними літератури. Так у огляді Глессера приводяться дані, що згодовування ріпакового насіння зумовлює підвищення цис-9 С18:1 в середньому на 35 % (Glasser et al., 2008b). Звертає на себе увагу залежність: підвищення частки С18:1 відбувається майже паралельно із зниженням частки середньоланцюгових жирних кислот. Навіть, якщо б лише цим обмежувався вплив згодовування ріпакового насіння на склад жирних кислот молока, то це було б вагомим аргументом на користь його використання в годівлі корів.

Серед мононенасичених жирних кислот, слід звернути увагу на С20:1, у молочному жирі корів дослідної групи протягом дослідного періоду зареєстровано істотно вищий її вміст. Вона утворюється шляхом делонгації С18:1. Показано, що на відміну від С22:1 (ерукової) та С20:3, рівень ейкозенової кислоти не пов'язаний із інсуліновою резистентністю (Kusunoki et al., 2007).

Щодо частки лінолевої кислоти (цис, цис-9,12 С18:2), то на першому етапі дослідного періоду зареєстровано дещо менший вміст порівняно з контролем, однак, більший порівняно з підготовчим періодом, на противагу контролю, а на другому – незначне збільшення порівняно з контролем. Вміст вказаної кислоти в молоці корелює із вмістом у ліпідах плазми. У огляді Глессера повідомляється про зниження вмісту загальної цис-9, цис-12 С18:2 при згодовуванні насіння ріпаку, а також ріпакової олії (у середньому в усіх експериментах), а при згодовуванні захищеного жиру каноли – досить істотне зростання (Glasser et al., 2008b). У дослідженнях з використанням співмірних з нашою кількістю канолового насіння, не зареєстровано змін щодо вмісту лінолевої кислоти (Bayourthe et al., 2000). Інші автори повідомляють про зниження (Loor et al., 2002b; Delbecchi et al., 2001; Ward et al., 2002) при згодовуванні насіння та олії, про підвищення її вмісту повідомляється при вищих кількостях ріпакового насіння (Chichlowski et al., 2005).

Якщо дані щодо вмісту цис-9, цис-12 С1:2 на тлі згодовування ліпідних добавок суперечливі, то щодо цис-9, цис-12, цис-15 С18:3 вони більш узгоджені. Наші результати вказують на тенденцію до зростання її вмісту в молоці корів на першому етапі та вірогідно вищий вміст на другому етапі згодовування ріпакового насіння. Про збільшення частки ліноленової кислоти, приблизно в таких самих межах, повідомляється в низці робіт (Bayourthe et al., 2000; Delbecchi et al., 2001; Ward et al., 2002). Важливо відзначити, що при згодовуванні

кальцієвих солей ріпакової олії, вміст ліноленової кислоти подібний, як і при згодовуванні насіння (Bayourthe et al., 2000), а при згодовування каноламиду – дещо нижчий (Loor et al., 2002b), однак істотне зростання зареєстровано при згодовуванні формальдегід захищеного насіння (Delbecchi et al., 2001). Таким чином, використання рубцевого захисту ліпідів з метою підвищення частки ліноленової кислоти в молочному жирі не завжди є ефективним, крім того, наприклад каноламід має неприємний аромат і спричиняє зниження споживання корму, а формальдегід є канцерогенним.

Зростання вмісту n-3 ліноленової кислоти в молочних ліпідах супроводжується майже синхронним зниженням вмісту арахідонової кислоти. Це також позначилось на зміні відношення між кислотами n-3 та n-6 родин, яке на першому етапі дослідного періоду було на 17,9%, а на другому – на 29,4% ($p < 0,01$) вищим порівняно з контролем. Про збільшення відношення між n-3 і n-6 кислотами при згодовування ріпакового насіння повідомляється в літературі (Chichlowski et al., 2005). У дієтах мешканців західних країн співвідношення між n-6/n-3 кислотами становить 20:1 – 50:1 (Dhiman et al., 2009) при оптимальному 5:1. За рахунок згодовування насіння ріпаку воно знизилось у ліпідах молока від 9,76:1 у контролі до 8,13:1 в дослідній групі (у середньому за дослідний період).

Важливі результати отримано нами щодо змін вмісту транс-ізомерів жирних кислот у молочних ліпідах. Згодовування насіння ріпаку спричинило зростання загальної кількості транс-ізомерів жирних кислот – в 1,6 рази на першому та майже вдвічі та другому етапі дослідного періоду, що є наслідком посиленого рубцевого біогідрогенування. У молоці корів, які отримували ріпакове насіння, вміст транс-11 C18:1 був істотно вищим – 1,92 проти 1,0% ($p < 0,01$) на першому етапі та 2,0 проти 0,80% ($p < 0,001$) на другому етапі згодовування насіння ріпаку. Другим за кількістю серед транс- C18:1 ізомерів у молочному жирі корів контрольної групи є транс-10, а в корів дослідної групи – транс-6 C18:1.

Серед транс-C18:2 ізомерів у ліпідах молока виявлено цис-9, транс-11 КЛК, у молочному жирі корів контрольної групи її кількість незначна – до 0,1%, а дослідної – її рівень зростає майже втричі ($p < 0,001$). Таке зростання зареєстровано впродовж усього періоду згодовування ріпакового насіння.

Щодо транс-10 C18:1, з яким пов'язують явище молочножирової депресії, істотних міжгрупових різниць не зареєстровано. Дані літератури щодо ізомерних форм жирних кислот у складі молочного жиру при згодовуванні насіння чи олії ріпаку дуже обмежені, так у огляді Глессера, датованому 2008 р., на жаль, вони взагалі не приведені. Про підвищення вмісту вказаних ізомерів у молочному

жирі при згодовуванні насіння ріпаку повідомляється у роботах (Chichlowski et al., 2005; Ward et al., 2002).

Результатами досліджень, у яких коровам згодовували ріпакову олію показано, що частка транс-11 C18:1 у молочному жирі зростала майже в чотири рази, а цис-9, транс-11 C18:2 – майже вдвічі, а згодовування кальцієвих солей ріпакової олії спричинило значно менше зростання транс-11 C18:1 та навіть істотне зниження цис-9, транс-11 C18:2 (Вудмаска, 2008).

Щодо транс-10 ізомерів наші дані узгоджуються із результатами роботи Круз-Хернандза, в якій коровам згодовували соняшникову олію у співмірній з нашою кількістю доданого жиру, при цьому не узгоджуються щодо транс-6 та 9 (Cruz-Hernandez et al., 2007). Однак, це закономірно, оскільки лінолева кислота, яка домінує в соняшниковій олії, є поганим субстратом для утворення транс-6 та 9, тоді як олеїнова кислота, навпаки. Щодо інших ізомерів при згодовуванні насіння ріпаку дані літератури відсутні.

Рівень цис-9, транс-11 C18:2 у молоці залежить від десатурації попередника транс-11 C18:1 у тканині молочної залози. Ензим Δ -9-десатураза відповідальний за десатурацію транс-11 C18:1, а також C14:0, C16:0, C18:0, про що вказувалось вище. Слід зазначити, що транс-10 C18:1 у тканині молочної залози не десатурується, про що вже також згадувалось (Cruz-Hernandez et al., 2007).

Нашими результатами зареєстровано підвищення десатураційного індексу для транс-11 C18:1 ($p < 0,05$). Щодо індексів десатурації для інших жирних кислот, то нами не встановлено чіткої закономірності. Наприклад, для C16:0 проявилась тенденція до підвищення, а для C18:0, навпаки, до зниження. Це, очевидно, зумовлено підвищеним екзогенним надходженням C18:1 жирної кислоти. Повідомляється, що рівень десатурації в основному пропорційний до рівня поглинання молочною залозою субстратів (Glasser et al., 2008).

Визначаючи внесок десатурації тканиною молочної залози у кількість десатурованих продуктів, зокрема цис-9 C18:1, показано, що він коливається від дуже низьких значень (15,8%), коли надходить велика кількість екзогенної цис-9 C18:1, наприклад, із каноловою олією (Chelikani et al., 2004) до 94% (Glasser et al., 2008).

Щодо внеску десатурації тканиною молочної залози у продукцію цис-9, транс-11 C18:2, то він коливається у дуже широких межах, від надзвичайно малих значень (3,6%) (у контрольних тварин, яким не згодовували ліпідні добавки) (Shingfield et al., 2003) до значно вищих, коли тваринам згодовують ліпідні добавки – 64% (Griinari et al., 2000), понад 93% (Piperova et al., 2002), а у

дослідах із міченою транс-11 C18:2 – 83% (Mosley et al., 2006). У середньому від 80 до 95% загальної продукції C18:1 та цис-9, транс-11 C18:2 становлять продукти десатурації в тканині молочної залози (Glasser et al., 2008).

Збільшене поглинання довголанцюгових жирних кислот тканиною молочної залози спричиняє скорочення карбонового ланцюга жирних кислот, синтезованих *de novo*, та підвищення десатурації. Ці зміни інтерпретуються як компенсація на підвищене надходження довголанцюгових жирних кислот з метою забезпечення плинності молочних ліпідів при температурі тіла. У синтезі молочного жиру регуляція здійснюється на етапі естерифікації жирних кислот. Таким чином, для максимального утворення ВК і РК у рубці необхідно: по-перше, створити умови для активної ізомеризації ненасичених жирних кислот і утворення транс-11 позиційних ізомерів, тобто для *B. fibrisolvens*, по-друге, забезпечити достатню концентрацію субстратів для ізомеризації, по-третє, інгібувати останній крок біогідрогенування – повне сатуравання, по-четверте, попередити утворення інших позиційних транс-ізомерів, в першу чергу, транс-10. Однак ці умови є взаємосуперечливими. Так, висока коенцентрація ненасичених жирних кислот, зокрема лінолевої, пригнічує целюлозолітичну мікрофлору, а гальмування останнього кроку біогідрогенування, зокрема за допомогою C20:5 і C22:6 супроводжується акумулюванням також інших позиційних ізомерів, особливо транс-10. Тому необхідно шукати компромісні варіанти, одним із таких варіантів є використання подрібненого насіння ріпаку. Воно забезпечує знижену, однак достатньо високу концентрацію C18:2, високу концентрацію олеїнової кислоти, яка також вносить свій вклад в утворення транс-11, достатньо високу концентрацію C18:3, яка також збільшує утворення транс-11 C18:1 і забезпечує збільшене її надходження до тканин молочної залози. Крім того, грубе подрібнення насіння сповільнює ліполіз ТАГ, що зумовлює сприятливі умови для *B. fibrisolvens*. Необхідною умовою є також достатня кількість клітковини в раціоні, зменшення частки неструктурних вуглеводів (насінням ріпаку ми заміняли частину крохмалю), підтримання оптимального значення рН (в межах 6,5). Високий рівень грубих кормів та помірні кількості неструктурних вуглеводів та ліпідів – умови, які були створені в наших експериментах, забезпечують утворення транс-11, тоді як високі кількості концентратів з легкоферментованими вуглеводами та значна кількість ліпідів, багатих на ПНЖК, спричиняють «зсув» шляхів біогідрогенування. З другого, боку, необхідно створити умови для активного десатуравання транс-11 C18:1 у тканині молочної залози. Цього можна досягнути, попереджуючи інгібування активності Δ -десатурази у тканині молочної залози. Як повідомляють літературні

джерела, постабсорбційна присутність транс-11 C18:1 сприяє ендogenous синтезу цис-9, транс-11 C18:2, що доказано експериментально (Loog et al., 2004).

Ерукова кислота не виявлена у складі молочного жиру, як і слід було очікувати через відсутність її у складі ліпідів плазми крові.

Таблиця 3.2

Склад жирних кислот ліпідів молока при згодовуванні коровам насіння ріпаку сорту Дангал, % загальної кількості жирних кислот (M ± m, n=6)

Код жирних кислот	Періоди досліду					
	Підготовчий		Дослідний			
			3 тижні згодовування		6 тижнів згодовування	
	К	Д	К	Д	К	Д
C4:0	3,94± 0,29	3,80± 0,24	3,76± 0,18	3,75± 0,30	3,71± 0,06	4,09± 0,11*
C6:0	2,47± 0,15	2,33± 0,08	2,44± 0,07	2,22± 0,13	2,54± 0,07	2,55± 0,03
C8:0	1,43± 0,09	1,40± 0,08	1,45± 0,05	1,28± 0,09	1,61± 0,06	1,50± 0,05
C10:0	3,14± 0,24	3,04± 0,17	3,12± 0,06	2,69± 0,26	3,71± 0,13	3,10± 0,19*
C12:0	3,49± 0,38	3,48± 0,23	3,52± 0,08	3,07± 0,29	4,41± 0,15	3,44± 0,23**
C14:0	11,87± 0,88	11,33± 0,31	12,11± 0,22	10,51± 0,47*	13,22± 0,25	11,19± 0,32**
ізо- C14:0	0,24± 0,008	0,27± 0,002**	0,33± 0,007	0,27± 0,01*	0,28± 0,007	0,25± 0,01*
антеізо- C14:0	0,50± 0,006	0,59± 0,03*	0,63± 0,03	0,62± 0,04	0,57± 0,02	0,57± 0,02
C14:1	0,91± 0,15	0,80± 0,08	0,99± 0,14	0,81± 0,07	1,10± 0,06	0,81± 0,05**
C15:0	1,07± 0,10	1,14± 0,03	1,28± 0,03	1,03± 0,02***	0,99± 0,007	1,02± 0,04
C15:1	0,29± 0,04	1,14± 0,03	0,40± 0,01	0,33± 0,06	0,37± 0,02	0,34± 0,03
C16:0	30,14± 1,92	27,29± 2,04	29,25± 1,26	25,17± 1,01*	31,68± 0,79	23,71± 0,42***

Продовження табл. 3.2

ізо- C17:0	0,35± 0,03	0,36± 0,01	0,40± 0,02	0,43± 0,04	0,36± 0,01	0,34± 0,022
антеізо- C17:0	0,25± 0,04	0,23± 0,034	0,21± 0,01	0,26± 0,005***	0,21± 0,02	0,23± 0,01
цис-9 C16:1	1,89± 0,04	1,44± 0,09	1,62± 0,36	1,66± 0,19	1,68± 0,09	1,27± 0,03**
C17:0	0,55± 0,04	0,60± 0,01	0,66± 0,02	0,59± 0,03	0,57± 0,01	0,49± 0,02**
C17:1	0,26± 0,05	0,19± 0,01	0,23± 0,02	0,24± 0,02	0,21± 0,01	0,17± 0,005*
C18:0	8,82± 0,87	12,67± 1,16*	10,55± 0,44	12,49± 1,81	8,78± 0,33	13,77± 0,87**
транс-6 C18:1	0,23± 0,002	0,37± 0,04*	0,25± 0,01	0,37± 0,03*	0,22± 0,008	0,40± 0,01***
транс-9 C18:1	0,22± 0,02	0,27± 0,03	0,21± 0,01	0,32± 0,02*	0,19± 0,01	0,30± 0,01***
транс-10 C18:1	0,31± 0,02	0,40± 0,06	0,36± 0,03	0,36± 0,06	0,31± 0,02	0,29± 0,03
транс-11 C18:1	1,0± 0,15	1,3± 0,08	1,0± 0,08	1,92± 0,13**	0,80± 0,08	2,0± 0,04***
цис-6 C18:1	0,34± 0,03	0,42± 0,03	0,33± 0,03	0,45± 0,03*	0,33± 0,02	0,45± 0,03*
цис-9 C18:1	21,40± 2,32	21,80± 1,27	20,55± 1,0	24,32± 1,0*	18,40± 0,44	23,46± 0,29***
цис-11 C18:1	1,11± 0,27	0,87± 0,06	0,81± 0,06	1,09± 0,09*	0,76± 0,07	0,81± 0,07
цис-12 C18:1	0,41± 0,07	0,39± 0,06	0,38± 0,05	0,46± 0,09	0,37± 0,06	0,41± 0,07
транс-9, цис-12 C18:2	0,07± 0,03	0,01± 0,002	0,030± 0,009	0,038± 0,014	ND	ND
цис-9, цис-12 C18:2	2,23± 0,22	1,86± 0,29	2,17± 0,99	1,97± 0,35	1,74± 0,04	1,87± 0,26
C20:0	0,13± 0,005	0,16± 0,02	0,14± 0,003	0,17± 0,03	0,11± 0,005	0,18± 0,01

Продовження табл. 3.2

цис-9, транс-12, цис-15 C18:3	0,08± 0,001	0,11± 0,02*	0,12± 0,009	0,14± 0,019	0,10± 0,01	0,14± 0,005**
C20:1	0,07± 0,01	0,05± 0,01	0,02± 0,001	0,06± 0,002*	0,03± 0,0003	0,06± 0,003***
цис- 9,цис-12, цис-15 C18:3	0,23± 0,02	0,17± 0,02	0,14± 0,01	0,15± 0,02	0,14± 0,002	0,18± 0,01**
цис-9, транс-11 C18:2	0,13± 0,006	0,11± 0,023	0,097± 0,001	0,287± 0,02***	0,097± 0,004	0,289± 0,010***
C21:0	0,07± 0,007	0,06± 0,009	0,04± 0,004	0,06± 0,007	0,01± 0,002	0,05± 0,005**
C20:2	ND	ND	0,04± 0,002	0,09± 0,001***	ND	ND
C22:0	0,05± 0,002	0,09± 0,02	0,09± 0,008	0,07± 0,006	0,06± 0,002	0,08± 0,002*
цис-8, цис-11, цис-14 C20:3	0,09± 0,02	0,07± 0,007	0,07± 0,007	0,08± 0,01**	0,10± 0,09	0,08± 0,01
цис- 5,цис-8, цис-11, цис-14 C20:4	0,14± 0,02	0,11± 0,008	0,12± 0,006	0,11± 0,01	0,13± 0,003	0,11± 0,004*
C23:0	0,04± 0,005	0,04± 0,002	ND	ND	0,02± 0,003	ND
C24:0	0,05± 0,009	0,04± 0,001	0,03± 0,007	0,02± 0,003	0,03± 0,002	0,01± 0,001***
C20:5	0,04± 0,005	0,04± 0,003	0,023± 0,003	0,025± 0,003	ND	ND

Таблиця 3.3

Характеристика складу жирних кислот ліпідів молока корів при згодовуванні насіння сорту Дангал, % загальної кількості жирних кислот (M ± m, n=6)

Показники	Періоди досліду					
	Підготовчий		Дослідний			
			3 тижні згодовування		6 тижнів згодовування	
	К	Д	К	Д	К	Д
Сума насичених	68,59± 3,33	68,90± 1,29	70,0± 0,85	64,71± 1,04***	72,89± 0,69	66,58± 0,14***
Сума ненасичен	31,41± 3,31	31,10± 1,29	30,0± 0,89	35,29± 1,04***	27,11± 0,69	33,42± 0,15***
Ненас./ Насич.	0,465± 0,07	0,453± 0,03	0,429± 0,02	0,547± 0,02***	0,372± 0,013	0,502± 0,003***
Сума С4- С10	10,97± 0,71	10,57± 0,57	10,76± 0,34	9,93± 0,68	11,58± 0,32	11,25± 0,17
Сума С12–С16	48,50± 3,44	45,23± 2,30	48,51± 1,58	41,81± 1,60*	52,62± 0,60	41,34± 0,71***
Сума С16	32,02± 1,81	28,73± 2,12	30,87± 1,09	26,84± 1,15*	33,35± 1,03	24,98± 0,44***
Сума С18	36,54± 3,50	40,76± 2,14	37,0± 1,42	44,38± 2,19*	32,25± 0,71	44,29± 0,82***
Сума > 18	0,68± 0,02	0,61± 0,06	0,46± 0,07	0,69± 0,05**	0,49± 0,02	0,56± 0,02*
Сума n-6	2,94± 0,33	2,44± 0,34	2,77± 0,49	2,66± 0,48	2,37± 0,08	2,47± 0,32
Сума n-3	0,303± 0,06	0,280± 0,02	0,287± 0,01	0,307± 0,02	0,240± 0,01	0,326± 0,03
n-3/n-6	0,10± 0,01	0,11± 0,02	0,11± 0,01	0,13± 0,02	0,102± 0,005	0,132± 0,008**
Сума непарних	2,11± 0,04	2,91± 0,05	3,23± 0,04	2,95± 0,11**	2,76± 0,34	2,62± 0,07

<i>Продовження табл. 3.3</i>						
Сума розгалужених	1,34± 0,02	1,48± 0,104	1,57± 0,05	1,58± 0,07	1,42± 0,02	1,39± 0,04
Дес. С14:1 ¹	0,067± 0,007	0,061± 0,005	0,070± 0,008	0,067± 0,005	0,072± 0,004	0,063± 0,004***
Дес. С16:1 ²	0,060± 0,012	0,050± 0,001	0,052± 0,002	0,062± 0,005	0,050± 0,002	0,051± 0,001
Дес. С18:1 ³	0,72± 0,02	0,64± 0,01**	0,68± 0,007	0,68± 0,02	0,69± 0,01	0,65± 0,01*
Дес. КЛК ⁴	0,12± 0,01	0,07± 0,01*	0,087± 0,008	0,13± 0,01*	0,111± 0,004	0,129± 0,006*
Сума транс С18:1	1,77± 0,19	2,34± 0,12*	1,83± 0,07	2,97± 0,12***	1,53± 0,12	2,99± 0,06***

Примітки:

¹ – десатураційний індекс: С14:1/(С14:0+С14:0)

² – десатураційний індекс: С16:1/(С16:1+С16:0)

³ – десатураційний індекс: цис-С18:1/(цис С18:1+С18:0)

⁴ – десатураційний індекс цис-9, транс-11 С18:2/(цис-9, транс-11 С18:2+транс-11 С18:1)

За нашими даними зміна жирнокислотного складу ліпідів молока закономірно відобразилась на властивостях масла, виготовленого з нього, зокрема змінилась його консистенція – збільшилась м'якість, підвищилась пластичність та дещо знизилась термостійкість (Цісарик, 2009б). Підвищений вміст доголанцюгових ненасичених жирних кислот у складі молочного жиру, як відповідь на згодовування насіння ріпаку, може підвищити чутливість молочних продуктів до пероксидного окиснення ліпідів. Наші результати засвідчують, що молоко, отримане від корів, яким згодовували насіння ріпаку та масло, виготовлене з нього, не проявляло підвищеної схильності до процесів окиснення, навпаки, проявляється вища його стійкість (Цісарик, 2009в, Tsisaryk, 2009). на нашу думку, це може бути пов'язано із високим вмістом антиоксидантів, зокрема, токоферолів у ріпаковому насінні.

3.6. Вплив захисту поліненасичених жирних кислот від рубцевого біогідрогенування на склад жирних кислот молочних ліпідів

З метою зниження ступеню біогідрогенування в рубці ненасичених жирних кислот і збільшення переходу їх в молочні ліпіди застосовують різні

способи захисту, серед яких поширеним є утворення кальцієвих солей. Цей спосіб був започаткований в університеті Огайо Доном Пальмквістом і співавторами з метою зменшення проблем, пов'язаних із рубцевою перетравністю при застосуванні підвищених кількостей жиру в годівлі великої рогатої худоби, подальшого розвитку набув в університеті Іллінойс в 90-х рр. Застосування кальцієвих солей продовжує детально вивчатись. Зокрема, Чоуінардом і співавторами проведено комплексні дослідження згодовування різних ліпідних джерел у вигляді кальцієвих солей жирних кислот із ріпакової, соєвої та лляної олії (Chouinard et al., 2001).

Канолова олія характеризувалась високим вмістом олеїнової кислоти (58,5%), помірним вмістом лінолевої (23,0%) і низьким ліноленової (7,7%). Соєва олія, навпаки, містила високу концентрацію лінолевої (54,5%), нижчу кількість олеїнової (23,3%), низьку – ліноленової (5,9%), а лляна – помірну кількість олеїнової (20,1%) і лінолевої (18,2%) та високу – ліноленової (51,4%). За результатами цих досліджень встановлено, що найбільша відмінність у жирнокислотній композиції молочного жиру полягала у зростанні С18:1 – до 32,47%, 31,83%, 28,50%, відповідно, при згодовування канолової, соєвої і лляної олій проти 18,45% у контролі. При цьому також зареєстрована менша кількість кислот, які синтезуються *de novo*, особливо це стосується кислот С12:0-С16:0. Додавання кормових кальцієвих солей рослинних олій в незначній мірі змінюють частку С18:2 і С 18:3 жирних кислот у складі молочного жиру. Такі незначні зміни цих кислот у складі молочного жиру пояснюються тим, що кальцієві солі у рубці дисоціюють і піддаються біогідрогенізації. Результатом цього є підвищення концентрації транс-11 С18:1 кислоти і значне підвищення РК у 4-6 разів, більш вагоме при згодовуванні соєвої і лляної олії. Тобто, істотніше зростання вмісту РК зареєстроване при згодовуванні рослинних олій, що характеризуються вищим вмістом С18:2 і С18:3 кислот, про що свідчать також інші повідомлення (Dhiman et al., 2000).

Згодовування коровам кальцієвих солей високоолеїнової соняшникової олії привело до підвищення рівня олеїнової кислоти у складі молочного жиру із 26,3 до 40,2%, при цьому сумарна кількість С12:0-С16:0 кислот знизилась із 40 до 33% (Aigster et al., 2000).

Формальдегід-протеїнові оболонки були першим успішним захистом ненасичених жирних кислот, цей спосіб був започаткований в Австралії ще в ранніх 70-х роках, його застосування послугувало зростанню ненасичених жирних кислот у складі молочного жиру. Однак, ця технологія не набула значного поширення, однією з причин є канцерогенні властивості формальдегіду

(Jenkins & McGuire, 2006). Про те, що згодовування рослинних олій, захищених формальдегід-протеїновими оболонками приводить до модифікації жирнокислотної композиції молочного жиру свідчить зниження концентрації холстерол-вмісних ліпопротеїнів дуже низької щільності в плазмі крові із 4,49 до 4,25 мМоль/л при включенні отриманого молочного жиру в раціони людей (Noakes et al., 1996).

Для модифікації жирнокислотного складу молочного жиру Райтом і співавторами було використано нерозщеплювану в рубці протеїнову добавку із рибним борошном, як джерелом С22:6, за рахунок чого її концентрація в молочному жирі зростає із 0,15 до 0,33%, що отримало патент США (Jensen, 2002).

Ще одним способом захисту кормових ненасичених жирних кислот від рубцевої біогідрогенізації є утворення амідів жирних кислот, цей спосіб був розвинутий Томом Дженкінсом в університеті Клемсон в ранніх 90-х роках. Дослідженнями, проведеними щодо встановлення ефективності цього способу, показано, що коливання змін жирнокислотної композиції залежать від специфіки жирних кислот та амідних зв'язків. Ефективними є аміді олеїнової кислоти, значно менше – аміді ПНЖК (Jenkins, 2006).

Іншими факторами впливу на склад жирних кислот молочного жиру є регулювання рН в рубці (Chouinard et al., 1997). Співвідношення концентратів і грубих кормів в раціоні здійснює вплив на кількість і склад секретованого молочного жиру, оскільки висока кількість концентратів призводить до зниження рН рубцевої рідини, що підвищує продукцію транс-ізомерів С18:1 та зниження вмісту жиру (Kennelly et al., 1999).

