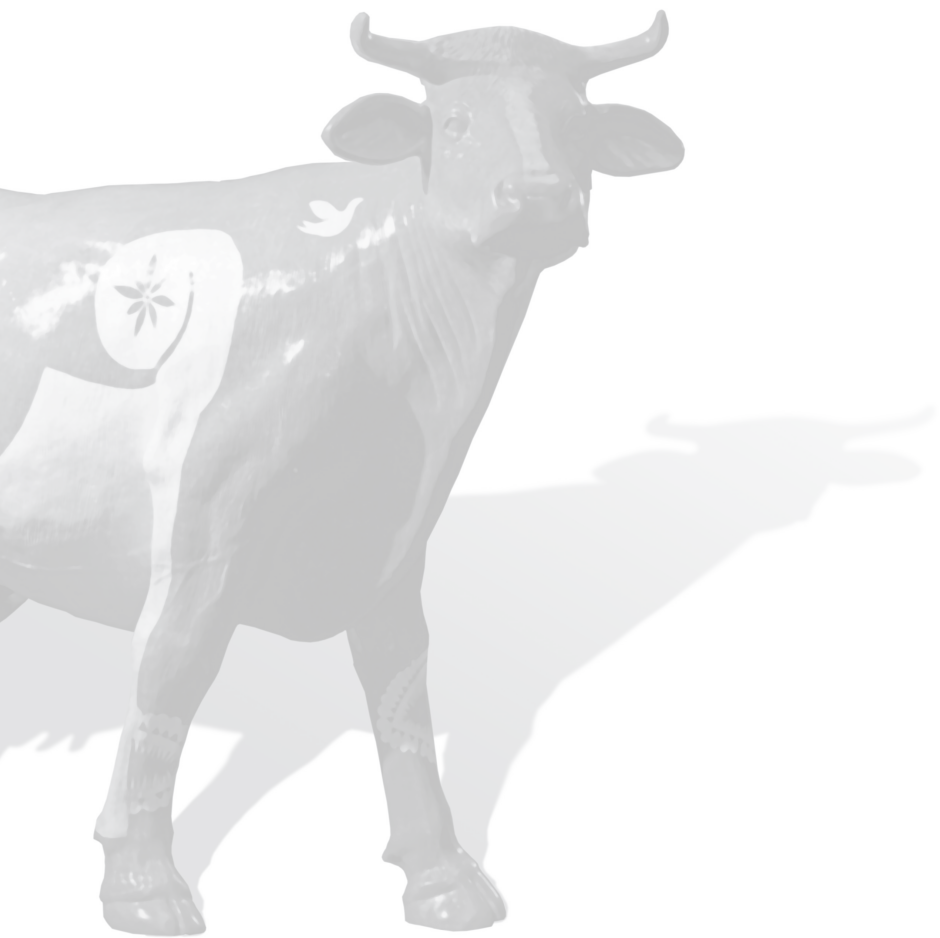


**Wpływ olejów rybnych
na profil kwasów tłuszczowych w mleku,
parametry biochemiczne krwi
oraz wskaźniki produkcyjne krów mlecznych**



Robert Kupczyński

**Wpływ olejów rybnych
na profil kwasów tłuszczowych w mleku,
parametry biochemiczne krwi
oraz wskaźniki produkcyjne
krów mlecznych**



Autor
Robert Kupczyński

Opiniodawcy:
prof. dr hab. Jan Mikołajczak
prof. dr hab. Ryszard Skrzypek

Redaktor merytoryczny
dr hab. Krystyn Chudoba, prof. UP

Opracowanie redakcyjne
Magdalena Kozińska

Korekta
Elżbieta Winiarska-Grabosz

Łamanie i projekt okładki
Paweł Wójcik

Na okładce wykorzystano fotografię z Kalendarza marki LNB na rok 2012

Monografie CXLII

Źródło finansowania badań:

Doświadczenie I wykonano w ramach projektu badawczego MNiSW Nr 2 P06Z 060 27
Doświadczenie II dofinansowane przez firmę Fatro Polska
Doświadczenie III wykonano w ramach projektu badawczego MNiSW Nr N N311 342637

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław 2012

ISSN 2083-5531
ISBN 978-83-7717-084-7

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU
Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Andrzej Kotecki
ul. Sopocka 23, 50–344 Wrocław, tel. 71 328–12–77
e-mail: wyd@up.wroc.pl

Nakład 100 + 16 egz. Ark. wyd. 6. Ark. druk. 5,75
Druk i oprawa: F.P.H. „Elma”

Spis treści

Objaśnienia skrótów	7
1. Wstęp	9
2. Przegląd piśmiennictwa	12
2.1. Żywność funkcjonalna	12
2.2. Tłuszcze w żywieniu człowieka	15
2.3. Czynniki wpływające na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka	21
2.4. Biosynteza CLA	24
2.5. Modyfikacja żywieniowa zawartości kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka.	27
2.6. Wpływ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na rozród bydła	31
3. Hipotezy badawcze i cel badań	35
4. Materiał i metody	37
4.1. Przebieg doświadczeń	37
4.2. Skład dawek pokarmowych, analizy pasz	38
4.3. Procedury doświadczenia, pobieranie prób i analizy	40
4.4. Obliczenia statystyczne	42
5. Wyniki badań	44
5.1. Charakterystyka składu kwasów tłuszczowych w olejach rybnych.	44
5.2. Doświadczenie I	45
5.2.1. Parametry produkcyjne krów	45
5.2.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy	46
5.2.3. Parametry biochemiczne krwi	49
5.2.4. Wskaźniki płodności	50
5.3. Doświadczenie II	51
5.3.1. Parametry produkcyjne krów	51
5.3.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy	52
5.3.3. Parametry biochemiczne krwi	55
5.3.4. Wskaźniki płodności	55
5.4. Doświadczenie III	56
5.4.1. Parametry produkcyjne krów	56
5.4