Вивчено ефект температурного оброблення насіння олійних рослин, зокрема, сої за допомогою різних технологічних способів (Chouinard et al., 2001). Такими технологічними методами є метод екструзії, який викликає розрив насіння і вивільнення олії, що ґрунтується на розшаруванні та обжарюванні з обертанням (Reddy et al., 1994). В цих дослідженнях показано, що спосіб технологічної обробки не здійснює істотного впливу на жирнокислотну композицію молочного жиру. Різні способи обробки зерна сої викликають декілька відмінностей, однак, ці зміни є мінімальними за величиною (Chouinard et al., 2001).

В огляді Дженкінса повідомляється, що вміст олеїнової кислоти у складі молочного жиру корів, яким не згодовували жирові добавки, коливається від 18 до 24%, за рахунок згодовування жирових добавок можна підвищити її вміст до 48%, причому найбільш істотне збільшення зареєстроване для амідів олеїнової

кислоти (48%), вагоме для формальдегідобробленого жиру соняшника, екструдованого насіння соняшника, Jet-Sploded насіння канולי, кальцієвих солей олії канולי, цільного насіння канולי (причому більш виражений ефект, ніж для кальцієвих солей олії канולי), цільного насіння сої, бавовни, льону (Jenkins & McGuiret, 2006).

Вплив жирних добавок на вміст лінолевої кислоти у складі молочного жиру є менш істотним. Звичайно, частка лінолевої кислоти в молочному жирі коливається від 1,5 до 4%, коли тваринам не згодовують жирних добавок, вона підвищується до 6,5%, коли тваринам згодовують захищені жирні добавки (Jenkins, 2006).

З-посеред зовнішніх чинників значний вплив на жирнокислотний склад здійснюють йонофори, це питання впродовж останніх років активно вивчається. Монензин, ласлоцид, нігерин, тетрозин є добавками, які змінюють йонний транспорт через мембрани (Duffield & Bagg, 2000). Йонофори покращують енергетичний метаболізм і знижують розвиток кетозу; покращують молочну продуктивність, у зв'язку з цим незначно знижується вміст протеїну і жиру. (Йонофори як кормову добавку використовують у США і Канаді. В ЄС та Україні йонофори дозволено застосовувати лише для лікування кокцидіозу курей та кетозу корів). При цьому зростає кількість усіх ненасичених жирних кислот, включаючи ВК і РК, а кількість насичених кислот, відповідно, зменшується. Йонофори здійснюють вплив на процеси рубцевого біогідрогенування, при цьому зростає потік цис-9, транс-11 C18:2 до кишечника (Fellner et al., 1997).

Таким чином, проблема моделювання жирнокислотної композиції молочних ліпідів має два аспекти: 1) цілеспрямований вплив, який полягає у зниженні частки насичених жирних кислот, особливо середньоланцюгових, збільшенні ненасичених, а особливо транс-11 C18:1 і цис-9, транс-11 C18:2 і 2) опосередкована модифікація за рахунок використання ліпідних добавок як джерела енергії. Однак, комерційні добавки, головним чином, складаються із тваринних жирних субпродуктів, які містять відносно велику кількість насичених жирних кислот порівняно із рослинними жирами. Сучасні дослідження чітко показують, що кормові жирні добавки, які містять мало ПНЖК, не викликають бажаних змін жирнокислотного складу (Chouinard et al., 2001; Ashes et al., 1997).

Нині кормові ліпідні добавки, які містять рослинні олії, не застосовують широко у кормових цілях для жуйних. Це пов'язано із тим, що рослинні олії здійснюють інгібуючий ефект на ріст рубцевої мікрофлори (Palmquist et al., 1993), а також змінюють рубцеве середовище, викликаючи утворення транс-10

C18:1 і транс-10, цис-12 КЛК, двох метаболітів, пов'язаних з пригніченням утворення молочного жиру (Griinari et al., 1998). Значне зниження продукції молочного жиру спостерігається при згодовуванні раціонів із рибною олією, менш драматичне зниження – при використанні кальцієвих солей рослинних жирів. На противагу, використання насіння олійних рослин, в тому числі, обробленого для забезпечення кращої доступності жиру в рубці, створює ефективніші умови для рубцевого біогідрогенування ПНЖК, завдяки чому уникається небажаний ефект на рубцеву мікрофлору. Тобто досягається компроміс між продукцією молочного жиру і його жирнокислотним складом.

Література до розділу 3

- AbuGhazaleh A. A., Schingoethe D. J., Hippen A.R., & Kalsheur K. F. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 944–953.
- AbuGhazaleh A. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., & Kalsheur K. F. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 1758–1766.
- AbuGhazaleh A. A., Apgar G., & Jacobson B. The effect of docosahexaenoic acid on the production of vaccenic acid and conjugated linoleic acid from unsaturated C₁₈ fatty acids in rumen cultures. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88 (Suppl.1). P. 180.
- AbuGhazaleh A. A., & Holmes L. D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2897–2904.
- Aigster A., Sims C., Schmidt R., & O'Keefe S. F. Comparison of cheeses made from milk having normal and high oleic fatty acid composition. *J. Food Sci*, 2000. Vol. 65. P. 920–924.
- Aldrich C. G., Merchen N. R., Drackley J. K., Fahey G. C., Jr., & Berger L. L. The effects of chemical treatment of whole canola seed on intake, nutrient digestibilities, milk production, and milk fatty acids of Holstein cows. *J. Anim. Sci*, 1997. Vol. 75. P. 512–521.
- Allred S. L., Dhiman T. R., Brennand C. P., Khanal R. C., McMahon D. J., & Luchini N. D. Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 234–248.
- Ashes J. R., Gulati S. K., & Scott T. W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 2204–2212.

- Auldist M. J., Walsh B. J., & Thomson N. A. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 65. P. 401–411.
- Baer R. J., Ryali J., Schingoethe D. J., Kasperson K. M., Donovan D. C., Hippen A. R., & Franklin S. T. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 345–353.
- Banks W., Clapperton J. L., & Ferrie M. E. Effect of feeding fat to dairy cows receiving a fat-deficient basal diet. II. Fatty acid composition of the milk fat. *J. Dairy Res.*, 1976. Vol. 43. P. 219–227.
- Banks W., Clapperton J. L., Kelly M. E., Wilson A. G., & Crawford R. J. M. The yield, fatty acid composition and physical properties of milk fat obtained by feeding soya oil to dairy cows. *J. Sci. Food Agric.*, 1980. Vol. 31. P. 368–374.
- Bastin C., Gengler N., & Soyeurt H. Phenotypic and genetic variability of production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon Holstein first-parity cows. *J. Dairy Sci*, 2011. Vol. 94. P. 4152–4163.
- Bauman D. E., Barbano D. M., Dwyer D. A., & Griinary J. M. Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2422–2425.
- Bauman D. E., Baumgard L. H., Corl B. A., & Griinari J. M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci*, 1999.
- Bauman D. E., Corl B. A., Baumgard L. H., & Griinari J. M. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In *Recent Advances in Animal Nutrition*, ed. by Garnsworthy P.C. and Wiseman J. Nottingham, 2001. P. 221–250.
- Bauman D. E., Corl B. A., & Peterson D. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants / In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, by Sebedio J.L., Christie W., Adlof R. Champaign:AOCS Press., 2003. P. 146-173.
- Bauman D. E., & Griinari J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.*, 2003. Vol. 23. P. 203–227.
- Bauman D. E., Tyburczy C., O'Donnel A. M., Lock A. L. Production and use of high foods in human health. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.1). P.429(Abstr.).
- Baumann E., Chouinard P. Y., Lebeuf Y., Rico D. E., & Gervais R. Effect of lipid supplementation on milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99. P. 6311–6323.
- Bayourthe C., Enjalbert F., & Moncoulon R. Effects of different forms of canola oil fatty acids plus canola meal on milk composition and physical properties of butter. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 690–696.

- Bell J. A., Griinari J. M., & Kennelly J. J. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 733–748.
- Belobrajdic D. P., & NcIntosh G. H. Dietary butyrate inhibits NMU–induced mammary cancer in rats. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2000. Vol. 36. P. 37–47.
- Benbrook C. M., Davis D. R., Heins B. J., Latif M. A., Leifert C., Peterman L., Butler G., Faergeman O., Abel-Caines S., & M. Baranski. Enhancing the fatty acid profile of milk through forage-based rations, with nutrition modeling of diet outcomes. *Food Sci. Nutr.*, 2018. Vol. 6. P. 681–700.
- Bernard L., Bonnet M., Delavaud C., Delosiere M., Ferlay A., Fougere H., Graulet B. Milk fat globule in ruminant: Major and minor compounds, nutritional regulation and differences among species. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2018, Vol. 120.
- Bilal G., Cue R. I., Mustafa A. F., & Hayes J. F. Short communication: Genetic parameters of individual fatty acids in milk of Canadian Holsteins. *J. Dairy Sci*, 2014. Vol. 97. P. 1150–1156.
- Bobbe G., Zimmerman S., Hammond E. G., Freeman A. E., Porter P. A., Luhman C. M., & Beitz D. C. Butter composition and texture from cows with different milk fatty acid compositions fed fish oil or roasted soybeans. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2596–3603.
- Bocquier F., & Caja G. Production et composition du lait de brebis: Effets de l'alimentation. *INRA Prod. Anim.*, 2001. Vol. 14. P. 129–140.
- Brito A. F., Soder K. J., Chouinard P. Y., Reis S. F., Ross S., Rubano M. D., & Casler M. D. Production performance and milk fatty acid profile in grazing dairy cows offered ground corn or liquid molasses as the sole supplemental nonstructural carbohydrate source. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 8146–8160.
- Buitenhuis B., Janss L. L., Poulsen N. A., Larsen L. B., Larsen M. K., & Sørensen P. Genome-wide association and biological pathway analysis for milk-fat composition in Danish Holstein and Danish Jersey cattle. *BMC Genomics*, 2014. Vol. 15. P. 1112.
- Cant J. P., Freeden A. H., MacIntyre R.M., Gunn J., & Crowe N. Effect of fish oil and monensin on milk fat composition in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci*, 1997. Vol. 77. P. 125–131.
- Castellani F., Vitali A., Bernardi N., Marone E., Palazzo F., Grotta L., & Martino G. Dietary supplementation with dried olive pomace in dairy cows modifies the composition of fatty acids and the aromatic profile in milk and related cheese. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 8658–8669.

- Chelikani P. K., Glimm D. R., Keisler D. H., & Kennelly J. J. Effects of feeding or abomasal of canola oil in Holstein cows. 2. Gene expression and plasma concentration of cholecystokinin and leptin. *J. Dairy Res.*, 2004. Vol. 71. P. 288–296.
- Chichlowski M. W., Schroeder J. W., Park C. S., Keller W. L., & Schimek D. E. Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 3084–3094.
- Chilliard Y., Gagliostro G., Flechet J., Lefavre J., & Sebastian I. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. *J. Dairy Sci*, 1991. 74. P. 1844–1854.
- Chilliard Y., Ferlay A., & Doreau M. Effect of different types of forage, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci*, 2001. Vol. 70. P. 31–48.
- Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R., & Doreau M. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 2000. Vol. 49. P. 181–205.
- Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J., & Lamberet G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 1751–1770.
- Chouinard P. Y., Corneau L., Butler W. R., Chilliard Y., Drackley J. K., & Bauman D. E. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 680–690.
- Chouinard P. Y., Girard V., & Brisson G. J. Lactational response of cows to different concentrations of calcium salts of canola oil fatty acids with or without bicarbonates. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 1185–1193.
- Chouinard P. Y., Levesque J., Girard V., & Brisson G. J. Dietary soybean extruded at different temperatures: Milk composition and in situ fatty acid reactins. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 2913–2924.
- Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E. G., Luhman C. M., Boylstone T. D., Freeman A. E., & Beitz D. C. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. *J. Agric. Food Chem.*, 2004. Vol. 52. P. 3422–3428.
- Coakley M., Barrett E., Murphy J. J., Ross R. P., Devery R., & Stanton C. Cheese manufacture with milk with elevated conjugated linoleic acid levels caused by dietary manipulation. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2919–2927.

- Couvreur S., Hurtaud C., Lopez C., Delaby L., & Peyraud J. L. The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 1956–1969.
- Cruz-Hernandez C., Kramer J. K. G., Kennelly J. J., Glimm D. R., Sorensen B. M., Okine E. K., Goonewardene L. A., & Weselake R. J. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 3786–3801.
- Delbecchi L., Ahnadi C. E., Kennelly J. J., & Lacasse P. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 1375–1381.
- DePeters E. J., Medrano J. F., & Reed B. A. Fatty acid composition of milk fat from three breeds of dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci*, 1995. Vol. 75. P. 267–269.
- Dewhurst R. J., Shingfield K. J., Lee M. R., & Scollan N. D. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2006. Vol. 131. P. 168–206.
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., Galli M. P., Albright K., & Tolosa M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1016–1027.
- Dhiman T. R. [et al.]. Dietary fats, prostaglandins and hormones. [Online Resources]. <http://www.weightrailer.net/nutritionfats2/html>. (10.10.09).
- Dhiman T. R., Anand G. R., Satter L. D., & Pariza M. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci*, 1996. Vol. 79 (Suppl.). P. 137 (Abstr.).
- Dhiman T. R., Anand G. R., Satter L. D., & Pariza M. W. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 2146–2156.
- Dhiman T. R., Helmink E. D., McMahon D. J., Fife R. L., & Pariza M. W. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 412–419.
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., Galli M. P., Albright K., & Tolosa M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1016–1027.
- Dohme F., Fievez V., Raes K., & Demeyer D. I. Increasing levels of two different fish oils lower ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in vitro. *Anim. Res.*, 2003. Vol. 52. P. 309–320.

- Donovan D. C., Schingoethe D. J., Baer R. J., Ryali J., Hippen A. R., & Franklin S. T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2620–2628.
- Du Z., Hemken R. W., & Harmon R. J. Copper metabolism of Holstein and Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate. *J. Dairy Sci*, 1996. Vol. 79. P. 1873–1880.
- Duchemin S., Bovenhuis H., Stoop W. M., Bouwman A. C., van Arendonk J. A. M., & Visker M. H. P. W. Genetic correlation between composition of bovine milk fat in winter and summer, and *DGATI* and *SCD1* by season interactions. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 592–604.
- Duffield T. F., & Bagg R. N. Use of ionophores in lactating dairy cattle: A review. *Can. Vet. J.*, 2000. Vol. 41. P. 388–394.
- Fellner V., Sauer F. D., & Kramer J. K. G. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through fermenters. *J. Dairy Sci*, 1997. Vol. 80. P. 921–928.
- Ferlay A., Doreau M., Martin C., & Chilliard Y. Effects of incremental amounts of extruded linseed on the milk fatty acid composition of dairy cows receiving hay or corn silage. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 6577–6595.
- Fernandez M. L., & West K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J. Nutr.*, 2005. Vol. 135. P. 2075–2078.
- Feussner I., & Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002. Vol. 53. P. 275–297.
- Fievez, V., Colman E., Castro-Montoya J. M., Stefanov I., & Vlaeminck B. Milk odd- and branched-chain fatty acids as bio-markers of rumen function—An update. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2012. Vol. 172 P. 51–65.
- Franklin S. T., Martin K. R., Baer R. J., & Schingoethe D. J. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic acid, docosahexanoic acid, and transvaccenic acid of milk in dairy cows. *J. Nutr.*, 1999. Vol. 129. P. 2048–2054.
- Glasser F., Ferlay A., Doreau M., Schmidely P., Sauvant D., & Chilliard Y. Long-Chain fatty acid metabolism in dairy cows: A meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *J. Dairy Sci*, 2008a. Vol. 91. P. 2771–2785.
- Glasser F., Ferlay A., & Chilliard Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. *J. Dairy Sci*, 2008b. Vol. 91. P. 4687–4703.

- Griinari J. M., Corl B. A., Lacy S. H., Chouinard P. Y., Nurmela K. V., & Bauman D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 2285–2291.
- Griinari J. M., Dwyer D. A., McGuire M. A., Bauman D. E., Palmquist D. L., & Nurmela K. V. V. trans-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 1251–1261.
- Grummer R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 3244–3257.
- Hafla, A. N., Soder K. J., Brito A. F., Kersbergen R., Benson A. F., Darby H. M., Rubano M. D., & Reis S. F. Case study: Feed-ing strategy and pasture quality relative to nutrient requirements of dairy cows in the northeastern United States. *Prof. Anim. Sci*, 2016. Vol. 32 P. 523–530.
- Hagemeister H., Precht D., Frannen M., & Barth C. A. α -Linoleic acid transfer into milk fat and its elongation by cows. *Fett Wiss. Technol.*, 1991. Vol. 93. P. 387–391.
- Hanuš O., Samková E., Křížová L., Hasoňová L., & Kala R. Role of Fatty Acids in Milk Fat and the Influence of Selected Factors on Their Variability—A Review. *Molecules*, 2018. Vol. 23. P. 1636.
- Hansen H. O., Grunnet I., & Knudsen J. Triacylglycerol synthesis in goat mammary gland. Factors influencing the esterification of fatty acid synthesized de novo. *Biochem J.*, 1984. Vol. 220. P. 521–527.
- Harfoot C. G., Noble R. C., & Moore J. H. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms in vitro. *J. Sci. Food Agric.*, 1973. Vol. 24. P. 961–970.
- Hermansen J. E., Jonsbo F., Andersen J. O., Michaelsen K. F., & Weisbjerg M. R. On the transfer of gamma-linolenic acid into milk-fat and its possible elongation to arachidonic acid by cows. *Milchwissenschaft*, 1995. Vol. 50. P. 3–6.
- Isenberg B. J., Soder K. J., Pereira A. B. D., Standish R., & Brito A. F. Production, milk fatty acid profile, and nutrient utilization in grazing dairy cows supplemented with ground flaxseed. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 1294–1311.
- Jahreis G., Fritsche J., & Steinhart H. Monthly variations of milk composition with special regard to fatty acids depending on season and farm management systems- Conventional versus ecological. *Fett/Lipid*, 1996. Vol. 98. P. 356–369.
- Jenkins T. C. fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamide or canola oil. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 794–800.
- Jenkins T. C., & McGuire M. A. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 1302–1310.

- Jensen R. Invited review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to december 2000. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 295–350.
- Johnson K. A. Kincaid R. L., Westberg H. H., Gaskins C. T., Lamb B. K., & Cronrath J. D. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 1509–1515.
- Kay J. K., Weber W. J., Chester-Jones H., Hansen L., Bauman D. E., Crooker B. A., & Baumgard L. H. Effects of genetic selection for milk yield and stage of lactation on milk fatty acid profiles. *FASEB J.*, 2004. Vol. 18. P. A682.
- Kalsheur K. F., Hippen A. R., & Schingoethe D. J. Milk fatty acid composition and lactation performance of cows fed linseed oil or fish oil in combination with sunflower seeds. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. (Suppl.1). P. 337.
- Kelsey J. A., Corl B. A., Collier R. J., & Bauman D. E. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 2588–2597.
- Kelly M. L., Berry J. R. Dwyer D. A., Griinary J. M., Choinrad P. Y., VanAmburgh M. E., & Bauman D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998. Vol. 128. P. 881–885.
- Kemp P., & Lander D. J. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 1984. Vol. 130. P. 527–533.
- Kennelly J. J., Robinson B., & Khorasani G. R. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early-lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 2486–2496.
- Khiaosa-ard R., Kreuzer M., & Leiber F. Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: A meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98 P. 6399–6414.
- Kim E. J., Sanderson R., Dhanoa M. S., & Dewhurst R. J. Fatty acid profiles associated with microbial colonization of freshly-ingested grass and rumen biohydrogenation. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 3220–3230.
- Kim Y. J., Liu R. H., Rychlik J. L., & Russel J. B. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid. *J. Appl. Microbiol.*, 2002. Vol. 92. P. 976–982.
- Kitessa S. M., Gulati S. K., Ashes J. R., Fleck E., Scott T. W., & Nichols P. D. Utilisation of fish oil in ruminants. II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 2001. Vol. 89. P. 201–208.

- Kraft J., Collomb M., Mockel P., Sieber R., & Jahreis G. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids*, 2003. Vol. 38. P. 657–664.
- Krag K., Poulsen N. A., Larsen M. K., Larsen L. B., Janss L. L., & Buitenhuis B. Genetic parameters for milk fatty acids in Danish Holstein cattle based on SNP markers using a Bayesian approach. *BMC Genet.*, 2013. Vol. 14. P. 79.
- Kramer J. K. G., Cruz-Hernandez C., Deng Z., Zhou J., Jahreis G., & Dugan M. E. R. The analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004. Vol. 79(Suppl.). P. 1137S–1145S.
- Kusonoki M. [et al.] Relationship between serum concentration of saturated fatty acids and unsaturated fatty acids and the homeostasis model insulin resistance index in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Med. Invest.*, 2007. Vol. 54. P. 243–247.
- LaCount D. W., Drackley J. K., Laesch S. O., & Clark J. H. Secretion of oleic acid in milk fat in response to abomasal infusion of canola or high oleic sunflower fatty acids. *J. Dairy Sci*, 1994. Vol. 77. P. 1372–1385.
- Larsen M. K., Hymøller L., Brask-Pedersen D. B., & Weisbjerg M. R. Milk fatty acid composition and production performance of Danish Holstein and Danish Jersey cows fed different amounts of linseed and rapeseed 3569. *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95. P. 3569–3578.
- Lawless F., Murphy J. J., Harrington D., Devery R., & Stanton C. Elevation of conjugated cis-9,trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementatuin. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 3259–3267.
- Lee M. R., Huws S. A., Scollan N. D., & Dewhurst R. J. Effects of fatty acid oxidation products (green odor) on rumen bacterial populations and lipid metabolism in vitro. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 3874–3882.
- Lee M. R. F., Tweed J. K. S., Moloney A .P., & Scollan N. D. The effect of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Anim. Sci*, 2005. Vol. 80. P. 361–367.
- Lock A. L., & Garnswotthy P. C. Independent effects of dietary linoleic acid and linolenic acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Anim. Sci*, 2002. Vol. 74. P. 163–176.
- Lock A. L., Bauman D. E., & Garnsworthy P. C. Short communication: Effect of production variables on the cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content of cows milk. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 2714–2717.
- Loor J. J., Ueda K., Ferlay A., Chilliard Y., & Doreau M. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in

- response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2004b. Vol. 87. P. 2472–2485.
- Loor J. J., Herbein J. H., & Jenkins T. C. Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Anim. Feed Sci Technol.*, 2002b. Vol. 97. P. 65–82.
- Loor J. J., Doreau M., Chrdigny J. M., Ollier A., Sebedio J. L., & Chilliard Y. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005. Vol. 119. P. 227–246.
- Loor J. J., & Herbein J. H. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. Nutr.*, 1998. Vol. 128. P. 2411–2419.
- Lour J. J., Ferlay A., Ollier A., Doreau M., & Chilliard Y. Conjugated linoleic acids (CLA), trans fatty acids, and lipid content in milk from Holstein cows fed a high- or low-fiber diet with two levels of linseed oil. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85(Suppl. 1). P. 1188.
- Lour J. J., & Herbein J. H. Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous trans 10,cis 12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 1354–1369.
- Lopes J. C., Harper M. T., Giallongo F., Oh J., Smith L., Ortega-Perez A. M., Harper S. A., Melgar A., Kniffen D. M., Fabin R. A., & Hristov A. N. Effect of high-oleic-acid soybeans on production performance, milk fatty acid composition, and enteric methane emission in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 1122–1135.
- Mensink R. P., Zock P. L., Kester D. M., & Katan M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003. Vol. 77. P. 1146–1155.
- Moallem U. Invited review: Roles of dietary n-3 fatty acids in performance, milk fat composition, and reproductive and immune systems in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 2018. Vol. 101. P. 8641–8661
- Moallem U. The effects of extruded flaxseed supplementation to high-yielding dairy cows on milk production and milk fatty acid composition. *Anim. Feed Sci, Technol.* 2009. Vol. 152. P. 232–242.
- Moate P. J., Chalupa W., Boston R. C., & Lean I. J. Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 4730–4739.

- Mohamed O. E., Satter L. D., Grummer R. E., & Ehle F. R. Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. *J. Dairy Sci*, 1988. Vol. 71. P. 2677–2688.
- Morales M. Sol, Palmquist D. L., & Weiss W. P. Milk fat composition of Holstein and Jersey cows with control or depleted copper status and fed whole soybeans or tallow. *J Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2112–2119.
- Mosley E. E., Dagger B. S., Moate P.J., & McGuire M. A. Cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. *J. Nutr.*, 2006. Vol. 136. P. 570–575.
- Narayana S. G., Schenkel F. S., Fleming A., Koeck A., Malchiodi F., Jamrozik J., Johnston J., Sargolzaei M., & Miglior F. Genetic analysis of groups of mid-infrared predicted fatty acids in milk *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100 P. 4731–4744.
- Neofytou M. C., Miltiadou D., E. Sfakianaki, Constantinou C., Symeou S., Sparaggis D., Hager-Theodorides A. L., & Tzamaloukas O. The use of ensiled olive cake in the diets of Friesian cows increases beneficial fatty acids in milk and Halloumi cheese and alters the expression of SREBF1 in adipose tissue. *J. Dairy Sci*, 2020. Vol. 103. P. 8998–9011.
- Noakes M., Nestel P. J., & Clifton P. M. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of human consuming the products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996. Vol. 63. P. 42–44.
- Oeffner S. P., Qu Y., Just J., Quezada N., Ramsing E., Keller M., Cherian G., Goddick L., & Bobe G. Effect of flaxseed supplementation rate and processing on the production, fatty acid profile, and texture of milk, butter, and cheese. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96 P. 1177–1188.
- Offer N. W. Effect of cutting and ensiling grass on levels of CLA in bovine milk. *The XIIIth Int. Silage Conf. Auchincruive*, 2002. P. 16–17.
- Onetti S. G., Shaver R. D., McGuire M. A., Palmquist D. L., & Grummer R. R. Effect of supplemental tallow on performance of dairy cows fed diets with different corn silage: alfalfa silage ratios. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 632–641.
- Palmquist D., Beaulieu A. D., & Barbano D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci*, 1993. Vol. 76. P. 1753–1771.
- Palmquist D. L., & Jenkins T. C. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 10061–10077.
- Palmquist D. L. Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. *Advanced of Dairy Chemistry : Volume 2: Lipids / Ed by P. F. Fox and P. L. H. McSweeney*. [3rd ed]. New York : Springer, 2006. P. 43–91.

- Palmquist D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. *J. Dairy Sci*, 1991. Vol. 74. P. 1354–1360.
- Palombo V., Milanese M., Sgorlon S., Capomaccio S., Mele M., Nicolazzi E., Ajmone-Marsan P., Pilla F., Stefanon B., & D'Andrea M. Genome-wide association study of milk fatty acid composition in Italian Simmental and Italian Holstein cows using single nucleotide polymorphism arrays. *J. Dairy Sci*, 2018. Vol. 101. P. 11004–11019.
- Pilarczyk R., Wójcik J., Sablik P., & Czerniak P. Fatty acid profile and health lipid indices in the raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from an organic farm. *S. Afr. J. Anim. Sci*, 2015. Vol. 45. P. 30–38.
- Piperova L. S., Sampugna J., Teter B. B., Kalscheur K. F., Yurawecz M. P., Ku Y., Morehouse K. M., & Erdman R. A. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9 containing CLA in lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 2002. Vol. 132. P. 1235–1241.
- Piperova L. S., Teter B. B., Bruckental I., Sampugna J., Mills S. E., Yurawech M. P., Fritsche J., Ku Y., & Erdman R.A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 2568–2574.
- Poulsen N. A., Gustavsson F., Glantz M., Paulsson M., Larsen L. B., & Larsen M. K. The influence of feed and herd on fatty acid composition in 3 dairy breeds (Danish Holstein, Danish Jer-sey, and Swedish Red). *J. Dairy Sci*, 2012. Vol. 95 P. 6362–6371.
- Peterson D. G., Kelsey J. A., & Bauman D. E. Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2164–2172.
- Rafiee-Yarandi H., Ghorbani G. R., Alikhani M., Sadeghi-Sefidmazgi A., & Drackley J. K. A comparison of the effect of soybeans roasted at different temperatures versus calcium salts of fatty acids on performance and milk fatty acid composition of mid-lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99 P. 5422–5435.
- Reddy P. V., Morrill J. L., & Nagaraja T. G. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. *J. Dairy Sci*, 1994. Vol. 77. P. 3410–3416.
- Rego O. A., Rosa H. J. D., Portugal P. V., Colderio R., Borba A. E. S., Vouzela C. M., & Bessa R. J. B. Influence of dietary fish on conjugated linoleic acid, omega-3

- and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livest. Prod. Sci*, 2005. Vol. 95. P. 27–33.
- Resende T. L., Kraft J., Soder K. J., Pereira A. B. D., Woitschach D. E., Reis R. B., & Brito A. F. Incremental amounts of ground flaxseed decrease milk yield but increase n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids in dairy cows fed high-forage diets. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 4785–4799.
- Romo G. A., Erdman R. A., Teter B. B., Sampugnati J., & Casper D. P. Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with cis or trans fatty acids. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 2609–2619.
- Roy A., Ferlay A., Shingfield K. J., & Chilliard Y. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to plant oils in cows given different basal diets, with particular emphasis on trans-X18:1 fatty acids and isomers of conjugated linoleic acid. *Anim. Sci*, 2006. Vol. 82. P. 479–492.
- Ryhanen E.-L., Tallavaara K., Griinari J. M., Jaakkola S., Mantere-Alhonen S., & Shingfield K. J. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapeseed oil. *Int. Dairy J.*, 2005. Vol. 15. P. 207–217.
- Samková E. Factors Affecting Fatty Acid Composition of Cow's Milk Fat. Doctoral Thesis, University of South Bohemia in Česká Budějovice, Faculty of Agriculture, Česká Budějovice. Czech Republic, 2011. P. 60.
- Santillo A., Caroprese M., Marino R., d'Angelo F., Sevi A., & Albenzio M. Fatty acid profile of milk and Caciocotta cheese from Italian Simmental cows as affected by dietary flaxseed supplementation. *J. Dairy Sci*, 2016. Vol. 99. P. 2545–2551.
- Schmidely P., & Sauvant D. Taux butyreux et composition de la matière grasse du lait chez les petits ruminants: effets de l'apport de matières grasses ou d'aliment concentré. *INRA Prod. Anim.*, 2001. Vol. 14. P. 337–354.
- Scollan N. D., Dhanoa M. S., Choi N. J., Maeng W. J., Enser M., & Wood J. D. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agric. Sci*, 2001. Vol. 136. P. 345–355.
- Shingfield K. J., Ahvenjärvi S., Toivonen V., Arola A., Nurmela K. V. V., Huhtanen P., & Griinari J. M. Effect of fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci*, 2003. Vol. 77. P. 165–179.
- Shingfield K. J., Bonnet M., & Scollan N. D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 2013. Vol. 7. P. 132–162.
- Shingfield K. J., Reynolds C. K., Lupoli B., Toivonen V., Yurawech M. P., Delmonte P., Griinari J. M., Grandison A. S., & Beever D. E. Effect of forage type and

- proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows fed sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci*, 2005. Vol. 80. P. 225–238.
- Shingfield K. L., Reynolds C. K., Hervas G., Griinari L. M., Grandison A. S., & Beever D. E. Examination of the persistency of milk Fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 714–732.
- Smith S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J.*, 1994. Vol. 8. P. 1248–1259.
- Storry J. E., Hall A. J., & Johnson V. W. The effects of increasing amounts of dietary coconut oil on milk-fat secretion in the cow. *J. Dairy Sci*, 1971. Vol. 38. P. 73–77.
- Strobel G.A., Dirkse E., Sears J., & Mackworth C. Volatile antimicrobials from *Muscodora albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 2001. Vol. 147. P. 2934–2950.
- Sun Y., Bu D. P., Wang J. Q., Cui H., Zhao X. W., Xu X. Y., Sun P., & Zhou L. Y. Supplementing different ratios of short- and medium-chain fatty acids to long-chain fatty acids in dairy cows: Changes of milk fat production and milk fatty acids composition. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96 P. 2366–2373.
- Thompson E. H., Allen C. E., Meade R. J. Influence of copper on stearic acid desaturation and fatty acid composition in the pig. *J. Anim. Sci*, 1973. Vol. 36. P. 868–873.
- Till B. E., Huntington J. A., Posri W., Early R., Taylor-Pickard J., & Sinclair L. A. Influence of rate of inclusion of microalgae on the sensory characteristics and fatty acid composition of cheese and performance of dairy cows 10934. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 10934–10946.
- Tsisaryk O. Milk productivity and its technological characteristics under usage of rapeseed in dairy cow diets. *Zeszyty naukowe Przeglądu hodowlanego*. Warszawa, 2004. Vol. 74. P. 193–200.
- Tsisaryk O. Effect of feeding rapeseeds on lactation performance in dairy cows and oxidative stability of milk and butter. *J. Dairy Sci*. 2009. 92 (Suppl. 1). P. 460.
- Tymchuk S. M., Khorasani G. R., & Kennelly J. J. Effect of feeding formaldehyde- and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. *Can. J. Anim. Sci*, 1998. Vol. 78. P. 693–700.
- Ulbricht T. L. V., & Southgate D. A. T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 1991. Vol. 338. P. 985–992.

- Vazquez-Anon M., Andrews J., Webster T., & Jenkins T. Effects of feeding fat supplemented with antioxidant AGRADO on rumen nutrient digestibility and protein synthesis. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89 (Suppl. 1). P. 406.
- Ward A. T., Wittenberg K. M., & Przybylski R. Bovine milk fatty acid profiles produced by feeding diets containing solin, flax and canola. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 1191–1196.
- Wasowska I., Maia M. R. G., Niedzwiedzka K. M., Czauderna M., & Ramalho Ribeiro J. M. C., Devillard E., Shingfield K. J., & Wallace R. J. Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 2006. Vol. 95. P. 1199–1211.
- Whitlock L. A., Schingoethe D. J., Hippen A. R., Kalsheur R., Baer J., Ramaswamy N., & Kasperson K. M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 234–243.
- Zachut, M., Dekel I., Lehrer H., Arieli A., Arav A., Livshitz L., Yakoby S., & Moallem U. Effects of dietary fats differing in n-6:n-3 ratio fed to high-yielding dairy cows on fatty acid composition of ovarian compartments, follicular status, and oocyte quality. *J. Dairy Sci*, 2010. Vol. 93. P. 529–545.
- Вудмаска І. В. Метаболізм у рубці та його вплив на жирнокислотний склад ліпідів молока корів за різного вуглеводного і ліпідного складу раціону : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. с.-г. наук : спец. 03.00.04 «Біохімія», Львів. 2008. 32 с.
- Цісарик О. Й. а Моделювання складу жирних кислот молочного жиру корів шляхом згодовування насіння ріпаку. *Наук.-техн. бюл. Інституту тваринництва УААН*, 2009. Вип. 100. С. 481–490.
- Цісарик О. Й. б Оксидантна стабільність масла, виготовленого із молока корів при згодовуванні їм насіння ріпаку. *Вісник Донецького національного університету економіки і торгівлі імені Михайла Туган-Барановського*, 2009. № 1 (41). С. 206–211.
- Цісарик О. Й. в Оксидантний стан організму та чутливість молока до окиснення при згодовуванні високопродуктивним коровам насіння ріпаку. *Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин УААН і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*, 2009. Вип. 10, № 1–2. С. 219–228.
- Цісарик О. Й. а Обмін речовин та біохімічний склад молока у корів при згодовуванні насіння ріпаку: автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : 03.00.04; Нац. акад. аграр. наук України ; Ін-т біології тварин. Львів, 2010. 33 с.

Цісарик О. Й. б Патент України на корисну модель № u 2009 1056. Спосіб моделювання складу жирних кислот молочного жиру у високопродуктивних корів; заявник і власник патенту Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Заявл. 16.10.2009, позитивне рішення 23.02.2010.

Цісарик О. Й. в Підвищення біологічної цінності молочного жиру шляхом використання в годівлі корів ліпідних добавок. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Львів, 2010. Т.12. №3(45). Ч.4. С. 89–106.

РОЗДІЛ 4

КОМПОНЕНТИ ЛІПІДІВ МОЛОКА З ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

4.1. Вплив молочних ліпідів на здоров'я людини

Ліпіди загалом і жирні кислоти відіграють ключову роль у життєдіяльності клітин, зокрема і організму в цілому. Ліпіди є важливим енергетичним субстратом, структурними компонентами біологічних мембран, забезпечують їх належну плинність, беруть участь у реакціях екзо- і ендоцитозу, забезпечують перебіг мембранозв'язаних реакцій, зокрема сигнальної трансдукції, є регуляторами експресії генів; попередниками багатьох біологічно активних речовин. Таким чином, вони впливають на усі ланки життєдіяльності – метаболізм ліпідів, вуглеводів, білків, на ріст і диференціацію клітин (Гула & Маргітич, 2009).

Розуміння значення ліпідів постійно розширюється завдяки значному прогресу у вивченні їх ролі. До 1990 р. вважали, що дія екзогенних ліпідів є другорядною порівняно з впливом фосфоліпідів клітинних мембран на функціональні властивості і синтез ейкозаноїдів. Проте на початку 1990-х років майже одночасно в двох лабораторіях незалежно одна від одної було відкрито ядерні рецептори, що активуються пероксисомальними проліфераторами (PPAR) та їх ендogenous ліганди (Issemann, Green, 1990; Gottlicher et al., 1992). Стало зрозуміло, що жирні кислоти та їх метаболіти можуть діяти подібно до гормонів, контролюючи активність і наявність специфічних факторів транскрипції. Однак, лише через дію на PPAR неможливо пояснити усі впливи жирних кислот на геном. Пізніше було відкрито низку інших факторів транскрипції, через які жирні кислоти діють на генетичний апарат клітини. Геномні ефекти жирних кислот залежать від якісного і кількісного складу жирних кислот, що надійшли в клітину (Цит. Гула & Маргітич, 2009).

Щодо споживання молочних жирів триває дискусія про можливу шкоду для здоров'я, пов'язану, насамперед, із високим вмістом середньоланцюгових насичених жирних кислот, які спричиняють коронарно-серцеві захворювання. Існують суперечливі дані щодо зв'язку між споживанням молочних продуктів і виникненням коронарно-серцевих захворювань. Аналізуючи епідеміологічні результати, Мосс і Фрід показали, що смертність від коронарно-серцевих захворювань в окремих країнах позитивно корелює із рівнем споживання в них молока. Однак, вони прийшли до висновку, що причина цих захворювань пов'язана з нежировою фракцією молока, а саме із протеїнами мембран жирових

кульок. Це твердження базувалось на факті наявності антитіл в крові проти білків мембран жирових кульок коров'ячого молока, які зв'язуються із цими жировими кульками але не з жировими кульками жіночого молока (Moss & Freed, 2003). Однак, імунологічні експерименти, на результати яких опирались ці дослідники, на думку Спітцберга, викликають багато зауважень і не можуть бути сприйняті достатньо переконливо (Spitsberg, 2005). Крім того, подальші дослідження показали відсутність зв'язку між споживанням коров'ячого молока і факторами ризику кардіоваскулярних захворювань чи зростання ризику гострого інфаркту міокарда (Warensjo et al., 2004).

Зараз положення щодо шкідливості молочного жиру критично оцінюється на підставі того, що більшість досліджень, здійснених в цьому напрямі, є вибірково індивідуальними. Схильність до кардіоваскулярних захворювань генетично детермінована, до того ж, людина споживає багато інших жирів, крім молочних, а тому твердження, що саме молочні жири спричиняють ці захворювання, очевидно, є перебільшенням (Miller et al., 1999; Warensjo et al., 2004).

Нещодавні повідомлення засвідчують, що споживання молочного жиру здійснює або нейтральний або позитивний вплив на здоров'я людини (Labonté et al., 2013). Наприклад, у роботі Нестела повідомляється, що при споживанні дієти, багаті на молочні жири (250 мл молока, 200 г йогурту, 30 г масла, 40 г сиру і 50 г морозива), зростання рівня лізо-фосфатидилхоліну у плазмі крові позитивно корелює із чутливістю до інсуліну і негативно до інсулінової резистентності (Nestel, 2012).

Для диференціювання жирів, які споживає людина, існують певні маркери, зокрема, для молочних жирів таким маркером є вміст пентадеканової кислоти у ліпідах сироватки крові (Snedman et al., 1999). Це може слугувати вагомим чинником детальнішої ідентифікації причин виникнення захворювань.

В дослідженнях, проведених на людях віком від 55 до 85 років, які споживали щодня три порції (по 280 мл) 1% молока, встановлено позитивний вплив на їхнє здоров'я. Зокрема, при цьому в крові не змінюється рівень ліпопротеїнів низької щільності, співвідношення концентрації загального холестеролу і ліпопротеїнів низької щільності, рівень ТАГ підвищується, однак залишається в межах фізіологічної норми (Barr et al., 2000).

Про попередження багатьох захворювань на тлі вживання молока повідомляється в роботах (German et al., 2009; Siri-Tarino et al., 2010; Kuhnt et al., 2016). Більше того, епідеміологічними дослідженнями встановлено, що споживання молочних продуктів перебуває в оберненій залежності до частоти

виникнення захворювань, викликаних запальними процесами, зокрема, серцево-судинних (Alexander et al., 2016), метаболічного синдрому (Chen et al., 2015), діабету 2 типу (Chen et al., 2014) і раку (Larsson et al., 2015).

Переконаливо показано, що споживання дорослими 14 порцій молочних продуктів на тиждень вірогідно знижує рівень таких прозапальних маркерів як С-реактивний протеїн, ІЛ-6, TNF- α на 29, 9 і 20%, відповідно, порівняно із споживанням менше 8 порцій (Panagiotakos et al., 2010). Така обернена залежність між споживанням молочних продуктів і рівнем інфламаторних факторів у здорових дорослих людей вказує, що молочні продукти можуть бути захистом від хронічних запальних захворювань.

Показано, що високожирні дієти, які містять полярні молочні ліпіди, у мишей не індукують гіпертрофії білої жирової тканини і мРНК маркерів запалення на відмінну від дієт, в які включені соєві полярні ліпіди (лецитин) в аналогічних кількостях (Lecomte et al., 2016).

Клінічними дослідженнями доведено, що споживання ліпідів молока корів, кіз і овець має значну нутріцевтичну цінність, зокрема завдяки наявності біоактивних ліпідів із антиінфламаторними властивостями (Contarini & Povolò, 2013; Tsorotioti et al., 2014; Poutzalis et al., 2016).

4.1.1. Вплив споживання середньоланцюгових жирних кислот

Споживання молочного жиру довгий час пов'язували із ризиком виникнення кардіоваскулярних захворювань, який пояснюють досить високим вмістом у ньому кислот С12:0, С14:0 і С16:0. Ці кислоти завдяки впливу на рівень сироваткового холестеролу і ліпопротеїнів дуже низької щільності можуть сприяти розвитку атеросклерозу і коронарних тромбозів (Ulbricht & Southgate, 1991).

У 1991 році Грумер визначив, опираючись на рекомендації дієтологів, жирнокислотний склад «ідеального» жиру – 10% поліненасичених, 8% насичених, 82% мононенасичених, і це становить велику відмінність із типовим складом молочного жиру, в якому в середньому міститься 5% поліненасичених, 70% насичених і 25% мононенасичених жирних кислот (Reh et al., 2004), про що зазначалось.

За результатами досліджень Менсінка і співавторів було показано позитивний зв'язок між загальним холестеролом і холестеролом у складі ліпопротеїнів низької щільності та споживанням С12:0, С14:0 і С16:0, а також негативний зв'язок між споживанням С12:0 і співвідношенням загальний холестерол:холестерол у складі ліпопротеїнів високої щільності (Mensink et al.,

2003). Однак, також було встановлено негативний зв'язок між випадками ішемічних захворювань серця і споживанням С14:0 та відсутність такого зв'язку із споживанням С12:0 і С16:0 (Praagman et al., 2016). І одночасно є повідомлення про позитивний зв'язок між споживанням С12:0, С14:0 і особливо С16:0 і ризиком коронарно-серцевих захворювань (Zong et al., 2016).

На противагу до середньоланцюгових жирних кислот, кислоти С18:0 і С18:1 здійснюють або нейтральний або позитивний вплив на рівень холестеролу в плазмі крові (Woodside & Kromhout, 2005). Було показано, що зміна жирнокислотного профілю молочних продуктів в напрямі підвищення вмісту цих кислот репрезентує потенційну стратегію до зниження ризику коронарних захворювань без додаткових змін у дієтах споживачів (Noakes et al., 1996).

4.1.2. Вплив транс-ізомерів жирних кислот молочного жиру

Крім середньоланцюгових насичених жирних кислот ще одним стримуючим чинником споживання молочного жиру є наявність транс-ізомерів жирних кислот. Транс-ізомери жирних кислот у багатьох споживачів асоціюються із ризиками для здоров'я, зокрема, захворюваннями серця (Achman, 2000).

Уперше взаємозв'язок між споживанням транс-ізомерів жирних кислот і ризиком серцевих захворювань було встановлено Вайлетом (Willett et al., 1993). Клінічними дослідженнями показано, що транс- С18:1 ізомери можуть підвищувати рівень холестерол-ліпопротеїнів низької щільності і знижувати вміст холестерол-ліпопротеїнів високої щільності (Mensink & Katan, 1993). Однак, при цьому не було враховано, що джерелом більшості транс-ізомерів є гідрогенізовані рослинні жири (маргарини), жирні кислоти яких мають інший позиційний профіль (в основному, транс-9 – елаїдинова кислота), порівнюючи з молочними ліпідами, в яких істотно переважає транс-11 – ВК або цис-9, транс-11 КЛК – РК. Природно синтезовані в рубці жуйних транс-ізомери називаються рубцевими. Реакція гідрування при виробництві маргаринів протікає під тиском у присутності каталізаторів на основі нікелю, платини чи палладію, і як побічні реакції відбуваються явища ізомеризації, які впливають як на позиційну, так і на просторову ізомерію (Тепел, 1978). Тобто, промислово отримані транс- ізомери і транс-ізомери, синтезовані в рубці жуйних, відрізняються місцем розташування подвійного зв'язку, чим спричинено істотну відмінність у фізіологічних впливах. Промислово отримані транс-ізомери називаються індустріальними. Високий вміст індустріальних транс-ізомерів характерний для маргарину, так в м'якому

маргарині їхній вміст становить від 7 до 35%, а в твердому – від 25 до 42% (Ratnayake & Pelletier, 1992).

Транс-форма характеризується більшою симетрією, кислоти у транс-формі мають менший запас енергії, порівнюючи із відповідниками у цис-формі, тому вони є стабільнішими. Жирна кислота транс-9 С18:1 при кімнатній температурі є твердою, температура її плавлення 44°C на відміну від цис-9 С18:1, температура плавлення якої становить 14°C.

Спрямованість дії окремих позиційних транс-ізомерів залежить від місця розташування подвійного зв'язку, що є предметом активного вивчення в останні роки. Наприклад, було досліджено в умовах *in vitro* ефект транс-9, 11 і 13 С18:1 жирних кислот на ліпогенез 3Т3-L1 адипоцитів (Vahmani et al., 2015). Встановлено, що лише транс-9 ізомер підвищує вміст жирних кислот у клітинах і експресію ліпогенних генів (ацетил-СоА карбоксилази, синтази жирних кислот, елонгази жирних кислот і SCD), тоді як транс-11 і транс-13 ізомери не проявляють такого ефекту. Крім того, у культурі клітин печінки транс-9 і транс-10 С18:1 підвищують рівень ТАГ і естерифікованого холестеролу порівняно з транс-11, транс-14 і транс-15 ізомерами (Vahmani et al., 2017). У цій роботі також встановлено, що транс-6, транс-9 і транс-10 ізомери підвищують експресію генів, пов'язаних із синтезом жирних кислот і холестеролу. Більшість транс-ізомерів молочних ліпідів включаються у ТАГ у позиціях 1, 3, тоді як у індустріальних – у позиції 2 (Hu et al., 2017).

У багатьох роботах підтверджено також негативний для здоров'я людини ефект споживання підвищених доз транс-10, цис-12 С18:2, це, зокрема, стосується і комерційного препарату КЛК, в якому біля половини становить ця ізомерна форма (Larsen et al., 2003; Tricon et al., 2004; Kuhnt et al., 2016). Важливо відзначити, що жир жуйних містить лише сліди транс-10, цис-12 ізомерної форми. Основні транс-ізомери молочного жиру – це транс-11 позиційні ізомери. Це пояснює значні відмінності споживання продуктів із різним ізомерним профілем жирних кислот – ізомерів природного походження та ізомерів, які утворюються під час технологічних процесів у результатах епідеміологічних досліджень впливу на серцево-судинні захворювання (Weggemans et al., 2004; Lock et al., 2005; Bauman et al., 2007).

У нещодавньому дослідженні вивчався вплив 1,3-олеїн-2-елаїдину (що репрезентує ТАГ, отриманий індустріально) і 1-вакценік-2,3-олеїну (що репрезентує ТАГ молочних продуктів) на ендотеліальні клітини пупкової вени людини. Встановлено, що швидкість поглинання 1,3-олеїн-2-елаїдину ендотеліальними клітинами була значно більшою, ніж 1-вакценік-2,3-олеїну. На

основі аналізу фосфоліпідоміки виявлено, що кальцій-незалежна фосфоліпаза A2 (iPLA2) відіграє ключову роль щодо опосередкованого 1-вакценік-2,3-олеїном шляху «арахідонова кислота-циклооксигеназа-простагландин (ARA / COX-2 / PG)», тоді як секреторна фосфоліпаза A2 (sPLA2) та цитоплазматична фосфоліпаза A2 (cPLA2) відповідає за опосередкований 1,3-олеїн-2-елаїдином шлях «ARA / COX-2 / PG». Більше того, 1,3-олеїн-2-елаїдин мав більший вплив на експресію білка COX-2 та секрецію PG, ніж 1-вакценік-2,3-олеїн (Meng et al., 2021). Такі відмінності є причиною різностороннього впливу індустриальних ТАГ і рубцевих ТАГ на ендотеліальні клітини. Автори запропонували механізм дії транс-ізомерів. Спочатку 1,3-олеїн-2-елаїдин та 1-вакценік-2,3-олеїн впливають на склад мембранних фосфоліпідів та регулюють експресію PLA2. PLA2 гідролізує мембранні фосфоліпіди для вивільнення ARA та опосередковує її метаболічний шлях. PLA2 впливає на експресію COX-2, цитохром P450 4A (CYP4A11) та 5 ліпоксигенази (5-LOX) і стимулює COX-2 для каталізу утворення PGE2 та PGF2 α з ARA. Одночасно PLA2 також стимулює експресію запальних цитокінів. Це перше повідомлення, яке пояснює позиційний розподіл транс- жирних кислот у ТАГ молочного жиру жуйних тварин для вивчення їх впливу на функцію ендотеліальних клітин.

Щодо транс-ізомерів природного походження, то важливо підкреслити, що найбільш важливим аргументом може слугувати факт, що людина споживає транс-ізомери жирних кислот у складі молочних ліпідів тисячоліттями – із часів одомашнення великої рогатої худоби та використання коров'ячого молока як харчового продукту. Відповідно, наша метаболічна система позитивно налаштована на присутність позиційних транс-ізомерів, які утворюються під час рубцевої ферментації (Achman, 2000).

Рівень споживання транс-ізомерів жирних кислот варіює в широких межах, однак, наприклад, згідно з даними Аллінсона і співавторів індивідуальне споживання їх у США становить 5,3 г/добу, що становить 7,4% від загального спожитого жиру, і з них лише 15-20% припадає на транс- ізомери молочного походження (Allinson et al., 1999). Діманом і співавторами встановлено, що вміст загальних транс-ізомерів (C16:1 і C18:1) становить 4,52-5,31% від загальних жирних кислот в молочних продуктах різних груп (молоко, масло, вершки, сири) у США (Dhiman et al., 2007). Середні дані щодо вмісту загальних транс-ізомерів в ліпідах молока за результатами аналізів в 14 європейських країнах приводить у своєму огляді Дженсен (Jensen, 2002), вони становлять в середньому від 3,65 до 6,66 із діапазоном коливань від 1,71 до 8,70 г/100 г жирних кислот.

Цікавими для нас є дані досліджень транс-ізомерів жирних кислот в молоці Дзегарської і співавторів, проведені в Польщі (Zegarska et al., 1996). Зокрема авторами встановлено, що вміст загальних транс-ізомерів становить 1,83 і 5,73%, зокрема 10+11 транс-С 18:1 – 0,91 і 3,69%, відповідно в стійловий і пасовищний періоди. Прехтом і співавторами було показано, що головним транс-ізомером молочних ліпідів є транс-11 С18:1 у трьох видів жуйних незалежно від сезону року (Precht et al., 2001). Новіші дані про вміст транс-ізомерів приводить у згаданому вже огляді Моуейт (Moate et al., 2007). За результатами досліджень, головним транс- С18:1 ізомером є транс-11 із середнім значенням його вмісту 33,3 мг/г жирних кислот (90 дослідів), для порівняння середня кількість транс-10 становить 13,1 мг/г (30 дослідів), а загальних транс-ізомерів С18:1 – 42,5 мг/г (94 дослідів). Тобто, частка транс-11 ізомеру є понад 78%. Домінуючим транс-ізомером серед С18:2 є цис-9, транс-11, його вміст становить 10,2 мг/г (76 дослідів), тоді як вміст транс-10, цис-12 і цис-11, транс-12 – 0,4 мг/г обидва (35 і 6 дослідів, відповідно). Таким чином, можна з впевненістю констатувати безпечність для здоров'я людини транс-ізомерів жирних кислот, джерелом яких є молочні ліпіди. Про сприятливі для здоров'я їх властивості – далі.

З часу, коли відкрито функціональні властивості мінорних компонентів молочного жиру, увага науковців сфокусована на всебічному вивченні впливу цих компонентів на здоров'я людини і, звичайно, на підвищенні їхнього вмісту в молоці. Ці відкриття послугували також потужним поштовхом до перегляду стереотипів минулих років щодо негативного впливу молочного жиру на здоров'я людини.

Унікальні компоненти молока, такі, які присутні лише в молоці жуйних, наприклад, цис-9, транс-11 С18:2, транс-11 С18:1, коротколанцюгові та розгалужені жирні кислоти наділені функціональними властивостями. Особлива увага прикута до РК – цис-9, транс-11 С18:2, початок цьому дало відкриття антимуtagenних її властивостей (Pariza et al., 1979; Ha et al., 1987).

Нині встановлено, що РК проявляє ефективну дію при таких захворюваннях: раку, атеросклерозі, діабеті, імунодефіциті, демінералізації кісток, ожирінні (Houseknecht et al., 1998; Yang et al., 2015). Тому, одним із найбільш актуальних напрямів досліджень у галузі біохімії молока і фізіології лактації є пошук шляхів збагачення молока РК, а також її попередником – ВК, а саме, вивченню механізмів її утворення в рубці, дослідженню факторів, що зумовлюють максимальне надходження до дуоденуму, абсорбцію в тонкому кишечнику, поглинання тканинами молочної залози, десатурацію ВК та включення в молочні ліпіди (Dhiman et al., 2000; Chouinard et al., 2001; Zheng et

al., 2005; Shingfield et al., 2006; Bauman et al., 2006; Abu Ghazaleh & Buckles, 2007; Abu Ghazaleh & Holmes, 2007).

4.2. Джерела і фізіологічна роль рубцевої кислоти

РК належить до кон'югованих жирних кислот. Кон'югована лінолева кислота є групою кон'югованих октадієнів з подвійними зв'язками переважно в положеннях 9 і 11 або 10 і 12, рідше зустрічаються інші позиційні ізомери (7-9, 8-10, 11-13). Кожен зв'язок може бути у конфігурації цис- або транс-, однак у складі молочних ліпідів кількісно домінує один ізомер – цис-9, транс-11 (80-90% усіх кон'югованих дієнів) (Dhiman et al., 2000; Jensen, 2002).

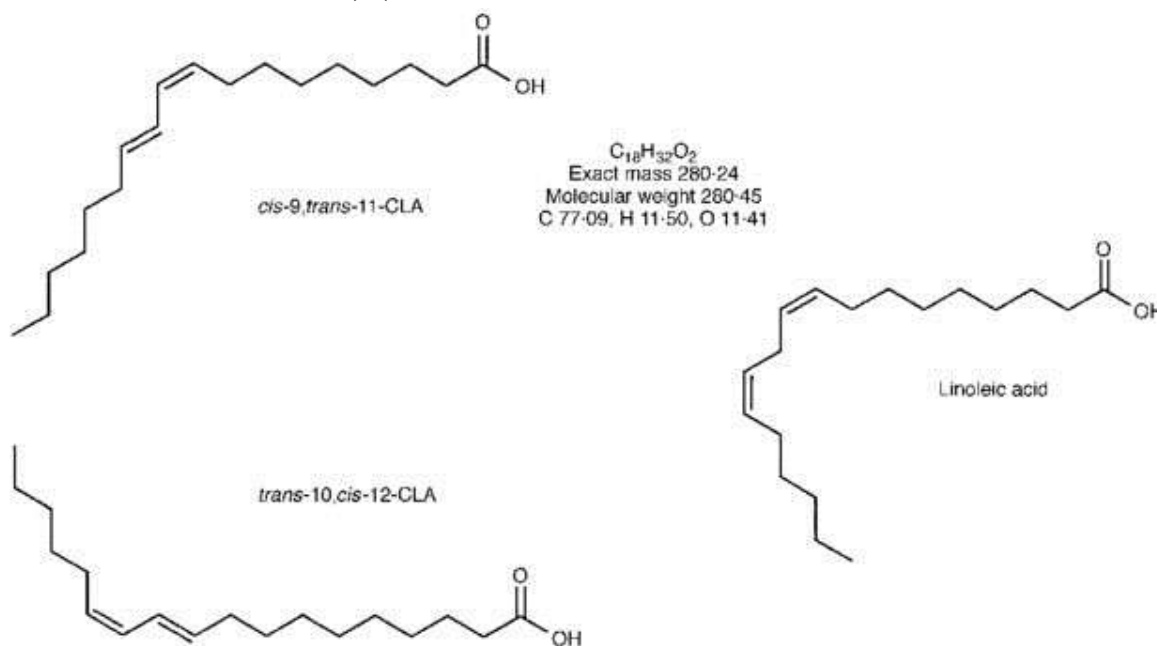


Рис. 4.1. Структура цис-9, транс-11 C18:2 (рубцевої кислоти), транс-10, цис-12 C18:2 і цис-9, цис-12 C18:2 (лінолевої кислоти) (Roche, 2001)

Бауман і Лок приводять дані, що другим в кількісному відношенні КЛК ізомером є транс-7, цис-9 C18:2, на частку якого припадає біля 10% від загальної кількості КЛК (Bauman & Lock, 2006).

Хімічний синтез препарату кон'югованої лінолевої кислоти здійснюється шляхом алкалінової ізомеризації олій, багатих на C18:2, він містить однакові кількості цис-9, транс-11 і транс-10, цис-12 C18:2 ізомерів (Sébédio et al., 1999). Ізомер транс-10, цис-12 C18:2 стимулює катаболічні процеси (ліполіз і окиснення), а ізомер цис-9, транс-11 C18:2 пов'язаний з анаболічними процесами і проявляє антиінфламаторний ефект (Viladomiu et al., 2016).

У 70-х роках 20 століття цис-9, транс-11 C18:2 кислота у молоці була ідентифікована Пароді, як кислота, що містить кон'югований подвійний зв'язок, хоча ще в 1939 році Муром і співавторами було зроблено висновок, що сильніша спектрофотометрична абсорбція при 230 нм жиру масла літнього періоду пов'язана із підвищеним вмістом в ньому жирних кислот з кон'югованими подвійними зв'язками (Bauman & Lock, 2006). Термін «рубцева кислота» для позначення цього ізомеру був запропонований Крамером і співавторами (Kramer et al., 1998). Піонерськими дослідженнями біологічної ролі цього ізомеру стали роботи Парізи і співавторів, в яких було показано антимуутагенний (антиканцерогенний) вплив присутньої в молоці і м'ясі жуйних РК, їхнє відкриття послугувало поштовхом до активного дослідження методів її аналізу, властивостей, кількостей, хімічного синтезу, біосинтезу і впливу (Pariza et al., 1999).

4.2.1. Джерела рубцевої кислоти

Джерелом РК в раціонах людини є яловичина і молочні продукти. В США з молоком і молочними продуктами споживачі отримують біля 70% РК, а решту – з яловичим м'ясом (Ritzenhaler et al., 2001). Концентрація РК в молочних продуктах залежить від концентрації в сирому молоці (Parodi, 1999). Рівень РК в жирі жуйних залежить від біогідрогенізації ПНЖК рубцевою мікрофлорою і походить із двох джерел. Частина РК абсорбується в результаті уникнення повної біогідрогенізації в рубці, однак вагомим джерелом є ендогенний її синтез в тканинах шляхом десатурації транс-11 C18:1 (Chouinard et al., 2001). Слід зазначити, що транс-11 C18:1 також наділена антиканцерогенними властивостями (Awad et al., 1995). Співвідношення ВК:РК в молочному жирі становить в межах 3:1.

Цис-9, транс-11 ізомер C18:2, як проміжну сполуку під час біогідрогенізації лінолевої кислоти рубцевими мікроорганізмами *B. fibrisolvens*, ідентифікували Кеплер і Тав (Kepler & Tove, 1967). Згодом було підтверджено, що за більшості годівельних умов із кормової лінолевої кислоти продукується головний кон'югований ізомер – цис-9, транс-11 C18:2 (Yurawech et al., 1998; Kelly et al., 1998).

За нормальних умов рубцевої ферментації в значно менших кількостях продукується транс-10, цис-12 C18:2 та інші позиційні кон'юговані ізомери C18:2, які є перехідними сполуками процесу біогідрогенування, що веде до нагромадження відповідних транс- ізомерів C18:1. Транс-ізомери C18:1,

домінуючим серед яких є транс-11 C18:1, в кінцевому результаті в рубці можуть біогідрогенуватись до C18:0 (Kemp et al., 1975; Yurawech et al., 1998).

Корлом і співавторами було переконливо показано, що РК в тканинах жуйних може синтезуватись із транс-11 октадецевої кислоти шляхом десатурації (Corl et al., 1998). Після абсорбції із травного тракту корів транс-11 C18:1 може бути використана як субстрат для ендogenous синтезу цис-9, транс-11 КЛК за дії Δ^9 -десатурази в ендоцитах, адипоцитах і секреторних клітинах молочної залози (Bauman et al., 2001), зокрема, встановлено, що до 93% РК в молоці утворюється шляхом ендogenous синтезу (Bauman et al., 2003). Цей відсоток коливається. Так в дослідженнях, проведених Гріінарі і співавторами, показано, що при інфузії 12,5 г/добу ВК в сичуг, концентрація РК в молоці підвищується на 31%, автори роблять висновок про можливість ендogenous синтезу РК в межах 60% (Grinari et al., 2000). Кей і співавтори встановили, що у корів, які випасаються, 91% ВК в молочній залозі перетворюється в РК (Kau et al., 2004). А Лок і Джернсворсі показали, що в умовах годівлі корів трав'яним силосом і концентратами при додаванні рослинних олій 80% ВК перетворюється в РК (Lock & Garnsworthy, 2002).

Важливим є те, що в тканинах людини ВК також десатурується до РК (Bauman et al., 2007). В тканинах людини біля 50% ВК може перетворитися в РК (Baer et al., 2001). Однак, згідно даних Тарпейнена і співавторів, цей показник є меншим – біля 20% ВК перетворюється в РК в тканинах людини (Turpeinen et al., 2002).

Отже, основна роль в утворенні цис-9, транс-11 18:2 належить Δ^9 -десатуразній системі в тканині молочної залози. У зв'язку з цим значна увага приділяється також десатуразному індексу молочного жиру (Kelsey et al., 2003). Десатуразний індекс залежить від активності Δ^9 -десатурази, що, в свою чергу, корелює із рівнем мРНК Δ^9 -десатурази (Singh et al., 2004). Таким чином, завданням модифікації жирнокислотного складу молока є збагачення його не тільки РК, але й ВК (Lock et al., 2004).

4.2.2. Фізіологічна роль рубцевої кислоти

Початкові дослідження щодо використання суміші КЛК у раціонах (цис-9, транс-11 C18:2 + транс-10, цис-12 C18:2) показали, що КЛК ізомери наділені потужними антиканцерогенними, антидіабетичними, антиліпогенними, імуномодулювальними властивостями при згодовуванні лабораторним тваринам (Pariza et al., 2001; Arab et al., 2016).

Однак, у наступних роботах було встановлено, що ізомер цис-9, транс-11 КЛК у коров'ячому молоці є ефективнішим інгібітором росту ракових клітин молочної залози людини, ніж препарат, синтезований із рослинної олії, що містить суміш двох ізомерів (цис-9, транс-11 + транс-10, цис-12) або чотирьох ізомерів (крім вказаних ще два – транс-8, цис-10 + цис-11, транс-13) (O'Shea et al., 2000).

Проблема онкозахворювань залишається однією з найважливіших. Незважаючи на значні світові досягнення у вивченні проблем раку, смертність від раку кишечника, легенів, молочної залози, підшлункової залози, простати і сечового міхура не зазнала значного зниження (Sporn, 1996). Тому профілактика раку, швидше ніж лікування, мусить стати основною стратегією його подолання. Виникнення раку не може бути повністю подоланим до тих пір, поки зберігається здатність генів до спонтанних мутацій, а ризик виникнення таких мутацій прямо залежить від безпеки навколишнього середовища, зокрема, промислових викидів, інтенсивності ультрафіолетової радіації і, звичайно, харчування. Слід відмітити, що з раціонами харчування пов'язано близько одної третини смертних випадків, спричинених раком, з коливаннями від 20 до 60% у різних регіонах (Doll, 1992).

Наші раціони складаються із компонентів, які можуть сприяти виникненню раку або, навпаки, його попередженню. Відомо, що споживання значної кількості фруктів і овочів пов'язано із зменшенням ризику захворювання на рак. Існує необхідність розвивати знання про антиканцерогенні компоненти, які є у складі продуктів тваринного походження, насамперед про РК.

У дослідженнях Іпа (Ip et al., 1991) було показано, що всі ізомерні форми КЛК включаються в тканинні ТАГ, однак лише цис-9, транс-11 КЛК ізомер включається у мембранні фосфоліпиди, і це визначає біологічну активність цього ізомеру. Молочний жир є найбагатшим натуральним джерелом цис-9, транс-11 КЛК.

Цікаві експерименти були проведені Іпом і співавторами Ними було виготовлено масло із високим вмістом цис-9, транс-11 КЛК (0,8% у складі ТАГ), його згодовували щурам дослідних груп, а щурам контрольної групи згодовували масло із вмістом суміші ізомерів КЛК у кількості 0,7 г/100 г у формі вільних жирних кислот. Вивчали вплив згодовування масла із різними кількостями КЛК і у різних сполуках на розвиток канцеру молочної залози, викликаного метилнітрозосечовиною. Показано, що всі види масла викликали пригнічення розвитку пухлин молочної залози приблизно в однакових межах (53%). Важливим є те, що у щурів дослідних груп у тканинах тіла і, зокрема,

молочної залози акумулювалось значно більше цис-9, транс-11 КЛК, ніж у щурів, яким згодовували масло із сумішшю КЛК у вигляді вільних кислот. Авторами зроблено висновок, що це зумовлено вищим вмістом у маслі транс-11 С18:1 у складі ТАГ, який слугує попередником для ендogenous синтезу КЛК в тканинах щурів (Ip et al., 1999).

У подальшому дослідження антиканцерогенної дії РК активно розвивались. Зокрема, встановлено, що фізіологічна її концентрація інгібує розвиток злоякісної меланоми людини а також ракові клітини лінії MCF-7 прямої кишки і молочної залози (Shultz et al., 1992). Показано дозозалежну дію РК у зниженні проліферації клітин трьох ліній аденокарциноми легень людини, однак така дія не проявлялась щодо клітин гліобластоми. На противагу, лінолева кислота не здійснювала інгібуючого ефекту на клітини цих ліній (Schonberg & Krokan, 1995). Значно інгібується за дії цис-9, транс-11 КЛК розвиток меланоми, лейкемії, мезотеліоми, гліобластоми, а також ракових клітин молочної залози, простати, прямої кишки, яєчників (Visonneau et al., 1996) і двох клітинних ліній гепатоми людини (Yoon et al., 1997).

У багатьох роботах повідомляється про те, що лінолева кислота підвищує розвиток пухлин молочної залози у гризунів (Fay et al., 1997). На противагу цьому, щораз більше повідомлень свідчить, що цис-9, транс-11 КЛК інгібує розвиток пухлин молочної залози не тільки у гризунів (Ip et al., 1994), але й у клітинних лініях молочної залози людини (MCA-7) в дозо- і тривалісно-залежний спосіб (Cunningham et al., 1997), тоді як лінолева кислота проявляла стимулюючий ефект. Результати експериментів, проведених в модельних дослідах на тваринах, показують, що дієти, багаті на лінолеву кислоту, згодовувані лише впродовж вагітності, підвищують ризик розвитку канцерогенно-індукованих пухлин молочної залози у матерів та їхніх дітей (Hilakivi-Clarke et al., 1997). Оптимізація концентрації РК в плацентарній крові матері і згодом в молоці може слугувати потужним заходом профілактики у новонароджених можливого розвитку раку грудей у майбутньому (Hilakivi-Clarke et al., 1997). Показано, що цис-9, транс-11 КЛК інгібує розвиток п'яти різних клітинних ліній раку молочної залози, тоді як лінолева кислота проявляє зворотну тенденцію (Visonneau et al., 1996).

Комплексними роботами Іпа і співавторів (Ip et al., 1995; Ip et al., 1997) встановлені важливі результати, по-перше, що дієтична РК є ефективним супресором розвитку пухлин молочної залози протягом скритої, продромальної і прогресуючої стадії канцерогенезу, по-друге, що забезпечується пожиттєвий захист від раку грудей (і до хімічно-індукованого раку) при вживанні РК навіть

протягом короткотривалого терміну – біля 3-х тижнів після відлучення від грудей. Встановлено, що РК в кількості 0,05-0,5% в дієті, згодовувана упродовж 9 місяців, на тлі хронічного хімічно провокованого канцерогенезу молочної залози викликає його інгібування у щурів. Менш тривале згодовування (упродовж 5 тижнів) також викликало інгібування хімічно індукованого канцеру (Ip et al., 1994). Це засвідчує, що дієтична РК впливає на чутливість тканин молочної залози до неопластичних трансформацій. Канцерогенез залежить від віку і фізіологічного розвитку молочної залози. Ризик виникнення раку є пропорційним до кількості проліферуючих клітин і швидкості поділу клітин у тканині. Коротший клітинний цикл може зменшити кількість виправлень ДНК перед наступним поділом, таким чином, це може сприяти більшій ймовірності генетичних помилок (Albanes & Winick, 1988).

Дослідження канцерогенезу у молочних залозах щурів на стадії розвитку кореспондуються із дослідженнями, проведеними на людях. Щораз більше підтримується думка про те, що ранні стадії розвитку раку грудей починаються в ранньому віці і навіть під час внутріутробного розвитку (Michels et al., 1996). Після атомного бомбардування Хіросіми і Нагасакі виникнення раку грудей було в декілька разів частіше зареєстровано у дівчат віком до 10 років, ніж у більш зрілих жінок (Parodi, 1999). Виходячи із результатів досліджень, зроблено припущення, що антиканцерогенна дія цис-9, транс-11 КЛК повинна полягати у інгібуванні проліферації і стимулюванні диференціації епітеліальних клітин секреторного епітелію молочної залози. Механізм дії, незважаючи на численні дослідження, залишається не до кінця з'ясованим. Результати експериментів вказують, що цей ізомер може діяти завдяки прояву антиоксидантних властивостей, прооксидантної цитотоксичної дії, інгібування синтезу нуклеотидів і протеїну, зниження активності клітинної проліферації, підвищення швидкості апоптозу, інгібування канцерогенної активації (Belury, 2002).

Дослідження Томпсона і співавторів (Thompson et al., 1997) показали, що згодовування щурам від відлучення до 50-го дня життя 1% в дієтах цис-9, транс-11 КЛК викликає зниження густини епітелію протоково-лобулярного дерева в молочній залозі на 20%. При цьому зареєстровано 65-ти разове зростання вмісту цього ізомеру в тканині молочної залози, а також шести і 14-ти разове зростання C18:3 і C20:3 з кон'югованими подвійними зв'язками. Це є свідченням того, що РК піддається десатурації і елонгації в умовах *in vivo*.

Голман і співавтори стверджують, що незвичайні ізомери ПНЖК можуть інгібувати метаболізм нормальних ПНЖК, таких як лінолева кислота, в багатьох кроках нормального метаболічного каскаду (Holman et al., 1991). Вони можуть

бути як попередниками незвичайних ПНЖК, так і інгібувати синтез нормальних ейкозаноїдів. Найважливішим попередником ейкозаноїдів є арахідонова кислота (C20:4), яка синтезується із лінолевої кислоти (ініціатора пухлин молочної залози) шляхом елонгації і десатурації. Арахідонова кислота включається в мембранні фосфоліпіди в 2-му положенні. Ейкозаноїди (простагландини), які походять із арахідонової кислоти, в результаті арахідонового каскаду можуть спричиняти розвиток пухлин молочної залози, можливо завдяки взаємодії із ростовими факторами і онкогенами. Пухлини молочної залози можуть інгібуватись агентами, що здійснюють вплив на каскад арахідонової кислоти. Антиканцерогенний вплив РК може частково зумовлюватись її здатністю інгібувати утворення ейкозаноїдів, похідних арахідонової кислоти.

Механізм дії цис-9, транс-11 КЛК може варіювати, великою мірою він залежить від регуляції тканинно-специфічних процесів і вигідного вибору із спектру механізмів її дії, також може базуватись на виді тканини і типі канцеру, для яких дія ізомеру є ефективною (Bauman & Lock, 2006).

У спробі охарактеризувати головну версію про механізм антиканцерогенного впливу ВК Локом і співавторами було проведено досліді із стеркуловою олією, яка є сильним інгібітором Δ^9 -десатурази (Lock et al., 2004). Досліді було проведено на самках пацюків, яким вводили одноразову дозу канцерогену (метилнітрососечовину) і згодовували чотири раціони: перший – з низьким рівнем ВК; другий – з низьким рівнем ВК плюс стеркулова олія; третій – з високим рівнем ВК і четвертий – з високим рівнем ВК плюс стеркулова олія. Після 6 тижнів досліді гістологічно встановлені найменші пошкодження тканини молочної залози – менші вдвічі в третій групі, порівнюючи із групами з низьким рівнем ВК і в півтора рази, порівнюючи із четвертою групою. Авторами зроблено висновок, що згодовування ВК сприяє підвищенню концентрації РК у тканинах молочної залози і знижує кількість пошкоджень. Найбільш правдоподібно, що антиканцерогенний ефект ВК проявляється через конверсію у РК за дії Δ^9 -десатурази, і якщо ця конверсія є заблокована, то біологічна дія ВК є зміненою.

Пригнічення проліферації ракових клітин також пов'язують із модуляцією інфламаторних процесів. РК демонструє антиінфламаторну та імуномодуляційну дію. Модуляція імунної та запальної реакцій опосередкована в кишечнику за допомогою PPAR δ -, PPAR γ - та TNF α -залежних механізмів (Hennessy et al., 2016). Результати цих експериментів є важливим аргументом на користь споживання масла, виготовленого із молока, збагаченого КЛК, яке містить відповідно значно вищу кількість біологічно важливого ізомеру цис-9,

транс-11 С18:2, а також його попередника транс-11 С18:1, а використання властивостей функціональної їжі може бути одним із напрямів стратегії профілактики раку.

Тригери запалення запускають численні хронічні захворювання, як от серцево-судинні, діабет другого типу, ожиріння, рак (Lordan & Zabetakis, 2017). Отримано багатообіцяючі результати щодо впливу РК на запальні процеси кишечника, так споживання щодня 6 г РК упродовж 12 тижнів забезпечило позитивний ефект (Kim et al., 2016). Завдяки позитивному впливу на модуляцію інфламаторних молекул (цитокінів, простагландинів, лейкотрієнів і імуноглобулінів) РК здійснює позитивний вплив на імунний статус, що продемонстровано в досліджах на тваринах і в умовах *in vitro* (Kim et al., 2016). Для прояву ефективного впливу цис-9, транс-11 КЛК на імунний статус людини достатньо добової її дози 1,2 г (Tricon et al., 2004).

Дослідження щодо впливу РК на розвиток атеросклерозу є більш обмеженими, порівнюючи із антиканцерогенними дослідженнями (Bauman & Lock, 2006). Існуючі літературні дані демонструють, що дієтичні добавки суміші КЛК ізомерів знижують розвиток атеросклеротичних пошкоджень (Kritchevsky et al., 2002; 2004). Щодо механізмів, то можливим є пояснення, що ізомери КЛК мають структурну подібність з лінолевою кислотою, правдоподібно, певні біологічні ефекти, характерні для КЛК ізомерів можуть полягати у модуляції синтезу ейкозаноїдів, які змінюють інтрацелюлярні сигнали (Pariza et al., 2000). Оскільки в розвитку атеросклерозу велике значення має холестерол, були проведені дослідження по вивченню впливу КЛК на метаболізм холестеролу і ліпопротеїнів, використовуючи тваринні моделі. Більшість результатів свідчить про позитивний вплив КЛК, однак є дані і про відсутність істотних змін (Bauman & Lock, 2006), в цих дослідженнях використовували синтетичні препарати КЛК.

Лок і співавтори використали КЛК як компонент функціональної їжі, зокрема, масло, збагачене цис-9, транс-11 С18:2 і транс-11 С18:1, як частину раціону, який був багатим на холестерол (0,2%) і жир (20%) (Lock et al., 2005). Порівнюючи із контрольним раціоном, споживання масла, збагаченого РК і ВК, здійснило багато позитивних ефектів, зокрема, зниження рівня загального холестеролу в плазмі, холестерол-ліпопротеїнів дуже низької і низької щільності. Це свідчить про те, що ці кислоти можуть змінювати продукцію атерогенних ліпопротеїнів у печінці. Крім цього, важливо відзначити, що збагачене РК і ВК масло більшою мірою впливало на зниження атерогенного профілю ліпідів, ніж транс-ізомери частково гідрогенізованих рослинних олій, якими заміняли масло (Lock et al., 2005).

Проведено дослідження на людях із застосуванням капсульованих препаратів КЛК. Дослідження із препаратом, в якому містились однакові кількості цис-9, транс-11 КЛК і транс-10, цис-12 КЛК, показали покращення ліпідного метаболізму, а препарат із 80% цис-9, транс-11 КЛК викликав значне зниження концентрації холестерол-ліпопротеїнів дуже низької щільності (Noone et al., 2002). Ці дані свідчать про провідну роль цис-9, транс-11 C18:2 у зміні ліпідного метаболізму печінки. Використовуючи індивідуальні чисті ізомери, було показано, що цис-9, транс-11 і транс-10, цис-12 КЛК проявляють різний ефект на ліпіди крові людини – рівень плазматичних ТАГ, загального холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності та відношення ЛНЩ:ЛВЩ-холестерол були нижчими при застосуванні цис-9, транс-11, порівнюючи із транс-10, цис-12 КЛК (Tricon et al., 2004).

Крім, порушень у ліпідному обміні, виникнення атеросклерозу може бути пов'язано із іншими причинами, про це свідчить позитивний вплив КЛК на розвиток атеросклерозу без змін профілю плазматичних ліпідів (Wilson et al., 2000). Софі і співавторами встановлено, що споживання цис-9, транс-11 КЛК у овечому сирі здійснює позитивний вплив на попередження серцево-судинних захворювань (Sofi et al., 2010). Хоча у пацієнтів не спостерігалось змін ліпідного профілю протягом експерименту, у них зареєстровано значне зниження запальних цитокінів і агрегації тромбоцитів, індуковані арахідоною кислотою. Зроблено припущення, що саме цей ізомер КЛК може знижувати запальну відповідь і попередити розвиток атеросклерозу і пов'язані із запальними процесами захворювання.

РК сприяє зниженню кров'яного тиску у щурів завдяки позитивному впливу на ендотелій судин, що підтверджено метаналізом восьми досліджень на людях – споживання від 2 до 6,8 г/добу РК нормалізує тиск крові (Yang et al., 2015).

Щодо впливу на масу тіла, то встановлено, що споживання суміші КЛК спричиняє її зниження, що пов'язують із дією транс-10, цис-12 ізомеру (Park et al., 1999). Було показано, що ізомер транс-10, цис-12 C18:2 відповідальний за зниження ліпогенезу (Pariza et al., 2001). Додавання його до раціонів викликає зниження жирової маси у мишей (West et al., 1998) і свиней (Dugan et al., 1997) за аналогічним механізмом, що викликає зниження синтезу молочного жиру, тобто інгібування біохімічного апарату, пов'язаного із синтезом *de novo* жирних кислот (Baumgard et al., 2002). Механізм зниження синтезу ліпідів полягає у скоординованій супресії генів, що кодують ензими, відповідальні за ліпідний синтез (Clark, 2001). Автори відзначають зниження концентрації мРНК ацетил-

CoA карбоксилази і синтази жирних кислот у жировій тканині мишей за згодовування добавок із КЛК (Tsuboyama-Kasaoka et al., 2000). Показано, що при цьому знижується активність стеароїл-КоА десатурази і підвищується PPAR α та β -окиснення в жировій тканині (Hennessy et al., 2016). У інших роботах не встановлено істотного впливу на масу тіла при споживанні окремих ізомерів КЛК, однак встановлений позитивний вплив на чутливість до інсуліну (Riserus et al., 2002, 2004; Malpuech-Brugère et al., 2004). Однак, три метааналізи досліджень на людях показали позитивний вплив споживання суміші цис-9, транс-11 і транс-10, цис-12 C18:2 в дозі 3,2-3,4 г/добу упродовж 6 місяців на зниження жирової маси (Whigham et al., 2007).

Потрібні подальші дослідження щодо впливу КЛК на масу тіла, оскільки неоднозначність результатів спричинена різними моделями дослідів, різними дозами, різною статтю, генотипом і віком людей у експериментах. Важливим є з'ясування механізмів такої дії (Ferlay et al., 2017).

4.2.3. Забезпечення рубцевою кислотою

Крім молочних ліпідів, жир м'яса і органів жуйних теж містить досить високі концентрації цис-9, транс-11 КЛК. Цікаво відзначити, що рівень цього ізомеру КЛК в м'ясі і молоці корів та овець в Новій Зеландії і Австралії є в два-три рази вищий, порівнюючи із США. Це є наслідком цілорічного випасання корів і відповідно споживання більших кількостей тваринами ненасичених жирних кислот з рослинних джерел (Parodi, 1999). Завдяки такому сильному позитивному впливові РК на здоров'я людини перед вченими постає завдання підвищити її рівень в молочному жирі.

Звичайно вміст цис-9, транс-11 КЛК в молочному жирі становить 3-6 мг/г жиру, однак рівень її може коливатись в широких межах (Khanal & Dhiman, 2004; Zheng et al., 2005). Межі коливань вмісту цис-9, транс-11 КЛК в молочному жирі становлять від 0,16 до 2,22% (Kemp et al., 1975). Прехт і Молкентін, аналізуючи вміст ізомерів C18:1 і C18:2 в молочному жирі корів в літній та зимовий періоди в Німеччині, встановили, що в літній період вміст цис-9, транс-11 C18:2 становить 1,71%, а в зимовий – 0,50% (Precht & Molkentin, 1999). Моуейт і співавтори на основі аналізу 29 публікацій за 15 років визначили середнє значення для вмісту цис-9, транс-11 C18:2 – 10,2 мг/г жирних кислот, а межі коливань 2,8-24,5 мг/г жирних кислот (Moate et al., 2007). Широкі межі коливань вмісту цього ізомеру у складі молочних ліпідів вказують на можливості моделювання його вмісту.

Екстраполюючись від дослідів на тваринах, які базуються на використанні синтетичного препарату КЛК, в якому концентрація цис-9, транс-11 ізомерної форми приблизно становить 40% (Jones & Weiss, 1998), кількість препарату, що може попередити рак у людини становить 3 г/день. Здійснивши перерахунки, отримуємо, що це відповідає 1,33 г/день КЛК із оригінального джерела, де, як було вище зазначено, 90% є біологічно активної ізомерної форми цис-9, транс-11 C18:2. Виходячи із середніх даних про вміст РК і ВК, приведених в огляді Моуейта (10,2 і 33,2 мг/г жирних кислот) (Moate et al., 2007), і припускаючи, що 50% ВК у тканині тіла людини може перетворитися у РК (Baer et al., 2001), тобто ще $33,3:2=16,65$ мг/г жирних кислот, а разом 26,85 мг/г жирних кислот, і провівши нескладні розрахунки, можна визначити, що для попередження раку добова кількість молока становить близько 1,5 л із м.ч.ж. 3,2% або молочних продуктів, виготовлених з нього.

Проведені дослідження щодо рівня споживання РК у США показують, що в 1999 році для мужчин віком 20-39 років він становив 120, а для жінок такого самого віку – 75 мг/день (McGuire et al., 1999). У 2007 році споживання РК зросло до 0,182 г в день згідно зі звітом Національної Академії наук США (Dhiman et al., 2007). Дослідження Дімана і співавторів щодо вмісту окремих жирних кислот, в тому числі, РК в різних молочних продуктах у США і ступеня забезпечення жирними кислотами за рахунок цих молочних продуктів (Dhiman et al., 2007), показали, що споживаючи одну добову порцію (240 мл) молока і сиру (28,35 г) мешканці отримують 66% необхідного добового споживання РК. Однак, цих кількостей недостатньо для профілактики канцеру. За рахунок натурально збагаченого цис-9, транс-11 18:2 КЛК молока і молочних продуктів рівень споживання РК може бути підвищений в декілька разів. Сьогодні спостерігається підвищений інтерес до таких функціональних харчових продуктів (Капрельянц & Петросьянц, 2011).

Оскільки РК є поліненасиченою жирною кислотою, яка легко піддається процесам окиснення, то, відповідно, молоко і молочні продукти із підвищеним її вмістом можуть мати схильність до розвитку вад, пов'язаних із цим процесом. Дослідники повідомляють, що не встановлено відмінностей сенсорних характеристик молока і продуктів, збагачених РК (Avramis et al., 2003; Gonzales et al., 2003). На особливу увагу в цьому плані заслуговує робота Линча і співавторів, якими було досліджено органолептичні параметри і стійкість при зберіганні стандартного 2% молока і 2% молока із рівнем РК в десять разів вищим, який було досягнуто шляхом годівельних факторів і селекційного відбору (Lynch et al., 2005). Початкові дослідження і дослідження після 14-го дня

зберігання пастеризованого молока показали відсутність відмінностей між контрольними і дослідними зразками. Більше того, не було виявлено відмінностей в органолептичних показниках між двома видами молока і після ініціювання процесів окиснення під впливом світла.

Нашими дослідженнями також не встановлено підвищеної схильності до процесів окиснення молока із підвищеним вмістом цис-9, транс-11 с18:2 і транс-11 С18:1. Не встановлено підвищеної схильності до процесів окиснення також масла, виготовленого з цього молока як при зберіганні в холодильнику упродовж 35 діб, так і в умовах прискорено-кінетичного окиснення за температури 102°C протягом 48 год. (Цісарик, 2009).

Молоко, збагачене синтетичним КЛК за рахунок внесення у знежирене молоко ТАГ із 1 та 2% КЛК разом із вітаміном Е та екстрактом розмарину для попередження процесів окиснення, характеризувалось трав'яно-овочевим смаком і ароматом, що спричинило зниження споживчого скору (Campbell et al., 2003). Його смакові і ароматичні властивості покращились із внесенням шоколадного наповнювача. Таким чином, натурально збагачене РК молоко і, відповідно, виготовлені із нього молочні продукти мають значні переваги.

Рівень РК в молочних продуктах залежить від її вмісту у вихідному молоці. Однак, на її вміст у молочних продуктах можуть впливати численні технологічні параметри, зокрема, види стартерних культур (Jiang et al., 1998), тривалість визрівання сиру, теплове оброблення (Lopez et al., 1994), контакт з повітрям (Shantha et al., 1992).

Дослідження вказують, що РК може бути синтезована специфічними молочнокислими бактеріями в MRS бульйоні (Liu et al., 2011), біфідобактеріями у молоці (Pandit et al., 2012) чи молочнокислими бактеріями в йогурті (do Espirito Santo et al., 2012). Також є роботи, в яких продемонстровано здатність молочнокислих бактерій синтезувати РК у вершках (Van Nieuwenhove et al., 2007) чи сирі (Lima Alves et al., 2011). Тому перспективним є метод збагачення молочних продуктів завдяки синтезу РК молочнокислими бактеріями з метою підвищити рівень її споживання.

Нашими дослідженнями продемонстровано можливість синтезу РК молочнокислими бактеріями під час ферментації вершків при виробництві кисловершкового масла. Для заквашування вершків при виробництві кисловершкового масла застосовували дві заквашувальні композиції (фірми Chr. Hansen, Данія): мезофільну ароматичну культуру *Flora Danica* – FD (містить *Lactococcus lactis* підвид *cremoris*, *Lactococcus lactis* підвид *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* підвид *cremoris*, *Lactococcus lactis* підвид *diacetylactis*), а також

пробиотичну культуру *Lactobacillus acidophilus* штам La-5. У таблиці 4.1 представлені дані щодо вмісту С18 жирних кислот ліпідів масла, виготовленого в осінньо-зимовий період. Для сквашування вершків використовували *FD* самостійно; поєднання з *L. acidophilus* La-5 (1:1) і самостійно *L. acidophilus* La-5 відповідно зразки К31, К32, К33. Ферментація вершків здійснювалась при температурі (30±1) °С, фізичне визрівання за температури (7±1) °С. У зразках кисловершкового масла зростала загальна кількість транс-ізомерів жирних кислот. Вміст транс-11 С18:1 збільшився з 5,19 % у солодковершковому маслі до 5,28...5,41 % у зразках кисловершкового, досягаючи максимуму у К32 (р<0,05). Вміст цис-9, транс-11 С18:2 був вищим у зразках кисловершкового масла, також досягаючи максимуму у К32 (р<0,05). Ці результати щодо вмісту транс-11 ізомерів у зразку К32 дозволяють припустити, що при спільному культивуванні молочнокислих бактерій *FD* і ацидофільної палички пробиотичного штаму La-5 зазначені ізомери синтезуються молочнокислими бактеріями. Цікаво відзначити, що у всіх зразках кисловершкового масла виявлено менший вміст транс-6 і транс-9 ізомерів С18:1 (у зразках К31 і К32 вірогідно), така сама закономірність зареєстрована щодо транс-9, цис-12 С18:2 (Мусій та ін., 2012, 2014, 2015).

Таблиця 4.1

С18 жирні кислоти ліпідів у зразках кисловершкового масла порівняно із солодковершковим в осінньо-зимовий період, % загальної кількості жирних кислот

Жирні кислоти	Зразки масла			
	С3	К31	К32	К33
С18:0	13,42	13,56	13,46	13,48
транс-6, транс-9 С18:1	0,6	0,51	0,46*	0,53*
транс-11 С18:1	5,19	5,34	5,41*	5,35
цис-9 С18:1	22,49	22,23	22,32	22,2*
цис-11 С18:1	1,15	1,46**	1,48**	1,4**
цис-12 С18:1	0,26	0,3	0,29	0,29
транс-13, транс-14 С18:1	0,36	0,38	0,35	0,37
транс-16, цис-14 С18:1	0,14	0,16	0,15	0,18
транс-9, транс-12 С18:2	0,19	0,2	0,12**	0,22
транс-7, цис-9 С18:2	0,08	-	0,06	0,08
транс-8, цис-10 С18:2	0,11	0,19	0,13	0,13

<i>Продовження табл. 4.1</i>				
транс-9, цис-12 C18:2	0,14	-	0,09*	0,13
транс-9, транс-11 C18:2	0,29	0,45*	0,35	0,34
цис-9, цис-12 C18:2	1,31	1,35	1,34	1,34
цис-9, цис-13 C18:2	0,17	0,24*	0,17	0,17
цис-9, транс-11 C18:2 (CLA)	2,02	2,02	2,05*	2,03
транс-10, цис-12 C18:2 (CLA)	0,07	0,07	0,07	0,07
цис-11, транс-13 C18:2 (CLA)	0,02	-	0,02	0,02
цис-9, цис-11 C18:2 (CLA)	-	0,02	0,02	-
транс-11, транс-13 C18:2	0,02	-	-	0,02
транс-11, цис-13 C18:2	0,04	0,04	0,04	0,03
транс-12, транс-14 C18:2	0,07	0,07	-	-

У таблиці 4.2 наведено С18 жирнокислотний склад кисловершкового масла порівняно з солодковершковим, виготовленим у весняно-літній період. Зразки КЛ1, КЛ2, КЛ3 – заквашування вершків *FD*, *FD + La-5*; *La-5* відповідно (сквашування вершків за температури (30 ± 1) °С та фізичне визрівання за температури (5 ± 1) °С). Щодо транс-ізомерів, то домінуючою у кількісному відношенні є транс-11 С18:1, частка якої займає 65...66 % від загальних транс-ізомерів жирних кислот. Серед кон'югованих транс-ізомерів лінолевої кислоти у ліпідах кисловершкового масла домінує ізомер цис-9, транс-11 С18:2 (2,13-2,19 %); транс-7, цис-9; транс-10, цис-12; цис-11, транс-13 С18:2 та інші виявлені у невеликих кількостях. Сума всіх транс-11 ізомерів була вірогідно найвищою у КЛ2. Вміст цис-9, транс-11 С18:2 продемонстрував вірогідне збільшення у зразку КЛ2. Щодо вмісту транс-11 С18:1, то проявляється тенденція до його зростання у зразках кисловершкового масла порівняно із солодковершковим (Tsisaryk et al., 2012, 2014).

Таблиця 4.2

**С18 жирні кислоти ліпідів у зразках кисловершкового масла порівняно із солодковершковим у весняно-літній період
% загальної кількості жирних кислот**

Жирні кислоти	Зразки масла			
	СЛ	КЛ1	КЛ2	КЛ3
С18:0	10,12	10,32	10,25	10,12
транс-6, транс-9 С18:1	0,43	0,49	0,46	0,48
транс-11 С18:1	4,19	4,22	4,24	4,21

Продовження табл. 4.2				
цис-9 C18:1	20,35	20,72	21,25**	20,81
цис-11 C18:1	1,47	1,3	1,43	1,25
цис-12 C18:1	0,38	0,33	0,35	0,31
транс-13, транс-14 C18:1	0,37	0,37	0,36	0,36
транс-16, цис-14 C18:1	0,18	0,19	0,19	0,2
транс-9, транс-12 C18:2	0,26	0,27	0,26	0,26
транс-7, цис-9 C18:2	0,15	0,14	0,14	0,14
транс-9, цис-12 C18:2	0,65	0,65	0,64	0,64
цис-9, цис-12 C18:2	1,36	1,39	1,35	1,36
цис-9, цис-13 C18:2	0,2	0,24	0,19	0,23
цис-9, цис-12, цис-15 C18:3	1,11	1,14	1,12	1,12
цис-11 C20:1	0,21	0,22	0,22	0,21
цис-9, транс-11 C18:2 КЛК	2,13	2,14	2,19*	2,14
транс-10, цис-12 C18:2 КЛК	0,13	0,13	0,13	0,13
цис-11, транс-13 C18:2 КЛК	0,03	0,03	0,03	0,03
транс-11, транс-13 C18:2	0,03	0,03	0,03	0,03
транс-11, цис-13 C18:2	0,05	0,05	0,05	0,05
транс-12, транс-14 C18:2	0,12	0,09	0,1	0,09

Були проведені дослідження 19 заквашувальних культур (сім штамів лактобактерій, чотири штами лактококів, два штами стрептококів і шість штамів пропіонобактерій) за їх здатністю перетворювати C18:2 у КЛК *in vitro* (Jiang et al., 1998). Встановлено, що три штами *Propionibacterium freudenreichii ssp.* екстрацелюлярно продукують КЛК із вільної C18:2. Частка цис-9, транс-11 становила 70% від загальної кількості ізомерів КЛК. Більшість інших культур, зокрема, *L. acidophilus*, інгібуються вільною лінолевою кислотою. Оскільки пропіоновокислі бактерії застосовують у мікробіальних композиціях для сирів швейцарської групи, відповідно їхня метаболічна активність зумовлює вищу концентрацію цис-9, транс-11 КЛК у цих сирах.

В подальших дослідженнях було протестовано три штами видів *Lactobacterium*, *Lactococcus* і *Streptococcus* для встановлення впливу додавання цукрози, лактози, фруктози і кухонної солі до молока (Lin, 2000). Ці компоненти постійно використовують при виробництві ферментованих молочних продуктів як підсолоджувачі, а сіль – при виробництві сирів. Вміст КЛК був найвищим при інкубуванні *L. acidophilus*. Щодо впливу добавок, то рівень КЛК був максимальним при додаванні солі в аеробних умовах після 24 годинного

інкубування, тоді як при додаванні моно- і дицукридів концентрація КЛК знижується в клітинних культурах, за винятком *Lactococcus*.

Скринінг молочнокислих бактерій щодо здатності окремих штамів продукувати РК в молоці і в умовах травного тракту був здійснений у роботі (Sosa-Castañeda et al., 2015). Із 13 штамів молочнокислих бактерій лише чотири продукували цис-9, транс-11 КЛК у знежиреному молоці з додаванням лінолевої кислоти у кількості від 13,44 до 50,9 мг/мл. Крім того, ці штами виживали і продукували РК в умовах, що відтворюють умови харчотравного тракту, а також в експериментах на щурах після орального вживання. Так, *Lactobacillus fermentum* J20 продукував 80,6% цис-9, транс-11 і 19,4% транс-10, цис-12 ізомерів; *Lactobacillus plantarum* J25 продукував 71,5% цис-9, транс-11 і 28,5% транс-10, цис-12 ізомерів; *Lactobacillus pentosus* J26 продукував 100% цис-9, транс-11 ізомер і *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 продукував 54,37% цис-9, транс-11 і 46,22% транс-10, цис-12 ізомерів.

Про можливість молочнокислих бактерій синтезувати РК після колонізації на слизовій кишечника повідомляється також за результатами дослідів на тваринах (Wall et al., 2009) і людині (Lee, 2009), що забезпечує позитивні впливи на організм господаря.

У роботах попередніх років було ідентифіковано цис-9, транс-11 C18:2 в сирах, причому в сирах деяких видів, наприклад Cheese Whiz, вміст її значно вищий, ніж в інших (Ha et al., 1989). Авторами зроблено висновок, що вищий вміст КЛК в сирі, технологічною особливістю якого є плавлення, зумовлений окисненням лінолевої кислоти, ініційованого високою температурою, терміном визрівання і білками. Згодом було підтверджено, що окиснення є фактором, що приводить до збільшення концентрації КЛК в сичужних сирах (Shantha et al., 1992; Shantha & Decker, 1993).

Однак, це не узгоджується із іншими публікаціями, зокрема, присвяченими дослідженню вмісту КЛК у сирі чеддер, де не було зареєстровано змін залежно від заквашувальної культури, технологічних режимів і терміну визрівання (Werner et al., 1992). В подальшому дослідження сиру чеддер на предмет концентрації в ньому КЛК продовжувались, і, зокрема, Ліном і співавт. було показано, що технологічні параметри мають мінімальний вплив, однак більший вплив можуть мати компоненти сирної маси, що зумовило необхідність детальнішого вивчення (Lin et al., 1999).

В роботі Коуеклі і співавторів було виготовлено сир із молока корів контрольної групи на стійловому утриманні із згодовуванням вволю трав'яного силосу і 6 кг/добу концентратів та з молока корів дослідної групи, які випасались

і щоденно отримували у складі такої ж кількості концентрованих кормів 600 г соняшникової олії (Coakley et al., 2007). Молоко збагачувалось цис-9, транс-11 КЛК за період 14 днів у корів дослідної групи від 0,46 до 2,22 г/100 г жирних кислот. Вміст цієї ізомерної форми КЛК у сирі підвищувався із 0,78 до 1,93 г/100 г жирних кислот, причому ця концентрація залишалась стабільною впродовж 6-ти місяців визрівання сиру. Зразки сиру дослідної групи містили 0,51 г РК і 1,8 г ВК в 100 г сиру. Відштовхуючись від того, що ефективний вплив на здоров'я людини, зокрема на імунний статус, здійснює добова доза 1,2 г КЛК (Tricon et al., 2004) і високий ступінь перетворення ВК в РК у тканинах людини, можна стверджувати, що 100 г сиру, виготовленого із збагаченого молока, забезпечує необхідну фізіологічну дозу РК, надаючи такому продуктові функціональних властивостей.

Також було встановлено, що рівень РК в ферментованих молочних продуктах, сировиною для яких служило знежирене молоко, зростає при додаванні лінолевої кислоти (Lin et al., 1999).

Проведено дослідження вмісту РК в йогурті, кисломолочному сирі і пастеризованому молоці при використанні як сировини молока з високим вмістом РК (3,54 г/100 г жирних кислот) (Rodriguez et al., 2007). Молоко отримували від корів, яким у складі раціону згодовували соняшкову олію (0,8 кг/гол/добу) і рибну олію (0,24 кг/гол/добу). Для пастеризації молока застосовували два температурні режими – 72°C з витриманням 15 секунд і УНТ 140°C з витриманням 5 секунд. Цікавим є те, що пастеризація підвищувала вміст РК порівняно із сирим молоком в середньому на 0,07-0,08 г/100 г жирних кислот. У кисломолочному сирі вміст РК в середньому підвищувався на 0,04 г/100 г жирних кислот. Більш вираженим підвищення вмісту КЛК було в йогурті – на 0,19 г/100 г жирних кислот. Зроблені важливі висновки про те, що технологічна переробка молока не приводить до втрат РК, і такі операції як високотемпературне оброблення чи сквашування не здійснює негативного впливу на її вміст.

Ці результати узгоджуються із результатами, отриманими при дослідженні переходу РК і ВК із козиного молока у сир, в яких також не було зареєстровано втрат РК в процесі технологічного перероблення: вміст РК в сирому молоці і сирі відповідно становив 0,62 і 0,67 мг/100 мг жирних кислот, вміст ВК складав 1,09 і 1,06 мг/100 мг жирних кислот в сирому молоці і сирі (Battacone et al., 2007). Підтвердженням того, що РК і ВК кислоти без втрат переходять в сир, зокрема, чеддер, є результати досліджень Олреда і співавторів (Allred et al., 2006).

Цікаві експерименти, спрямовані на підвищення рівня РК в маслі, були проведені завдяки використанню інтерестерифікації із сумішшю КЛК за дії ліпаз, продукованих *Candida cylindracea* (Garcia et al., 1998). Для інтерестерифікації можна використовувати іммобілізовані ферменти, зокрема, проведені експерименти з іммобілізованими ліпазами, продукованими *Candida antarctica*, в яких продемонстровано естерифікацію гліцеролу КЛК (Arcos et al., 1998). Близько 95% КЛК включається в суміш моно-, ди- і триестерів після семи годин. Така суміш має добрі емульгуючі властивості, її можна використовувати при виробництві продуктів, де необхідні емульгатори, наприклад, морозиво, плавлені сири, спреди і ін. У подальшому було підтверджено, що використання іммобілізованих ліпаз *Candida antarctica* призводить до зростання вмісту КЛК в ТАГ С46-С54 масла при інкубації із сумішшю КЛК (Garcia et al., 2000). Така операція успішно може використовуватись в промисловості. Іншими дослідниками показано, що ліпази, продуковані *Geotrichum candidum*, характеризуються високою селективністю щодо цис-9, транс-11 С18:2 (Haas et al., 1999). Вільні жирні кислоти, звільнені цими ліпазами, містять до 94% вказаного ізомеру, причому інші ізомерні форми не гідролізуються. Такі ліпази можна використовувати для продукції препарату цис-9, транс-11 С18:2 високого ступеня чистоти.

4.2.4. Засвоюваність і модифікація вмісту РК в тканинах людини

Засвоюваність РК в людини досліджували в експерименті, використовуючи для цього модель, що складається із чотирьох відділів, які імітують шлунок, дванадцятипалу, голодну і клубову кишку (Gervais et al., 2007). В цьому експерименті використовували молоко, отримане від корів, яким згодовували 4% від СР раціону сафлорової олії. За результатами аналізів відбирали молоко із найвищим вмістом КЛК – 47 мг/г жирних кислот. Результати досліджень показали, що загальна засвоюваність жирних кислот молока становить 70,2%, засвоюваність цис-9, транс-11 КЛК є вищою, порівнюючи із іншими довголанцюговими жирними кислотами – 80,3%, а засвоюваність транс-11 С18:1, навпаки, нижчою – 64,8%.

Вживання їжі, яка багата на КЛК, забезпечує підвищення її концентрації в сироватці крові людини, КЛК виявлено також в жировій тканині, жовчі, дванадцятипалій кишці і молоці людини (Parodi, 1999). Вміст цис-9, транс-11 КЛК у жировій тканині людини становить 0,50% від загальних жирних кислот і позитивно корелює ($r = 0,42$) із споживанням молока (Jiang et al., 1999). Пароді припустив, що дієтична транс-11 С18:1 може перетворитись в тканинах людини

в цис-9, транс-11 КЛК (Parodi, 1994), про що згадувалось вище. Це припущення базувалось на результатах експериментів Полларда і співавторів, в яких було показано, що Δ^9 -десатураза мікрсом печінки щурів може утворити подвійний зв'язок в позиції Δ^9 у транс-11 C18:1, продукуючи цис-9, транс-11 КЛК (Pollard et al., 1980). Згодом було підтверджено, що дієти з високим вмістом транс-жирних кислот із гідрогенізованих рослинних олій підвищують рівень КЛК в сироватці крові (Salimen et al., 1998). Однак, у цій роботі не були ідентифіковані індивідуальні транс-ізомери в суміші транс-ізомерів.

Цікавими є спостереження (Fogerty et al., 1988), згідно з яким молоко жінок релігійної секти Гарі Крішна містить вдвічі вищу концентрацію КЛК, ніж австралійських жінок-матерів (11,2 проти 5,8 мг/г). Ця різниця є результатом вищого споживання масла ghee жінками із секти Гарі Крішна. Це підтверджується також результатами інших дослідників, які показують вищу концентрацію в молоці КЛК у жінок, які споживають їжу, багату на РК (Park et al., 1997).

4.3. Фізіологічна роль масляної кислоти

У складі молочного жиру присутні й інші жирні кислоти, наділені функціональними властивостями, зокрема масляна. У молоці масляна кислота присутня в складі ТАГ, біля одної третини молочних ТАГ містять бутират. Масляна кислота у шлунку і прямій кишці безпосередньо, а в тонкій кишці опосередковано впливає на розвиток і відновлення тканин. Трофічні ефекти продемонстровано у дослідженнях впливу масляної кислоти на проліферацію клітин, що призводить до швидшого оновлення некротичних ділянок. Непрямі дії бутирату полягають у впливі на нейрогуморальну та імунну систему. Пряма дія бутирату полягає у забезпеченні енергією колоноцитів (Guilloteau et al., 2010).

Різні функції слизової оболонки товстої кишки зазнають впливу бутирату, зокрема встановлено пригнічення запалення та канцерогенезу завдяки посиленню захисного бар'єру епітелію та попередження окисного стресу. Два важливі механізми можуть бути включені у попередження розвитку канцеру і запалення – інгібування активації ядерного фактору каппа та деацетилювання гістону (Hamer et al., 2008). Продемонстровано профілактичний вплив бутирату на розвиток канцеру прямої кишки і розвиток аденоми (Bornet et al., 2002). Експериментально підтверджено, що масляна кислота проявляє значний інгібуючий ефект на розвиток хімічно індукованих пухлин молочної залози у щурів (Yanagi et al., 1993; Belobrajdic & McIntosh, 2000).

Синергізм з іншими антиканцерогенними агентами, присутніми у молоці, зокрема вітамінами А і Д, зменшують необхідну концентрацію бутирату в плазмі крові для забезпечення модулюючого ефекту на процеси клітинної проліферації (Parodi, 2005).

Бутират проявляє протизапальну дію, запобігає інфільтрації імунних клітин з крові, наприклад, в жирову тканину. Крім того, він проявляє здатність інгібувати проліферацію та активацію Т-клітин і запобігає адгезії антиген-презентуючих клітин, що є важливим, оскільки останнім часом встановлено, що асоційоване із ожирінням запалення може бути антигензалежним (Meijer et al., 2010). Встановлено, що С4:0 на післяабсорбційному рівні знижує інсулінорезистентність, інгібує синтез холестеролу, сприяє збільшенню енергетичних витрат і окисненню жирних кислот, гальмує відкладання жиру в жирових депо (Canfora et al., 2015).

Зниження рН товстої кишки за рахунок коротколанцюгових жирних кислот, в тому числі й бутирату, сприяє зниженню розчинності вільних жовчних кислот, що може зменшити потенційний вплив вторинних жовчних кислот як промотора пухлин (Grubben et al., 2001). Крім того, бутират впливає на відчуття ситості. Ефекти бутирату значною мірою залежать від концентрації та використовуваних моделей, щодо даних досліджень на людині, то вони є досить обмеженими (Namer et al., 2008).

Бутират також бере участь у зниженні вірулентності бактерій як завдяки безпосередньому впливу на експресію гену вірулентності, так і завдяки впливу на проліферацію клітин господаря (Guilloteau et al., 2010). Крім того, масляна кислота здійснює позитивний вплив на мікрофлору кишківника (Hanus et al., 2018).

4.4. Роль розгалужених і непарних жирних кислот для здоров'я

Присутні у складі молочного жиру розгалужені жирні кислоти – ізо- і антеізо- з довжиною ланцюга переважно від 13 до 17 карбонів, синтезуються рубцевими бактеріями (Parodi, 2005). Показано, що 13-метилтетрадеканова кислота (13-МТДК) індукує апоптоз ракових клітин людини багатьох ліній, зумовлюючи їхню смертність. Результати експериментів *in vitro* і *in vivo* продемонстрували високу результативність цієї кислоти без побічних ефектів, що вказує на можливість її застосування для хемотерапії (Yang et al., 2000).

Згодом було досліджено антипухлинну активність окремих ізо-розгалужених жирних кислот на двох клітинних лініях канцеру молочної залози. Найвищою антипухлинною активністю володіє ізо- С16:0, активність

знижується із збільшенням чи зменшенням кількості карбонів у ланцюгу (Wontgtangtintharn et al., 2004).

Антеізо- жирні кислоти є також цитотоксичними. Важливим є те, що цитотоксичний ефект 13-МТДК є подібним до ефекту, який проявляє РК – обидві кислоти інгібують жирнокислотну синтазу (Parodi, 2005). Пентадеканова і гептадеканова жирні кислоти обернено пов'язані із виникненням діабету другого типу, кардіоваскулярними і коронарно-серцевими захворюваннями (Calder, 2015).

У досліджах на новонароджених щуренятах показано, що розгалужені жирні кислоти впливають на мікробіоту кишківника. Зокрема, у дослідній групі, тваринам якої згодовували молоко із 20% у складі жиру розгалужених жирних кислот, виявлено значно вищий рівень *Bacillus subtilis* і *Pseudomonas aeruginosa* порівняно з контролем. Прояви некротичного ентероколіту знизились на 50% у дослідній групі, при цьому експресія інтерлейкіну-10 (IL-10) зросла втричі на тлі відсутності змін мукозних і прозапальних мРНК факторів (Ran-Ressler et al., 2011).

У нещодавніх дослідженнях показано, що кислоти 15-метилгексадеканова і транс- С16:1 молочного походження зумовлюють захист від діабету другого типу. Експерименти проведені на β -клітинній лінії, підданій хронічно високому рівню глюкози протягом 24-72 год., показали 50% зниження рівня ключового фактору транскрипції β -клітин – Pdx1 (Kraft et al., 2015). Автори постулювали, що ключовою мішенню цих двох жирних кислот є β -клітини підшлункової залози.

4.5. Біологічна роль компонентів мембран жирових кульок

Серед усіх компонентів молока мембрани жирових кульок є найбільш закритими для розуміння. Істотні біохімічні дослідження стосувалися деталей синтезу, транспорту і секреції жирових кульок, в той час мало дискусій було присвячено унікальності цієї системи і еволюційних сил, що лежать в основі їхнього розвитку (Ward et al., 2006). Вард і співавтори поставили питання, що лежить в першооснові жирових кульок – фізіологічні аспекти синтезу чи потреби новонароджених організмів. Якщо відштовхуватись від фізіологічних аспектів синтезу, то більш простим був би альтернативний шлях – синтез ліпопротеїнів, що не потребувало б подвійного оболонкового шару. Очевидно, що еволюційний шлях, який ґрунтувався на потребах у макро- і мікронутрієнтах, в тому числі й незамінних, зіграв основну роль у формуванні такого складу жирових кульок, включаючи й їхні мембрани. Хоча мембрани жирових кульок мають подібний

склад із апікальними мембранами секреторних клітин молочної залози, їхні функції і активність перевершують звичайне доставляння нутрієнтів (Ward et al., 2006).

Сьогодні основна увага дослідників зосереджена на функціональних властивостях компонентів жирових мембран, оскільки їх відносять до нутріцевтиків. Насамперед, варто акцентувати увагу на біологічних властивостях нативних глобул, оскільки ділянки на мембранах жирових кульок є «пастками» для патогенів (Ward et al., 2006). Глікопротеїни оболонки жирових кульок діють як специфічні бактеріальні і вірусні ліганди у травному тракті новонароджених, тим самим запобігаючи інфікуванню патогенами (Murgiano et al., 2009). Білки лактадерин та муцин-1 – два глікопротеїни зв'язуються з патогенами і допомагають вивести їх із організму за допомогою війкової дії кишечника (Kvistgaard et al., 2004).

Ліпідна фракція оболонки жирових кульок представлена глікосфінголіпідами та фосфоліпідами, вони становлять біля половини маси мембран і функціонують як внутрішньоклітинні сигнальні молекули у різноманітних біологічних процесах, включаючи регуляцію і ріст клітин, розвиток, адгезію та взаємодію з клітинними мембранами (Astaire et al., 2003). На сьогодні недостатньо інформації, щоб описати складні взаємодії між ліпідами і протеїнами у оболонках жирових кульок, в тому числі, й щодо диференціації прояву біологічних ефектів.

В останні роки відкрито сотні біологічно активних пептидів, які є компонентами молочних протеїнів (Юкало, 2021), особлива увага приділяється встановленню їхньої біологічної дії, зокрема, попередженню розвитку багатьох хронічних захворювань чи раку (Kilara & Panyam, 2003).

Незважаючи на велику кількість робіт, присвячених цій проблемі, фізіологічна роль мембранних протеїнів, до кінця не з'ясована, однак варто проаналізувати деякі, найбільш вагомі дані. Вивчаючи вплив деяких протеїнів мембран жирових кульок коров'ячого молока, Спітцберг і Горевіт, встановили, що вони, включені як добавка до їжі, попереджують розвиток раку молочної залози у людей (Spitsberg & Gorewit, 1997). Цими ж авторами було показано, що протеїн, виділений із мембран жирових кульок – FABP, пригнічує ріст клітин раку молочної залози *in vitro*, причому в екстремально малих концентраціях (Spitsberg & Gorewit, 2002). Згодом команда французьких вчених, використовуючи афінну хроматографію, виявили онкосупресорні протеїни BRCA1 і BRCA2 в екстрактах, виділених із мембран жирових кульок коров'ячого і жіночого молока (Vissak et al., 2002).

Спітцберг вважає, що попередження розвитку раку у людини при включенні компонентів оболонок жирових кульок в їжу пов'язано із тим, що численні пептиди після вивільнення із оболонок жирових глобул адсорбуються у травному тракті і транспортуються з потоком крові до органів і тканин, де нагромаджуються і проявляють ефект інгібування щодо клітин, які піддаються канцерогенним трансформаціям (Spitsberg, 2005).

Важливим є встановлення факту, що оболонки жирових кульок містять компонент, подібний до протеїну, який *in vitro* інгібує бета-глюкуронідазу *E. coli*, ензим, включений у інтенстинальне розщеплення глюкуронідів (Ito et al., 1992). Відомо, що печінка відіграє основну роль у детоксикації багатьох метаболітів ендогенного і екзогенного походження. Фермент глюкуронілтрансфераза є важливим у детоксифікації. Глюкуронілтрансфераза нейтралізує токсичні компоненти в клітинах печінки шляхом утворення глюкуронідів, які в наступному екскретуються. Деякі бактерії кишечника продукують фермент бета-глюкуронідазу, який розщеплює глюкуроніди із вивільненням токсичних агентів, серед них є канцерогени, які можуть стимулювати розвиток, наприклад, раку кишечника.

Глікопротеїни мембран жирових кульок проявляють здатність інгібувати інфекцію, викликану *Helicobacter pylori* у мишей, а також гемаглютинацію і адгезію *Helicobacter pylori* в клітинній лінії HeLa S3 (Wang et al., 2001). В цих експериментах мембрани жирових кульок були виділені із коров'ячих вершків діафільтраційним способом і знежирені екстрацією хлороформ-метанолом. Обидва препарати мембран жирових кульок, знежирений і не знежирений, задавали перорально (400 мг/кг), результатом чого стала однакова дія на *Helicobacter pylori* у мукозному шарі шлунку мишей, що свідчить про головну роль білків у інгібуванні розвитку інфекції.

Глікопротеїни оболонок жирових кульок відіграють вагомую роль у загоєнні слизової шлунка після інфікування, що показано в експериментах на мишах (Wang et al., 2001). Це підтверджено і в інших роботах (Noremans et al., 2012).

Одним із головних білків оболонок жирових кульок, як вже було зазначено, є бутирофілін. Недавно було встановлено, що бутирофілін може модулювати енцефалітогенну Т-клітинну відповідь на мієлінолігодендроцитний глікопротеїн в експериментальних автоімунних енцефаломієлітах, що пов'язують із склерозами людини (Guggenmos et al., 2004). Ця властивість бутирофіліну зумовлена наявністю в його макромолекулі екстрацелюлярного IgV-подібного домену, який проявляє перехресну реактивність із секвенсом 76-87 у мієліновому олігодендроцитному глікопротеїні. Бутирофілін може

блокувати розвиток експериментального автоімунного енцефаломієліту або зупиняти його розвиток.

Функціональні властивості мембран жирових кульок, великою мірою, пов'язані із наявністю у їхньому складі й ліпідної фракції, зокрема фосфоліпідів. Встановлено, що фосфоліпіди, в тому числі й молочного походження, здійснюють вплив на цілий ряд клітинних функцій, включаючи ріст і розвиток, абсорбційні процеси, пам'ять, стійкість до стресів, розвиток хвороби Альцгеймера і мієлінізацію в центральній нервовій системі (Astaire et al., 2003).

Полярні ліпіди оболонки жирових кульок впливають на розвиток травного тракту у новонароджених. Одним із запропонованих механізмів такого впливу є взаємодія бактерії-ліпіди, результатом якої є модифікація кишкової мікрофлори (Santiago-Rodriguez et al., 2016). Біохімічні шляхи такої взаємодії вивчаються. У дослідженнях ліпосом порівняно з емульгованими ліпідами встановлено, що велику роль у зв'язуванні бактеріальними клітинами фосфоліпідів і експресії фосфоліполітичних ензимів у системах *in vitro* відіграє саме структура формувань і концентрація полярних сполук в них (Ortega-Anaya & Jiménez-Flores, 2019). Захисні властивості компонентів оболонки жирових кульок на епітелій кишечника були продемонстровані в дослідях, проведених на щуренятах. Встановлено, що при цьому модифікується склад мікрофлори у товстій кишці (Bhinder et al., 2017). Дослідженнями встановлено, що споживання мишами молочних полярних ліпідів може забезпечити сильніший бар'єр в товстому кишківнику завдяки підвищенню кількості келихоподібних мукоз-продукуючих клітин (Lecomte et al., 2016).

Активно вивчається також атимікробна активність екстрактів мембран жирових кульок, зокрема встановлено, що вони пригнічують розвиток *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* O157:H7 і *Listeria monocytogenes* (Clare et al., 2008). Результати досліджень Фуллера і співавторів продемонстрували антимікробну дію ліпідних екстрактів оболонки жирових кульок із маслянки і сироватки проти ротавірусної інфекції, при цьому екстракти із маслянки проявили більшу активність, ніж із сироватки (Fuller et al., 2013). Проте, що ліпідний екстракт оболонки жирових кульок як із сирого, так і термічно обробленого молока здійснював інгібуючу дію на експресію гену токсину Шига ентерогеморагічного штаму *E. coli*, що свідчить про ефективність саме ліпідної складової оболонки, повідомляється у роботі Телеза і співавторів (Tellez et al., 2012).

Препарати із оболонки жирових кульок зменшують прояви діареї (Zavaleta et al., 2011; Poppitt et al., 2014; Li et al., 2019).

Ізоляти оболонки жирових кульок проявляють антипроліферативні властивості проти ракових клітин товстої кишки, що продемонстровано в експериментах *in vitro* і *in vivo* (Snow et al., 2010; Zanabriga et al., 2013; Xu et al., 2015). Потужними антикацерогенними властивостями наділений сфінгом'єлін, що пов'язано із його участю у антипроліферативних шляхах, що в свою чергу, пригнічує онкогенез (Graves et al., 2007). Експериментально підтверджено, що сфінгом'єлін пригнічує рак кишечника, сфінгозин і кераміди індукують апоптоз клітин лінії аденокарциноми людини, а згодовування сфінголіпідів мишам із множинною інтестинальною неоплазією знижує кількість пухлин і ядер аберуючих крипт в кишківнику (Berra et al., 2002; Lemonnier et al., 2003). Сфінгом'єлін розщеплюється сфінгом'єліназою, дія якої інгібується у присутності гліцеролів, жирних кислот і фосфоліпідів, результатом чого є те, що більшість сфінгом'єліну перетравлюється і абсорбується в дистальному відділі тонкого кишечника або в прямій кишці (Liu et al., 2002). Сфінгом'єлін може сприяти попередженню прогресування канцеру молочної залози (Simon et al., 2010) та канцеру яєчників (Babahosseini et al., 2012).

Різні групи вчених підтверджують антиінфламаторний вплив молочних полярних ліпідів завдяки похідним сфінгом'єліну (Lecomte et al., 2016; Nilsson, 2016; Norris et al., 2016). Метаболіти сфінгом'єліну, такі як сфінгозин-1-фосфат, керамід-1-фосфат і керамід є важливими біологічно сигнальними молекулами, включеними у регуляцію ключових фізіологічних функцій, причетних до попередження численних патологічних процесів і інфламаторно зумовлених захворювань (Gomez-Muñoz et al., 2015). У споживачів добавок із екстрактом оболонки жирових кульок зареєстровано знижені рівні в сироватці крові проінфламаторних цитокінів IL-6, IL-8, TNF α , холестеролу і вищу концентрацію протиінфламаторного фактору IL-10 (Demmer et al., 2016).

Сфінгом'єлін відіграє важливу роль у нервових клітинах, забезпечуючи адгезію, взаємодію, модуляцію мембранних рецепторів, сигнальну трансдукцію і аксонну мієлінізацію. В останні роки питанням механізму впливу сфінгом'єліну на процеси нейрогенезу присвячено прискіпливу увагу (Wang et al., 2021). Було досліджено роль сфінгом'єліну молочного походження у нейро-поведінковому розвитку немовлят з дуже низькою вагою при народженні. При цьому контрольній групі згодовували сфінголіпідів, ізольовані з яєць. Результатами встановлено, що немовлята у дослідній групі після 12 місяців отримання молочних фосфоліпідів і сфінголіпідів мали покращений нейроповедінковий скор (Tanaka et al., 2013).

ВООЗ рекомендує грудне вигодовування немовлят мінімум 6 місяців після народження, а за можливості продовжити його поряд із догодовуванням до 2-х років. Однак, після 6-ти місяців більше ніж 50% дітей переводять на годування сумішами, наслідком чого є гірший когнітивний їх розвиток порівнюючи із дітьми, які отримують грудне молоко (Martin et al., 2016). Ці відмінності автори пояснюють різницею у концентрації гангліозидів, фосфоліпідів, протеїнів, олігосахаридів, імуноглобулінів і лактоферину у грудному молоці і сумішах. Важливу роль у формуванні здоров'я дітей відіграють полярні ліпіди і гангліозиди, особливо у становленні нервової системи. Наприклад, додавання інгредієнтів оболонки жирових кульок (з рівнем гангліозидів 9 проти 6 мг/100 г) до стандартних сумішей дітям від 2-8 до 24 тижнів призвело до значного покращення когнітивних тестів і зокрема IQ (Gurnida et al., 2012).

Фосфоліпіди оболонки жирових кульок скорочують час реакції-відповіді, покращують пам'ять та підвищують стресостійкість у людей похилого віку (Hellhammer et al., 2010).

Полярні ліпіди відіграють важливу роль у попередженні ожиріння, зокрема, дослідженнями встановлено, що згодовування фосфоліпідів мишам викликає зменшення маси печінки і жирового депо брижейки та вмісту ліпідів у них. При цьому знизилась щільність з'єднання білка zonula occludens-1 у слизовій оболонці тонкої кишки (Zhou & Ward, 2019). Також повідомляється про зменшення маси тіла у людей похилого віку при споживанні фосфоліпідів молока (Weiland et al., 2016).

Початок вивченню впливу компонентів оболонки жирових кульок на рівень холестеролу поклали дослідники, проведені Говардом і Марксом, які досліджували вміст холестеролу в сироватці крові двох груп волонтерів, що отримували в дієті однакову кількість жиру у вигляді масла і вершків. Рівень холестеролу у людей, які споживали вершки, був значно нижчим, порівнюючи із тими, хто отримував масло. Це вказує на те, що мембрани жирових кульок, які частково втрачаються в процесі виробництва масла (в значно більшій мірі при виробництві масла способом збиття), містять фактори, що здійснюють вплив на зниження концентрації холестеролу (Howard & Marks, 1979).

Пізніше Іто і співавтори підтвердили це положення (Ito et al., 1992). Ними було встановлено значний інгібуючий ефект мембран жирових кульок на підвищення рівня холестеролу у щурів. Цей ефект полягав у значному зв'язуванні холестеролу мембранами жирових кульок в тонкому кишечнику експериментальних тварин. Однак, цими авторами не було ідентифіковано компонентів, які відповідають за зв'язування холестеролу. Згодом Ног і Ку

продемонстрували, що один із молочних фосфоліпідів, а саме сфінгомієлін, є ефективним інгібітором інтестинальної абсорбції холестеролу у щурів. Механізм інгібування полягає у впливі ацильних груп довголанцюгових жирних кислот молочного сфінгомієліну на швидкість люмінального ліполізу, міцелярного розчинення і транспорту ліпідних міцел в ентероцити (Noh & Koo, 2004). Про те, що фосфоліпіди знижують рівень холестеролу і співвідношення аполіпротеїн В/аполіпротеїн А, а також попереджують ожиріння повідомляється у роботі Vors і співавторів (Vors et al., 2020).

Незважаючи на дуже малі кількості у складі молочного жиру, гангліозиди мембран жирових кульок мають також важливе біологічне значення. Зокрема встановлено, що вони інгібують утворення ентеротоксинів *Escherichia coli* і *Vibrio cholera* (Newberg & Chattervedi, 1992). Гангліозиди відіграють важливу роль у функціонуванні мозку, вони становлять 10% від ліпідів мозку, їх роль полягає у формуванні синапсів між нейронними клітинами і сприянні зв'язуванню молекул із синаптичними мембранами під час нейронної трансмісії (Rahmann, 1995). Вони також сприяють росту нейронів, поставляючи субстрати для формування нейронних оболонок, що забезпечує вищі когнітивні функції мозку (Wang et al., 2007).

Були проведені дослідження по включенню фосфоліпідів і гангліозидів (GM3 і GD3) у суміші для новонароджених. Показано, що згодовування таких сумішей дітям упродовж 6 місяців, що є критичним періодом для розвитку мозку, значно покращує когнітивний скор (Gurnida et al., 2012).

Позитивний вплив компонентів оболонок жирових кульок на розвиток мозку новонароджених продемонстровано у ряді робіт (Oshida et al., 2003; Tanaka et al., 2013). Крім того, нещодавні дослідження продемонстрували, що додавання до дієт компонентів оболонок жирових кульок із маслянки попереджує когнітивні розлади а також інсулінорезистентність у старіючих щурів (Tomé-Carneiro et al., 2018).

Екстракти оболонок жирових кульок наділені імуномодулювальними властивостями, що продемонстровано в дослідженнях впливу на проліферацію спленоцитів (Zanabriga et al., 2014, 2014b). Також екстракти оболонок жирових кульок підвищують рівень ІЛ-10 і знижують рівень інсуліну у людей похилого віку (Demmer et al., 2016). Препарати оболонок жирових кульок, отримані з маслянки, знижують вміст ліпопротеїнів низької щільності, ТАГ, ангіотензин-конвертуючого ензиму у крові та систолічний тиск у людей похилого віку (Conway et al., 2014). Добавки, що містять компоненти оболонок жирових кульок, підвищують вміст амінокислот, цинку і вітаміну В12 у сироватці крові,

при цьому знижують рівень кетонових тіл, триметил-N-оксиду і Т-хелперів першого типу (Lee et al., 2018).

Для людей похилого віку особливо важливим є споживання препаратів оболонки жирових кульок, що містять полярні ліпіди, оскільки вони зменшують слабкість, підвищують швидкість при ходьбі і покращують імунний статус (Kim et al., 2015), покращують стан м'язово-зв'язкового апарату (Ota et al., 2015) та підвищують координацію рухів (Kokai et al., 2018). Недаремно нещодавній огляд впливу компонентів мембран жирових кульок на здоров'я людини Раза і співавтори назвали: «Мембрани жирових кульок – Можлива панацея для розвитку нервової системи, попередження інфекцій, кардіометаболічних захворювань і слабості» (Shere Raza et al., 2021).

У процесі оброблення молока, вершків чи маслянки відбуваються зміни властивостей оболонки жирових кульок, зокрема нагрівання викликає денатурацію протеїнів як оболонки жирових кульок, так і сироваткових білків, які в денатурованому стані взаємодіють з компонентами оболонки жирових кульок (Morin et al., 2007) і як результат після нагрівання, наприклад пастеризації, деякі функціональні властивості ізолятів оболонки жирових кульок втрачаються (Xu et al., 2015). Здійснюється пошук альтернативних нагріванню способів оброблення молочної сировини для знешкодження мікрофлори. Одним із таких способів є оброблення пульсуючим електричним полем, поєднане із м'яким нагріванням (50 і 65°C), що ефективно знешкоджує умовні патогени і патогени та інактивує ензими (Sharma et al., 2014). Встановлено, що такий спосіб оброблення не впливає на біологічні властивості екстрактів оболонки жирових кульок щодо антипроліферативних властивостей ракових клітин на відміну від екстрактів із пастеризованої молочної сировини (Xu et al., 2015).

Важливо ще раз підкреслити, що у прояві біологічної активності компонентів оболонки жирових кульок вагому роль відіграє їх супрамолекулярна структура (Lopez, 2010).

Матеріал оболонки жирових кульок, який додають до молочних продуктів, поділяють на дві групи: інгредієнти, збагачені оболонковим матеріалом і фосфоліпідний екстракт. Для їх отримання задіяні різні фізичні процеси. Зокрема, у промислових умовах матеріал оболонки жирових кульок отримують із маслянки або сироватки шляхом мембранної фільтрації (розмір пор < 0,15 мкм) чи мікрофільтрації (Rombaut et al., 2007).

Поглиблене дослідження глобул молочного жиру в жіночому молоці показало, що, крім великих глобул, існує велика популяція нанокрапель із середнім діаметром 0,12 мкм, що складається з білків, ліпідів, РНК, вони

називаються лактосомами (нановезикулами екзосомами, наносомами) (Shere Raza et al., 2021).

На відміну від великих глобул молочного жиру лактосоми не містять великого ядра ТАГ і не є джерелом енергії для новонароджених. Швидше, вважається, що компоненти їх поверхні мають важливу біологічну функцію; зокрема імуномодулювальну (Argov-Argaman et al., 2010) і сигнальну (Shere Raza et al., 2021).

Ці частинки мають схожу щільність із плазмовими ліпопротеїнами високої щільності, їх можна відокремити від інших глобул молочного жиру ультрацентрифугуванням. Ліпідомічний та протеомічний аналіз цих природних наноструктур дозволяє припустити, що вони є похідними іншого секреторного або біосинтетичного шляху, ніж глобули молочного жиру (Argov-Argaman et al., 2010).

Таким чином, молочні ліпіди є комплексом різноманітних сполук, вони не тільки забезпечують організм енергетичним і пластичним матеріалом, але й проявляють різноманітні біологічні ефекти. До складу молочних ліпідів входять сотні жирних кислот, деякі з них є унікальними і характерними лише для молочного жиру жуйних тварин, зокрема РК. РК проявляє різносторонні ефекти: антиканцерогенні, антипухлинні, антиінфламаторні, імуномодулювальні, антисклеротичні. Різноманітні ефекти проявляє також ВК, яка в тканині молочної залози, а також в тканинах тіла людини десатурується до РК. Рівень цих кислот в молоці можна істотно підвищити різними чинниками, найуспішніше годівельними, а також в молочних продуктах – завдяки технологічним прийомам, наприклад підбором мікробіальних культур при виробництві кисломолочних продуктів і сирів.

Біологічними ефектами також наділена масляна кислота, розгалужені і непарні жирні кислоти, які також є унікальними у складі молочного жиру жуйних тварин, зокрема, корів.

Жирові кульки молока окутані мембраною, яка проявляє низку біологічних ефектів на структурному рівні, крім того містить сотні також унікальних сполук, які є біологічно сигнальними молекулами, включеними у регуляцію ключових фізіологічних функцій.

Можна стверджувати, що споживання повноскладового молока і молочних продуктів із високим вмістом молочного жиру забезпечує оздоровчий ефект на організм людей усіх вікових категорій.

Література до розділу 4

- Abu Ghazaleh A. A., & Holmes L. D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2897–2904.
- Abu Ghazaleh A. A., & Buckles W. R. The effect of solids dilution rate and oil source on trans C18:1 and conjugated linoleic acid production by ruminal microbes in continuous culture. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 963–969.
- Achman R. G. The dichotomy of the trans ethylenic bond in our foods. *Eur. J. Lipid Sci*, 2000. Vol. 102. P. 630–632.
- Albanes D., & Winick M. Are cell number and cell proliferation risk factors for cancer. *J. Natl. Cancer Inst*, 1988. Vol. 80. P. 772–775.
- Alexander D. D., Bylsma L. C., Vargas A. J., Cohen S. S., Doucette A., Mohamed M., Irvin S. R., Miller P. E., Watson H., & Fryzek J. P. Dairy consumption and CVD: A systematic review and meta-analysis. *Br. J. Nutr*, 2016. Vol. 115:737–750.
- Allinson D. B., Egan S. K., Barraij L. M., Caughman C., Infante M., & Heimbach J. T. Estimated intakes of trans fatty and other fatty acid in the US population. *J. Am. Diet Assoc*, 1999. Vol. 99. P. 166–174.
- Allred S. L., Dhiman T. R., Brennand C. P., Khanal R. C., McMahon D. J., & Luchini N. D. Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89. P. 234–248.
- Arab A., Akbarian S.A., Ghiyasvand R., & Miraghajani M. The effects of conjugated linoleic acids on 885 breast cancer: A systematic review. *Adv. Biomed. Res*, 2016. Vol. 5. P. 115.
- Arcos J. A., Otero C., Hill C. G., & Jr. Rapid enzymatic production of acylglycerols from conjugated linoleic acid and glycerol in a solvent free system. *Biotechnol. Lett*, 1998. Vol. 20. P. 617–621.
- Argov N., Wachsmann-Hogiu S., Freeman S. L., Huser T., Lebrilla C. B., & German J. B. Size-dependent lipid content in human milk fat globules. *J. Agric. Food Chem*, 2008. Vol. 56. P. 7446–7450.
- Argov-Argaman N., Smilowitz J. T., Bricarello D. A., Barboza M., Lerno L., Froehlich J. W., Lee H., Zivkovic A. M., Lemay D. G., Freeman S., Lebrilla C. B., Parikh A. N., & German J. B. Lactosomes: structural and compositional classification of unique nanometer-sized protein lipid particles of human milk. *J. Agric. Food Chem.*, 2010. Vol. 58. P. 11234–11242.
- Astaire J. C., Ward R., German J. B., & Jimenez-Flores R. Concentration of polar MFGM lipids from buttermilk by microfiltration and supercritical fluid extraction. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 2297–2307.

- Astaire J. C., Ward R., German J. B., & Jiménez-Flores R. Concentration of polar MFGM lipids from buttermilk by microfiltration and supercritical fluid extraction. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 2297–2307.
- Avramis C. A., Wang H., McBride B. W., Wright T. C., & Hill A. R. Physical and processing of milk, butter, and Cheddar cheeses from cows fed supplemental fish meal. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 2568–2576.
- Awad A. B., Hermann T., Fink C. S., & Horvath P. J. 18:1 n7 fatty acids inhibit growth and decreased inositol phosphate release in HT-29 cells compared to n9 fatty acids. *Cancerletters*, 1995. Vol. 91. P. 55–61.
- Babahosseini H., Roberts P. C., Schmelz E. M., & Agah M. Roles of bioactive sphingolipid metabolites in ovarian cancer cell biomechanics. *Annu. Int. Conf. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2012. P. 2436–2439.
- Baer R. J., Ryali J., Schingoethe D. J., Kasperson K. M., Donovan D. C., Hippen A. R., & Franklin S. T. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 345–353.
- Barr S. I., McCarron D. A., Heaney R. B., Dawson-Hughes B., Berga S. L., Stern J. S., & Oparil S. Effects of increased consumption of fluid milk on energy and nutrient intake, body weight, and cardiovascular risk factors in healthy older adults. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2000. Vol. 100. P. 10–817.
- Battacone G., Testone S., & Pulina G. Seasonal variation of conjugated linoleic acid (CLA) and n-3 fatty acids of goat milk fat and its transfer into cheese. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 483(Abstr.).
- Bauman D. E., Corl B. A., Baumgard L. H., & Griinari J. M. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In *Recent Advances in Animal Nutrition*, ed. by Garnsworthy P.C. and Wiseman J. Nottingham, 2001. P. 221–250.
- Bauman D. E., Corl B. A., & Peterson D. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, by Sebedio J.L., Christie W., Adlof R. Champaign:AOCS Press., 2003. P. 146–173.
- Bauman D. E., & Lock A. L. Conjugated linoleic acid: Biosynthesis and nutritional significance In *Advanced Dairy Chemistry Vol. 2: Lipids*, 3rd ed. Ed by Fox P.F. and McSweeney P.L.H. New York: Springer, 2006. P. 93–136.
- Bauman D. E., Tyburczy C., O'Donnel A. M., & Lock A. L. Production and use of high foods in human health. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.1). P.429(Abstr.).
- Baumgard L. H., Matitashvili E., Corl B. A., Dwyer D. A., & Bauman D. E. trans-10, cis-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 2155–2163.
- Belobrajdic D. P., & McIntosh G. H. Dietary butyrate inhibits NMU-induced mammary cancer in rats. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2000. Vol. 36. P. 37–47.

- Belury M. A. Dietary conjugated linoleic acid un health: Physiological effects and mechanisms of action. *Ann. Rev. Nutr.*, 2002. P. 505–531.
- Berra B., Colombo I., Sottocornola E., & Giacosa A. Dietary sphingolipids in colorectal cancer prevention. *Eur. J. Cancer*, 2002. Vol. 1. P. 193–197.
- Bhinder G., Allaire J. M., Garcia C., Lau J. T., Chan J. M., Ryz N. R., Bosman E. S., Graef F. A., Crowley S. M., Celiberto L. S., Berkmann J. C., Dyer R. A., Jacobson K., Surette M. G., Innis S. M., & Vallance B. A. Milk fat globule membrane supplementation in formula modulates the neonatal gut microbiome and normalizes intestinal development. *Scientific Reports*, 2017. Vol. 7. N. 45274.
- Bornet F. R., Brouns F., Tashiro Y., & Duvillier V. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Dig Liver Dis.*, 2002. Vol. 34(Suppl 2). P. S111–S120.
- Calder P. C. Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, 2015. Vol. 39. P. 18–32.
- Campbell W., Drake M. A., & Larick D. K. The impact of fortification with conjugated linoleic acid (CLA) on the quality of fluid milk. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 43–51.
- Canfora E. E., Jocken J. W., & Blaak E. E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2015. Vol. 11. P. 577–591.
- Chen G. C., Szeto I., Chen L., Han S., Li Y., van Hekezen R., & Qin L. Dairy products consumption and metabolic syndrome in adults: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci. Rep.*, 2015. Vol. 5. N. 14606.
- Chen M., Sun Q., Giovannucci E., Mozaffarian D., Manson J. E., Willett W. C., & Hu F. B. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *BMC Med.*, 2014. Vol 12. N. 215.
- Chouinard P. Y., Corneau L., Butler W. R., Chilliard Y., Drackley J. K., & Bauman D. E. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci*, 2001. Vol. 84. P. 680–690.
- Clare D. A., Zheng Z., Hassan H. M., Swaisgood H. E., & Catignani G. L. Antimicrobial properties of milk fat globule membrane fractions. *J. Food Prot.*, 2008. Vol. 71. P. 126–133.
- Clark S. D. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: A molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J. Nutr.*, 2001. Vol. 131. P. 1129–1132.
- Coakley M., Barrett E., Murphy J. J., Ross R. P., Devery R., & Stanton C. Cheese manufacture with milk with elevated conjugated linoleic acid levels caused by dietary manipulation. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 2919–2927.

- Contarini G., & M. Povolo. Phospholipids in milk fat: Composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *Int. J. Mol. Sci*, 2013. Vol. 14. P. 2808–2831.
- Conway V., Couture P., Gauthier S., Pouliot Y., & Lamarche B. Effect of buttermilk consumption on blood pressure in moderately hypercholesterolemic men and women. *Nutrition*, 2014. Vol. 30. P. 116–119.
- Corl B. A., Chouinard P. Y., Dwyer D. A., Bauman D. E., Griinary J. M., & Nurmela K. V. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *J. Dairy Sci*, 1998. Vol. 81. P. 223.
- Cunningham D. C., Harrison L. Y., & Shultz T. D. Proliferative responses of normal human mammary and MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid, conjugated linoleic acid and eicosanoid synthesis inhibitors in culture. *Anticancer Res.*, 1997. Vol. 17. P. 197–204.
- Demmer E., Van Loan M. D., Rivera N., Rogers T. S., Gertz E. R., German J. B., Smilowitz J. T., & Zivkovic A. M. Addition of a dairy fraction rich in milk fat globule membrane to a high-saturated fat meal reduces the postprandial insulinaemic and inflammatory response in overweight and obese adults. *J. Nutr. Sci.*, 2016. Vol. 5. N. e14.
- Dhiman T. R., Hopkins A., & Garg N. Fatty acid composition of dairy foods and their intake in humans. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 485(Abstr.).
- Dhiman T. R., Satter L. D., Pariza M. W., Galli M. P., Albright K., & Tolosa M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 1026–1027.
- do Espirito Santo A. P., Cartolano N. S., Silva T. F., Soares F. A., Gioielli L. A., Perego P., Converti A., & Oliveira M. N. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012. Vol. 154. P. 135–144.
- Doll R. The lessons of life: keynote address to the nutrition and cancer conference. *Cancer Res.*, 1992. Vol. 52. P. 2024s–2029s.
- Dugan M. E. R., Aalhus J. L., Schaefer A. L., Kramer J. K. G. The effect of conjugated linoleic acid on fat lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Can J. Fnim. Sci*, 1997. Vol. 77. P. 723–725.
- Fay M. P., Freedman L. S., Clifford C. K., & Midthune D. M. Effect of different types and amounts of fats on the development of mammary tumors in rodents: a review. *Cancer Lett.*, 1997. Vol. 57. P. 3979–3988.
- Ferlay A., Bernard L., & Meynadier A., Malpuech-Brugère C. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie*, 2017. Vol. 141. P. 107-120.

- Fogerty A. C., Ford G. L., & Svoronos D. Octadeca-9,11-dienic acid in foodstuffs and in the lipids of human blood and breast milk. *Nutr. Rep. Int.*, 1988. Vol. 38. P. 937–944.
- Fuller K. L., Kuhlenschmidt T. B., Kuhlenschmidt M. S., Jiménez-Flores R., & Donovan S. M. Milk fat globule membrane isolated from buttermilk or whey cream and their lipid components inhibit infectivity of rotavirus in vitro. *J. Dairy Sci*, 2013. Vol. 96. P. 3488–3497
- Garcia H. S., Keough K. J., Arcos J. A., & Hill C. G., Jr. Interesterification (acidolysis) of butterfat with conjugated linoleic acid in a batch reactor. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 371–377.
- Garcia H. S., Storkson J. M., Pariza M. W., & Hill C. G., Jr. Enrichment of butter oil with enzymatic conjugated linoleic acid via interesterification (acidolysis) reactions. *Biotechnol. Lett.*, 1998. Vol. 20. P. 393–395.
- German J. B., Gibson R. A., Krauss R. M., Nestel P., Lamarche B., van Staveren W. A., Steijns J. M., de Groot L. C. P. G. M., Lock A. L., & Destailats F. Review. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur. J. Nutr.*, 2009. Vol. 48. 191–203.
- Gervais R., Fliss I., Kheadr E., Farnworth E. R., Van Calsteren M. R., Champagne C., & Chouinard P. Y. Digestion of CLA-enriched milk fatty acids studied in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 275(Abstr.).
- Gomez-Muñoz A., Presa N., Gomez-Larrauri A., Rivera I.-G., Trueba M., & Ordoñez M. Control of inflammatory responses by ceramide, sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate. *Prog. Lipid Res.*, 2016. Vol. 61. P. 51–62.
- Gonzales S., Duncan S. E., O'Keefe S. F., Sumner S. S., & Herbein J. H. Oxidation textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. *J. Dairy Sci*, 2003. Vol. 86. P. 70–77.
- Graves E. L. F., Beaulieu A. D., & Drackley J. K. Factors affecting the concentration of sphingomyelin in bovine milk. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 706–715.
- Griinari J. M., Corl B. A., Lacy S. H., Chouinard P. Y., Nurmela K. V. V., & Bauman D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. nutr.*, 2000. Vol. 130. P. 2285–2291.
- Grubben M. J., van den Braak C. C., Essenberg M., Olthof M., Tangerman A., Katan M. B., & Nagengast F. M. Effect of resistant starch on potential biomarkers for colonic cancer risk inpatients with colonic adenomas: a controlled trial. *Dig Dis Sci*, 2001. Vol. 46. P. 750–756.
- Guggenmos J., Schubari A. S., Ogg S., Andersson M., Olsson T., Mather I. H. & Linington C. Antibody cross-reactivity between myelin oligodendrocyte glycoprotein and the milk butyrophilin in multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 2004. Vol. 172. P. 661–668.

- Guilloteau P., Martin L., Eeckhaut V., Ducatelle R., Zabielski R., & Van Immerseel F. From the gut to the peripheral tissues: The multiple effects of butyrate. *Nutr. Res. Rev.*, 2010a. Vol. 23. P. 366–384.
- Gurnida D. A., Rowan A. M., Idjradinata P., Muchtadi D., & Sekarwana N. Association of complex lipids containing gangliosides with cognitive development of 6-month-old infants. *Early Hum. Dev.*, 2012. Vol. 88. P. 595–601
- Ha Y. L., Grimm N. K., & Pariza M. W. Antycarcinogens from ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 1987. Vol. 8. P. 1881–1887.
- Ha Y. L., Grimm N. K., & Pariza N. W. Newly recognized anticancerogenic fatty acids: Identification in natural and processed cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 1989. Vol. 37. P. 75–81.
- Haas M. J., Kramer K. G., McNeil G., Scott K., Foglia T. A. Sehat N., Fritsche J., Mossoba M. M., & Yurawech M. P. Lipase-catalysed fractionation of conjugated linoleic acid isomers. *Lipids*, 1999. Vol. 34. P. 979–987.
- Hamer H. M., Jonkers D., Venema K., Vanhoutvin S., Troost F. J., & Brummer R. J. Review article: The role of butyrate on colonic function. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2008. Vol. 27. P. 104–119.
- Hanuš O., Samková E., Křížová L., Hasoňová L., & Kala R. Role of Fatty Acids in Milk Fat and the Influence of Selected Factors on Their Variability—A Review. *Molecules*, 2018. Vol. 23. P. 1636.
- Hellhammer J., Waladkhani A.-R., Hero T., & Buss C. Effects of milk phospholipid on memory and psychological stress response. *Br. Food J.*, 2010. Vol. 112. P. 1124–1137.
- Hennessy A. A., Ross P. R., Fitzgerald G. F., & Stanton C. Sources and bioactive properties of conjugated dietary fatty acids. *Lipids*, 2016. Vol. 51. P. 377–397.
- Hilakivi-Clarke L., Clarke R., Onojafe I., Raygada M., Cho E., & Lippman M. A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*, 1997. Vol. 94. P. 9372–9377.
- Holman R. T., Push F., Svingen B., & Dutton H. T. Unusual isomeric polyunsaturated fatty acids in liver phospholipids of rats fed hydrogenated oil. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991. Vol. 88. P. 4380–4834.
- Horemans T., Kerstens M., Clais S., Struijs K., van den Abbeele P., Van Assche T., Maes L., & Cos P. Evaluation of the anti-adhesive effect of milk fat globule membrane glycoproteins on *Helicobacter pylori* in the human NCI-N87 cell line and C57BL/6 mouse model. *Helicobacter*, 2012. Vol. 17(4). P. 312–8.
- Houseknecht K. L., Vanden Heuvel J. P., Moya-Camarena S. Y., Portocarrero C. P., Peck L. W., Nickel K. P., & Belury M. A. Dietary conjugated linoleic acid normalizes

- impaired glucose tolerance in Zucker doabetic fatty fa/fa rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998. Vol. 244. P. 678–682.
- Howard A. N., & Marks J. Effect of milk products on serum cholesterol. *Lancet*, 1979. Vol. 2. P. 957.
- Hu S.-B., Zhuo C.-F., Zou G.-Y., Deng Z.-Y., & Li J. Positional distribution of trans fatty acids in triglycerides and phospholipids of partially hydrogenated soybean oil and ruminant animal fat. *Shipin Kexue*, 2017. Vol. 38. P. 276–283.
- Ip C., Banni B., Angioni E., Carta G., McGinley J., Thompson H.J., Barbano D., & Bauman D. Conjugated linoleic acid enriched butterfat alters mammary gland morphogenesis and reduced cancer risk an rats. *J. Nutr.*, 1999. Vol. 129. P. 2135–2142.
- Ip C., Chin S. P., Scimeca J. A., & Pariza M. W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.*, 1991. Vol. 51. P. 6118–6124.
- Ip C., Juang C., Thompson H. J., & Scimeca J.A. Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post-initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1997. Vol. 18. P. 755–759.
- Ip C., Scimeca J. A., & Thompson H. Effect if timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer.*, 1995. Vol. 24. P. 241–247.
- Ip C., Singh M., Thompson H. J., & Scimeca J. A. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 1994. Vol. 54. P. 1212–1215.
- Ito O., Kamata S., Hayashi M., Suzuki Y., Sakou T. & Motoyoshi S. Inhibitory effect of cream and milk fat globule membrane on hypercholesterolemia in the rat. *Anim. Sci. Technol.*, 1992. Vol. 63. P. 1022–1027.
- Jensen R. G. Invited reviw: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci*, 2002. Vol. 85. P. 295–350.
- Jiang J., Bjorck L., & Fonden R. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.*, 1998. Vol. 85. P. 95–102.
- Jiang J., Wolk A., & Vessby B. Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999. Vol. 70. P. 21–27.
- Jonez D. F., & Weiss W. P. Effects of feeding dairy cows differing concentration of tallow and fish oil on milk yield and composition. – Reseach and reviews. *The Ohio State Univ., Dep. Anim. Sci*, 1998. P. 108–111.
- Kay J. K., Mackle T. R., Auldism M. J., Thomson N. A., & Bauman D. E. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. P. 369–378.

- Kelly M. L., Berry J. R., Dwyer D. A., Griinary J. M., Choinrad P. Y., VanAmburgh M. E., & Bauman D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998. Vol. 128. P. 881–885.
- Kelsey J. A., Corl B. A., Collier R. J., & Bauman D. E. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2003. Vol. 86. P. 2588–2597.
- Kemp P., White R. W., & Lander D. J. the biohydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. *J. Gen. Microbiol.*, 1975. Vol. 90. P. 100–1147.
- Kepler C. R., & Tove S. V. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 1967. Vol. 242. 5686–5692.
- Khanal R. C., & Dhiman T. R. Milk fat conjugated linoleic acid in selected commercial dairies of Utah and Idaho. *J. Dairy Sci.*, 2004. Vol. 87 (Suppl. 1). P. 335.
- Kilara A., & Panyam D. Peptides from milk proteins and their properties // *Crit. Rev. Food. Nutr.*, 2003. Vol. 43. P. 607–633.
- Kim J. H., Kim Y., Kim Y. J., & Park Y. Conjugated Linoleic Acid: Potential Health Benefits as a Functional Food Ingredient, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 2016. Vol. 7. P. 221–244.
- Kim H., Suzuki T., Kim M., Kojima N., Ota N., Shimotoyodome A., Hase T., Hosoi E., & Yoshida H. Effects of exercise and milk fat globule membrane (MFGM) supplementation on body composition, physical function, and hematological parameters in community-dwelling frail Japanese women: A randomized double blind, placebo-controlled, follow-up trial. *PLoS One*, 2015. Vol. 10. N. e0116256.
- Kokai Y., Mikami N., Tada M., Tomonobu K., Ochiai R., Osaki N., Katsuragi Y., Sohma H., & Ito Y. M. Effects of dietary supplementation with milk fat globule membrane on the physical performance of community-dwelling japanese adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Nutr. Sci.*, 2018. Vol. 7. N. e18.
- Kraft J., Jetton T., Satish B., & Gupta D. Dairy-derived bioactive fatty acids improve pancreatic beta-cell function. *FASEB J.*, 2015. Vol. 29. P. 608–625.
- Kramer J. K. G., Parodi P. W., Jensen R. G., Mossoba M. M., Yurawech M. P., & Adlof R. O. Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids.*, 1998. Vol. 33. P. 835.
- Kritchevsky D., Tepper S. A., Wright S., & Czarnecki S. K. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. *Nutr. Res.*, 2002. Vol. 22. P. 1275–1279.
- Kritchevsky D., Tepper S. A., Wright S., Tso P., & Czarnecki S. K. Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: Growth and regression of lesions. *Lipids.*, 2004. Vol. 39. P. 611–616.

- Kuhnt, K., Degen C., & Jahreis G. Evaluation of the impact of ruminant trans fatty acids on human health: Important aspects to consider. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2016. Vol. 56. P. 1964–1980.
- Kvistgaard A. S., Pallesen L. T., Arias C. F., Lopez S., Petersen T. E., Heegaard C. W., & Rasmussen J. T. Inhibitory effects of human and bovine milk constituents on rotavirus infections. *J. Dairy Sci.*, 2004. Vol. 87. P. 4088–4096.
- Labonté M.-È., Couture P., Richard C., Desroches S., & Lamarche B. Impact of dairy products on biomarkers of inflammation: A systematic review of randomized controlled nutritional intervention studies in overweight and obese adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2013. Vol. 97. P. 706–717.
- Larsen T. M., Toubro S., & Astrup A. Efficiency and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: Evidence from animal and human studies. *J. Lipid Res.*, 2003. Vol. 44. P. 2234–2241.
- Larsson S. C., Crippa A., Orsini N., Wolk A., & Michaëlsson K. Milk consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 2015. Vol. 7. P. 7749–7763.
- Lock A. L., Parodi P. W., & Bauman D. E. The biology of trans fatty acids: implications for human health and the dairy industry, *Aust. J. Dairy Technol.*, 2005. Vol. 60. P. 134–142.
- Lecomte M., Couédelo L., Meugnier E., Plaisancié P., Létisse M., Benoit B., Gabert, A. Penhoat, A. Durand, G. Pineau, F. Joffre, A. Géloën, C. Vaysse, F. Laugerette L., & Michalski M.-C. Dietary emulsifiers from milk and soybean differently impact adiposity and inflammation in association with modulation of colonic goblet cells in high-fat fed mice. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2016. Vol. 60. P. 609–620.
- Lee K., & Lee Y. Production of *c9,t11*- and *t10,c12*-conjugated linoleic acids in humans by *Lactobacillus rhamnosus* PL60. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2009. Vol. 19. P. 1617–1619.
- Lee H., Zavaleta N., Chen S.-Y., Lönnerdal B., & Slupsky C. Effect of bovine milk fat globule membranes as a complementary food on the serum metabolome and immune markers of 6–11-month-old Peruvian infants. *NPJ Sci. Food*, 2018b. Vol. 2.
- Lemonnier L. A., Dillehay D. L., Vespremi M. J., Abrams J., Brody E., & Schmelz E. M. Sphingomyelin in the suppression of colon tumors: Prevention versus intervention. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003. Vol. 419. P. 129–138.
- Li X., Peng Y., Li Z., Christensen B., Heckmann A. B., Stenlund H., Lönnerdal B., & Hernell O. Feeding infants formula with probiotics or milk fat globule membrane: A double-blind, randomized controlled trial. *Front Pediatr.*, 2019b. Vol. 7. P. 347.
- Lima Alves L., Santos Richards N., Mariutti L., Nogueira G., & Bragagnolo N. Inulin and probiotic concentration effects on fatty and linoleic conjugated acids in cream cheeses. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011. Vol. 233. P. 667–675.

- Lin H., Boylstone T. D., Luedecke L. O., & Shultz T.D. Conjugated linoleic acid content of Cheddar-type cheeses as affected by processing. *J. Food. Sci*, 1999. Vol. 64. P. 874–878.
- Lin T. Y. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem.*, 2000. Vol. 69. P. 27–31.
- Lin T. Y., Lin C. W., & Lee C. H. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chem.*, 1999. Vol. 67. P. 1–5.
- Liu J.J., Nilsson A., & Duan R.D. In vitro effects of fat, FA, and cholesterol on sphingomyelin hydrolysis induced by rat intestinal alkaline sphingomyelinase. *Lipids.*, 2002. Vol. 37. P. 469–474.
- Liu P., Shen S. R., Ruan H., Zhou Q., Ma L. L., & He G. Q. Production of conjugated linoleic acids by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented Chinese pickles. *J. Zhejiang Univ. Sci*, 2011. Vol. 12. P. 923–930.
- Lock A. L., & Garnsworthy P. C. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Anim. Sci*, 2002. Vol. 74. P. 163–176.
- Lock A. L., Corl B. A., Bauman D. E., Barbano D. M., & Ips C. The anticancer effects of vaccenic acid in milk fat are due to its conversion to conjugated linoleic acid via Δ^9 -desaturase. *J. Dairy Sci*, 2004. Vol. 87. (Suppl.1). P. 425.
- Lock A. L., Horne C. A. M., Bauman D. E., & Salter A. M. Butter naturally enriched in conjugated linoleic acid and vaccenic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamster. *J. Nutr.*, 2005. Vol. 135. P. 1934–1939.
- Lopez G. S., Echeverria E., Tsui I., & Balch B. Changes in the content of conjugated linoleic acid (CLA) in processed cheese during processing. *Food. Res. Int.*, 1994. Vol. 27. P. 61–64.
- Lopez C. Lipid domains in the milk fat globule membrane: Specific role of sphingomyelin. *Lipid Technol.*, 2010. Vol. 22. P. 175–178.
- Lordan R., & Zabetakis I. Invited review: The anti-inflammatory properties of dairy lipids *J. Dairy Sci*, 2017. Vol. 100. P. 4197–4212.
- Lynch J. M., Lock A. L., Dwyer D. A., Norbaksh R., Barbano D. M., & Bauman D. E. Flavor and stability of pasteurized milk with elevated levels of conjugated linoleic acid and vaccenic acid. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 489–498.
- Malpuech-Brugère C., Verboeket-van de Venne W. P., Mensink R. P., Arnal M. A., Morio B., Brandolini M., Saebo A., Lassel T. S., Chardigny J. M., Sebedio J. L., & Beaufrere B. Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obes. Res.*, 2004. Vol. 12. P. 591–598.

- Martin C. R., Ling P.-R., & Blackburn G. L. Review of infant feeding: Key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*, 2016. Vol. 8. P. 279.
- Mather I. H. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *J. Dairy Sci*, 2000. Vol. 83. P. 203–247.
- McGuire M. K., McGuire M. A., Ritzenhaler K., & Shultz T. D. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research* ed by Yurawech M.P., Mossoba M.M., Kramer J.K.G. et al. Champaign, 1999. P. 12–20.
- McGuire M. A., & McGuire M. K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Journal of Animal Science*, 1999. Vol. 77. P. 1–8.
- Meijer K., de Vos P., & Priebe M. G. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: What relevance for health? *Curr. Opin. Clin. Nutr.*, 2010. Vol. 13. P. 715–721.
- Meng W., Ruo-Lin Z., Ting L., Ze-Yuan D., & Jing L. *Trans* triacylglycerols from dairy products and industrial hydrogenated oil exhibit different effects on the function of human umbilical vein endothelial cells via modulating phospholipase A2/arachidonic acid metabolism pathways. *J. Dairy Sci*, 2021. Vol. 104. P. 6399–6414.
- Mensink R. P., & Katan M. B. Trans monounsaturated fatty acid in nutrition and their impact on serum lipoprotein levels. *Prog. Lipid Res.*, 1993. Vol. 32. P. 111–122.
- Mensink, R. P., Zock P. L., Kester A. D., & Katan M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003. Vol. 77. P. 1146–1155.
- Michels K. B., Trichopoulos D., Robins J. M., Rosner B. A., Manson J. E., Hunter D. J., Colditz G. A., Hankinson S. E., Speizer F. E., & Willett W. C. Birthweight as a risk factor breast cancer. *Lancet.*, 1996. Vol. 348. P. 1542–1546.
- Miller G. D., Jarvis J. K., & McBean L. D., Dairy foods and cardiovascular health / In *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. 2nd. National Dairy Council. Boca Raton, 1999. P. 65–111.
- Moate P. J., Chalupa W., Boston R. C., & Lean I. J. Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 4730–4739.
- Morin P., Jiménez-Flores R., & Pouliot Y. Effect of processing on the composition and microstructure of buttermilk and its milk fat globule membranes. *Int. Dairy J.*, 2007. Vol. 17. P. 1179–1187.

- Moss M., & Freed D. The cow and the coronary: Epidemiology, biochemistry and immunology. *Int. J. Cardiol.*, 2003. Vol. 87. P. 203–216.
- Murgiano L., Timperio A. M., Zolla L., Bongiorno S., Valentini A., & Pariset L. Comparison of milk fat globule membrane (MFGM) proteins of Chianina and Holstein cattle breed milk samples through proteomics methods. *Nutrients*, 2009. Vol. 1. P. 302–315.
- Nestel P. Nutrition and metabolism: The changing face of the dairy-cardiovascular risk paradox. *Curr. Opin. Lipidol*, 2012. Vol. 23. P. 1–3.
- Newberg D. S., & Chattervedi P. Neutral glycolipids of human and bovine milk. *Lipids*, 1992. Vol. 27. P. 923–927.
- Nilsson Å. Role of sphingolipids in infant gut health and immunity. *J. Pediatr.*, 2016. Vol. 173. P. S53–S59.
- Noakes M., Nestel P. J., & Clifton P. M. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of humans consuming the products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996. Vol. 63. P. 42–46.
- Noh S. K., & Koo S. L. Milk sphingomyelin is more effective than egg sphingomyelin in inhibiting intestinal absorption of cholesterol and fat in rats. *J. Nutr.*, 2004. Vol. 134. P. 2611–2616.
- Noone E. J., Roche H. M., Nugent A. P., & Gibney M. J. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Br. J. Nutr.*, 2002. Vol. 88. P. 243–251.
- Norris G. H., Jiang C., Ryan J., Porter C. M., & Blesso C. N. Milk sphingomyelin improves lipid metabolism and alters gut microbiota in high fat diet-fed mice. *J. Nutr. Biochem.*, 2016. Vol. 30. P. 93–101.
- Ortega-Anaya J., & Jiménez-Flores R. *Symposium review: The relevance of bovine milk phospholipids in human nutrition—Evidence of the effect on infant gut and brain development* *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 2738–2748.
- O'Shea M., Devery R., Lawless F., Murphy J., & Stanton C. Milk fat conjugated linoleic acid inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cells. *Anticancer Res.*, 2000. Vol. 20. P. 3591–3602.
- Oshida K., Shimizu T., Takase M., Tamura Y., Shimizu T., & Yamashiro Y. Effects of dietary sphingomyelin on central nervous system myelination in developing rats. *Pediatr. Res.*, 2003. Vol. 53. P. 589–593.
- Ota N., Soga S., Hase T., & Shimotoyodome A. Daily consumption of milk fat globule membrane plus habitual exercise improves physical performance in healthy middle-aged adults. *Springerplus*, 2015. Vol. 4. P. 120.

- Panagiotakos D. B., Pitsavos C. H., Zampelas A. D., Chrysohoou C. A., & Stefanadis C. I. Dairy products consumption is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease in apparently healthy adults: The ATTICA study. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2010. Vol. 29. P. 357–364.
- Pandit A., Anand S., Kalscheur K., & Hassan A. Production of conjugated linoleic acid by lactic acid bacteria in milk without any additional substrate. *Int. J. Dairy Technol.*, 2012. Vol. 65. P. 603–608.
- Pariza M. Conjugated linoleic acid, a newly recognized nutrient. *Chem. Ind.*, 1997. Vol. 12. P. 464–466.
- Pariza M., Park Y., & Cook M. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.*, 2001. Vol. 40. P. 283–298.
- Pariza M. W. The biological activities of conjugated linoleic acid / In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Ed. by Yurawech M.P., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Pariza M.W., Nelson G. Vol.1. Champaign, IL: AOCS Press, 1999. P. 12–20.
- Pariza M. W., Ashoor S. H., Chu F.S., & Lund D. B. Effects of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Lett.*, 1979. Vol. 7. P. 63–69.
- Pariza M. W., Park Y., & Cook M. E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: Evidence and speculation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 2000. Vol. 223. P. 8–13.
- Park Y., Albright K. J., Storkson J. M., Liu W., Cook M. E., & Pariza M. W. Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids*, 1999. Vol. 34. P. 243–248.
- Park Y. S., Behre R. A. McGuire M. A., Shultz T. D., & McGuire M. K. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) and CLA in human milk. *FASEB J.*, 1997. Vol. 11. P. 239 (Abstr.).
- Parodi P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 1339–1349.
- Parodi P.W. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *J. Dairy Technol.*, 1994. Vol. 49. P. 93–97.
- Parodi P. W. Dairy product consumption and the risk of breast cancer. *J. Am. Col. Nutr.*, 2005. Vol. 25. P. 556S–568S.
- Parodi P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci*, 1999. Vol. 82. P. 1339–1349.

- Pollard M. R., Gunstone F. D., James A. T., & Morris L. J. Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids.*, 1980. Vol. 15. P. 306–314.
- Poppitt S. D., McGregor R. A., Wiessing K. R., Goyal V. K., Chitkara A. J, Gupta S., Palmano K., Kuhn-Sherlock B., & McConnell M. A. Bovine complex milk lipid containing gangliosides for prevention of rotavirus infection and diarrhoea in northern Indian infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2014. Vol. 59. P. 167–171.
- Poutzalis S., Anastasiadou A., Nasopoulou C., Megalemou K., Sioriki E., & Zabetakis I. Evaluation of the in vitro antiatherogenic activities of goat milk and goat dairy products. *Dairy Sci. Technol.*, 2016. Vol. 96. P. 317.
- Praagman J., Beulens J. W., Alsema M., Zock P. L, Wanders A. J., Sluijs I., & van der Schouw Y. T. The association between dietary saturated fatty acids and ischemic heart disease depends on the type and source of fatty acid in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands cohort. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2016. Vol. 103. P. 356–365.
- Precht D., & Molkentin J. Analysis and seasonal variation of conjugated linoleic acid and further cis/trans-isomers of C18:1 and C18:2 in bovine milk fat. *Kieler Milchwirtsch.*, 1999. Vol. 51. P. 63–78.
- Precht D., Molkentin J., Destailats F., & Wolf R. L. Comparative studies on individual isomeric 18:1 acids in cow, goat, and ewe milk fat. *Lipids.*, 2001. Vol. 36. P. 827–832.
- Rahmann H. Brain gangliosides and memory formation. *Behav. Brain Res.*, 1995. Vol. 66. P. 105–116.
- Ran-Ressler R.R., Khailova L., Arganbright K. M., Adkins-Rieck C. K., Jouni Z. E., Koren O., Ley R. E., Brenna J. T., & Dvorak B. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing *Enterocolitis* and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *PLoS ONE*, 2011. Vol. 6.
- Ratnayake WE. M. N., & Pelletier G. Positional and geometric isomers of linoleic acid in partially hydrogenated oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1992. Vol. 69. P. 95–105.
- Reh W. A., Maga E. A., Collette N. M. B., Moyer A., Conrad-Brink J. S., Taylor S. DePeters E. J., Oppenheim S., Rowe J. D., BonDurant R. H., Anderson G. B., & Murray J. D. Hot topic: Using a stearyl-CoA desaturase transgene to alter milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci.*, 2004. Vol. 87. P. 3510–3514.
- Riserus U., Vessby B., Arnlov J., & Basu S. Effects of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and

- proinflammatory markers in obese men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004. Vol. 80, Iss. 2. P. 279–283.
- Riserus U., Arner P., Brismar K., & Vessby B. Treatment with dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 2002. Vol. 25(9). P. 1516–1521.
- Ritzenhaler K. L., McGuire M. K., Falen R., Shultz T. D., Dasgupta N., & McGuire M. A. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.*, 2001. Vol. 131. P. 1548–1554.
- Rocher H., Noone E., Gibney A.N. Conjugated linoleic acid: A novel therapeutic nutrient? *Nutr. Res. Rev.* 2001. 14(1).173-88.
- Rodriguez M. A., Pellegrini P., Muset G., Gatti P., Garciarena D. A., & Gagliostro G. A. Persistence of conjugated linoleic acid (CLA) on three dairy products. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90(Suppl.). P. 482(Abstr.).
- Rombaut R., Dejonckheere V., & Dewettinck K. Filtration of milk fat globule membrane fragments from acid buttermilk cheese whey. *J. Dairy Sci*, 2007. Vol. 90. P. 1662–1673.
- Salimen L., Mutanen M., Jauhiainen M., & Aro A. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J. Nutr. Biochem.*, 1998. Vol. 9. P. 93–98.
- Santiago-Rodriguez T. M., Cano R., & Jimenez-Flores R. Potential applications of metagenomics to assess the biological effects of food structure and function. *Food Funct.*, 2016. Vol. 7. P. 4160–4169.
- Schonberg S., & Krokan H. E. The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cell lines is in part due to increased lipid peroxidation // *Anticancer Res.*, 1995. Vol. 15. P. 1241–1246.
- Sébédio J. L., Juanéda P., Grégoire S., Chardigny J. M., Martin J. C., & Ginies C. Geometry of conjugated double bonds of CLA isomers in a commercial mixture and in their hepatic 20:4 metabolites. *Lipids*, 1999. Vol. 853. P. 1319–1325.
- Shantha N. C., & Decker E. A. Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese containing hydrogen donors, iron and dairy-based additives. *Food. Chem.*, 1993. Vol. 47. P. 257–261.
- Shantha N. C., Decker E. A., & Ustunol Z. Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1992. Vol. 69. P. 425–428.
- Sharma P., Bremer P., Oey I., & Everett D. W. Bacterial inactivation in whole milk using pulsed electric field processing. *Int. Dairy J.*, 014b. Vol. 35. P. 49–56.

- Shingfield K. L., Reynolds C. K., Hervas G., Griinari L. M., Grandison A.S., & Beever D. E. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and unflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2006. Vol. 89(2). P. 714-732.
- Shultz T. D., Chew B .P. Seaman W. R., & Luedecke L. O. Inhibitory effect of conjugated dienoic derivates of linoleic acid and β -carotene on the in vitro growth oh human cancer cells. *Cancer Lett.*, 1992. Vol. 63. P. 125–133.
- Simon K. W., Tait L., Miller F., Cao C., Davy K. P., LeRoith T., & Schmelz E. M. Suppression of breast xenograft growth and progression in nude mice: Implications for the use of orally administered sphingolipids as chemopreventive agents against breast cancer. *Food Funct.*, 2010. Vol. 1. P. 90–98.
- Singh K., Hartley D. G., McFadden T. B., & Mackenzie D. D. S. Dietary fat regulates mammary stearoyl CoA desaturase expression and activity in lactating mice. *J. Dairy Res.*, 2004. Vol. 71. P. 1–6.
- Siri-Tarino P. W., Sun Q., Hu F. B., & Krauss R. M. Metaanalysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010. Vol. 91. P. 535–546.
- Siri-Tarino P. W., Sun Q., Hu F. B., & Krauss R. M. Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010. Vol. 91. P. 502–509.
- Snedman A. E. M., Gustafsson I.-B., Berglund L. G.T., & Vessby B. O. H. Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milkfat and metabolic risk factors. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999. Vol. 69. P. 22–29.
- Snow D. R., Jimenez-Flores R., Ward R. E., Cambell J., Young M. J., Nemere I., & Hintze K. J. Dietary milk fat globule membrane reduces the incidence of aberrant crypt foci in Fischer-344 rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2010. Vol. 58. P. 2157–2163.
- Sofi F., Buccioni A., Cesari F., Gori A. M., Minieri S., Mannini L., Casini A., Gensini G. F., Abbate R., & Antongiovanni M. Effects of a dairy product (pecorino cheese) naturally rich in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid on lipid, inflammatory and haemorheological variables: A dietary intervention study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2010. Vol. 20. P. 117–124.
- Sosa-Castañeda J., Hernández-Mendoza A., Astiazarán-García H., Garcia H. S, Estrada-Montoya M. C., González-Córdova A. F., & Vallejo-Cordoba B. Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to produce conjugated linoleic acid in milk and to adhere to the intestinal tract. *J. Dairy Sci*. 2015. Vol. 98. P. 6651–6659.
- Spitsberg V. L. Invited reviw: Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci*, 2005. Vol. 88. P. 2289–2294.

- Spitsberg V. L., & Gorewit R. C. Anti-cancer priteins found in milk. CALS News, Cornell University, 1997. Vol. 3 (5).
- Spitsberg V. L., & Gorewit R. C. Isolation, purifacation and characterization of fatty-acid binding protein from milk fat globule membrane: Effect of bivine growth hormone treatment. Pak. J. Nutr., 2002. Vol. 1. P.43–48.
- Sporn M. B. The war on cancer. Lancet., 1996. Vol. 347. P. 67–676.
- Tanaka K., Hosozawa M., Kudo N., Yoshikawa N., Hisata K., Shoji H., Shinohara K., & Shimizu T. The pilot study: Sphingomyelin-fortified milk has a positive association with the neurobehavioural development of very low birth weight infants during infancy, randomized control trial. Brain Dev., 2013. Vol. 35. P. 45–52.
- Tellez A., Corredig M., Guri A., Zanabria R., Griffiths M. W., & Delcenserie V. Bovine milk fat globule membrane affects virulence expression in *Escherichia coli* O157:H7. J. Dairy Sci, 2012. Vol. 95. P. 6313–6319.
- Thompson H., Zhu Z., banni S., darcy K., Loftus T., & Ip C. Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid: implication for a reduction in mammary cancer risk. Cancer Res., 1997. Vol. 57. P. 5067–5072.
- Tomé-Carneiro J., Carmen Crespo M., Burgos-Ramos E., TomasZapico C., Garcia-Serrano A., Castro-Gomez P., Venero C., PeredaPerez I., Baliyan S., Valencia A., Fontecha J., Davalos A., & Visioli F. Buttermilk and krill oil phospholipids improve hippocampal insulin resistance and synaptic signaling in aged rats. Mol. Neurobiol., 2018. Vol. 55. P. 7285–7296.
- Tricon S., Burdge G. C., Kew S., Banerjee T., Russell J. J., Grimble R.F., Williams C. M., Calder P. C., & Yaqoob P. Effects of and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on immune cell function in healthy humans. Am. J. Clin. Nutr., 2004. Vol. 80. P. 1626–1633.
- Tricon S., Burdge G. C., Kew S., Banerjee T., Russell J. J., Jones E.L., Grimble R.F., Williams C. M., Yagoob P., & Alder P. C. Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. Am. J. Clin Nutr., 2004. Vol. 80. P. 614–620.
- Tsisaryk O., Musij L., & Golubets O. The fatty acid composition of butter and cultured butter with lactobacillus acidophilus added to starter. J. Dairy Sci, 2012. Vol. 95, Suppl. 2. P. 277.
- Tsisaryk O., Musij L., Golubets O., & Shkaruba S. The Fatty Acid Composition of Cultured Butter with Probiotic Lbc. Acidophilus La-5 Produced in Winter. J. Dairy Sci, 2014. Vol. 97, E-Suppl. P. 505.

- Tsorotioti S. E., Nasopoulou C., Detopoulou M., Sioriki E., Demopoulos C. A., & Zabetakis I. In vitro anti-atherogenic properties of traditional Greek cheese lipid fractions. *Dairy Sci. Technol.*, 2014. Vol. 94. P. 269–281.
- Tsuboyama-Kasaoka N., Takahashi M., Tanemura K., Kim H. J., Tange T., Okuyama H., Kasai M., Ikemoto S., & Ezaki O. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes*, 2000. Vol. 49. P. 1534–1542.
- Turpeinen A. M., Mutanen M., Aro A., Salminen I., Basu S., Palmquist D. L., & Griinari J. M. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002. Vol. 76. P. 504–510.
- Ulbricht T. L. V., & Southgate D. A. T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 1991. Vol. 338. P. 985–992.
- Vahmani P., Meadus W. J., Duff P., Rolland D. C., & Dugan M. E. R. Comparing the lipogenic and cholesterolgenic effects of individual trans-18:1 isomers in liver cells. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2017. Vol. 119. P. 410–418.
- Vahmani P., Meadus W. J., Turner T. D., Duff P., Rolland D. C., Mapiye C., & Dugan R. M. E. Individual trans 18:1 isomers are metabolised differently and have distinct effects on lipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Lipids*, 2015. Vol. 50. P. 195–204.
- Van Nieuwenhove C. P., Oliszewski R., González S. N., & Pérez Chaia A. B. Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. *Food Res. Int.*, 2007. Vol. 40. P. 559–564.
- Viladomiu M., Hontecillas R., & Bassaganya-Riera J. Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *Eur. J. Pharmacol.*, 2016. P. 87–95.
- Visonneau S., Cesano A., Tepper S.A., Scimeca J., Santoli D., & Kritchevsky D. Effect of different concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) on tumor cell growth in vitro. *FASEB J.*, 1996. Vol. 10. P. 182 (Abstract).
- Vissak C., Lemery D., Corre L.Le., Fustier P., Déchelotte P., Maurizis J. C., Bignon Y. J., & Bernard-Gallon D. J. Presence of BRCA1 and BRCA2 proteins in human fat globules after delivery. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2002. Vol. 1586. P. 50–56.
- Vors C., Joumard-Cubizolles L., Lecomte M., et al. Milk polar lipids reduce lipid cardiovascular risk factors in overweight postmenopausal women: Towards a gut sphingomyelin-cholesterol interplay. *Gut*, 2020. Vol. 69. P. 487–501.
- Wall R., Ross R. P., Shanahan F., O'Mahony L., O'Mahony C., Coakley M., Hart O., Lawlor P., Quigley E. M., Kiely B., Fitzgerald G. F., & Stanton C. Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine

- and porcine liver and adipose tissues. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2009. Vol. 89. P. 1393–1401.
- Wang X., Hirno S., Millen R., & Wadstrom T. Inhibition of *Helicobacter pylori* infection by bovine milk glycoconjugates in a BALB/cA mouse model. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2001. Vol. 20. P. 275–281.
- Wang B., Yu B., Karim M., Hu H. H., Sun Y., McGreevy P., Petocz P., Held S., & Brand-Miller J. Dietary sialic acid supplementation improves learning and memory in piglets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007. Vol. 85. P. 561–569.
- Wang X., Hirno R., Willen R., & Wadstrom T. Inhibition of *Helicobacter pylori* infection by bovine milk glycoconjugates in Balb/cA mouse model. *J. Med. Microbiol.*, 2001. Vol. 50. P. 430–435.
- Wang X., Wang Y., Xu J., & Xue C. Sphingolipids in food and their critical roles in human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2021. Vol. 61. P. 462–491.
- Warensjo E., Jansson J. H., Berglund L., Boman K., Bo Ahrén, Weinehall L., Lindahl B., Hallmans G., & Vessby B. Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocardial infarction. A prospective case-control study. *Br. J. Nutr.*, 2004. Vol. 91. P. 635–642.
- Ward R. E., German J. B., Coredig M. Composition, application, fractionation, technological and nutritional significance of milk fat globule membrane. In *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 2: Lipids*, 3rd edition. Ed. by P.F. Fox and P.L.H. McSweeney, Springer, New York, 2006. P. 213–244.
- Warensjo E., Jansson J.-H., Berglund L., Boman K., Ahren B., Weinehall L., Lindhal B., Hallmans G., & Vessby B. Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocard infarction. A proposed case-control study. *Br. J. Nutr.*, 2004. Vol. 91. P. 635–642.
- Weiland A., Bub A., Barth S. W., Schrezenmeir J., & Pfeuffer M. Effects of dietary milk- and soya-phospholipids on lipidparameters and other risk indicators for cardiovascular diseases in overweight or obese men - two double-blind, randomised, controlled, clinical trials. *J. Nutr. Sci.*, 2016. Vol. 5. P. e21.
- Werner S. A., Luedecke L. O., & Shultz T. D. Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three Cheddar-type cheeses: Effects of cheese cultures, processing, and aging. *J. Agric. Food. Chem.*, 1992. Vol. 40. P. 1817–1821.

- West D. B., Delany J. P., Camet P. M., Blohm F., Truett A. A., & Scimeca J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am. J. Physiol.*, 1998. Vol. 275. P. R667–672.
- Weggemans R. M., Rudrum M., & Trautwein E.A. Intake of ruminant versus industrial trans fatty acids and risk of coronary heart disease - what is the evidence? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004. Vol. 106. P. 390–397.
- Whigham L. D., Watras A.C., & Schoeller D.A. Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007. Vol. 85. P. 1203–1211.
- Willett W. C., Stampfer M. J., Manson J. E., Colditz G. A., Speizer F. E., Rosner B. A., Sampson S. A., & Hennekens C. H. Intake of trans-fatty-acids and risk of coronary heart-disease among women. *Lancet*, 1993. Vol. 341. P. 581–585.
- Wilson T. A., Nicolosi R. J., Chrysam M., & Kritchevski D. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherogenesis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. *Nutr. Res.*, 2000. Vol. 20. P. 1795–1805.
- Wontgtangintharn S., Oku H., Iwasaki H., & Toda T. Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 2004. Vol. 50. P. 137–143.
- Woodside J. V., Kromhout D. fatty acids and CHD. *Proc. Nutr. Soc.*, 2005. Vol. 64. P. 554–564.
- Xu S., Walkling-Ribeiro M., Griffiths M. W., & Corredig M. Pulsed electric field processing preserves the antiproliferative activity of the milk fat globule membrane on colon carcinoma cells. *J. Dairy Sci*, 2015. Vol. 98. P. 2867–2874.
- Yanagi S., Yamashita M., & Imai S. Sodium butyrate inhibits the enhancing effect of high fat diet on mammary tumorigenesis. *Oncology*, 1993. Vol. 50. P. 201–204.
- Yang J., Wang H.P., Zhou L.M., Zhou L., Chen T., & Qin L. Q. Effect of conjugated linoleic acid on blood pressure: a meta-analysis of randomized, double-blind placebo-controlled trials. *Lipids Health Dis.*, 2015. Vol. 14. P. 11–17.
- Yang Z., Liu S., Chen X., Huang M., & Zheng J. Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-methyltetradecanoic acid. *Cancer Res.*, 2000. Vol. 60. P. 505–509.
- Yang, B., Chen H., Stanton C., Ross R. P., Zhang H., Chen Y. Q., & Chen W. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Funct. Foods*, 2015. Vol. 15. P. 314–325.
- Yoon C. S., Ha T. Y., Rho J. H., Sung K. S., & Cho I. J. Inhibitory effect of conjugated linoleic acid on in vitro growth of human hepatoma. *FASEB J.*, 1997. Vol. 11. P. 578 (Abstract).

- Yurawech M. P., Roach J. A. G., Sehat N., Mossoba M. M., Kramer J. K., Fritsche J., Steinhart H., & Ku Y. A new conjugated linoleic acid isomer. 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids*, 1998. Vol. 33. P. 803–809.
- Zanabria R., Tellez A. M., Griffiths M., & M. Corredig. Milk fat globule membrane isolate induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Food Funct.*, 2013. Vol. 4. P. 222–230.
- Zanabria, R., Tellez A. M., Griffiths M., Sharif S., & Corredig M. Modulation of immune function by milk fat globule membrane isolates. *J. Dairy Sci.*, 2014. Vol. 97. P. 2017–2026.
- Zanabria, R., A. M. Tellez, M. W. Griffiths, & M. Corredig. The antiproliferative properties of the milk fat globule membrane are affected by extensive heating. *Dairy Sci. Technol.*, 2014b. Vol. 94. P. 439–453.
- Zavaleta N., Kvistgaard A. S., Graverholt G., Respicio G., Guija H., Valencia N., & Lönnerdal B. Efficacy of an MFGM-enriched complementary food in diarrhea, anemia, and micronutrient status in infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2011. Vol. 53. P. 561–568.
- Zegarska Z., Paszcyk B., & Borejszo Z. trans-fatty acids in milk fat. *Pol. J. Food Nutr.*, 1996. Vol. 5/46. P. 89–96.
- Zheng H. C., Liu J. X., Yao J. H., Yuan Q., Ye H. W., Ye J. A., & Wu Y. M. Effects of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding lactating cows and conjugated linoleic acids in milk. *J. Dairy Sci*, 2005. P. 2937–2042.
- Zhou A. L., & Ward R. E. Milk polar lipids modulate lipid metabolism, gut permeability, and systemic inflammation in high-fat-fed C57BL/6J ob/ob mice, a model of severe obesity. *J. Dairy Sci*, 2019. Vol. 102. P. 4816–4831
- Zong G., Li Y., Wanders A. J., Alssema M., Zock P. L., Willett W. C., Hu F. B., & Sun Q. Intake of individual saturated fatty acids and risk of coronary heart disease in US men and women: Two prospective longitudinal cohort studies. *BMJ*, 2016. Vol. 355. P. i5796.
- Гула Н. М., & Маргітич В. М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах. НВП «Видавництво «Наукова думка», 2009. 336 с.
- Капрельянц Л.В., Петросьянц А.П. Лікувально-профілактичні властивості харчових продуктів та основи дієтології. Одеса, 2011. 269 с.
- Мусій Л. Я., Цісарик О. Й., & Голубець О. М. Жирнокислотний склад ліпідів кисловершкового масла. Збірник наукових праць Донецького національного університету економіки і торгівлі імені Туган-Барановського. Донецьк, 2012. Вип. 29, Т. 2. С. 267–272.

- Мусій Л. Я., & Цісарик О. Й. Біохімічні особливості складу жирних кислот ліпідів кисловершкового масла, виготовленого в літній та зимовий періоди. Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С.З. Гжицького. Львів, 2014. Т. 16. Ч. 4. №3 (60). С. 92–102.
- Мусий Л. Я., Цисарык О. Й., Голубец О. В., & Шкаруба С. Н. Жирнокислотный состав кисломолочного масла, изготовленного с применением мезофильной и пробиотической культур. Восточно-европейский журнал передовых технологий. Издательство: Технологический центр (Харьков), 2014. №10 (69). С. 58–63.
- Мусий Л. Я., Цисарык О. И., Голубец О. В., & Шкаруба С. М. Жирнокислотный состав липидов кисломолочного масла, изготовленного в весенне–летний период в зависимости от условий технологии. Вестник Могилевского государственного университета продовольствия, 2015. № 1 (25). С. 55–64.
- Тепел А. Химия и физика молока. Пер. с немецкого. М.: Пищевая промышленность, 1978. 624 с.
- Цісарик О. Й. Оксидантна стабільність масла, виготовленого із молока корів при згодовуванні їм насіння ріпаку. Вісник Донецького національного університету економіки і торгівлі імені Михайла Туган-Барановського, 2009. № 1 (41). С. 206–211.
- Юкало В. Г. Біологічна активність протеїнів і пептидів молока. Тернопіль, 2021. 372 с.

МОНОГРАФІЯ

О. Й. ЦІСАРИК, Л. Я. МУСІЙ

**ЛІПІДИ МОЛОКА:
ПОПЕРЕДНИКИ, СИНТЕЗ, ВЛАСТИВОСТІ**

Підп. до друку 09.09.2022 р.
Формат 70×100/16. Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman
Ум. друк. арк. 18,25. Тираж 100 прим.

ПП “Магнолія 2006”
м. Львів, 79053, Україна, Перфецького 11 А, тел.+380503701957
e-mail: magnol06@ukr.net
<https://magnolia.lviv.ua>

Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів
видавничої продукції: серія ДК № 2534 від 21.06.2006 року,
видане Державним комітетом інформаційної політики,
телебачення та радіомовлення України

Надруковано у друкарні видавця ФОП Марченко Т. В.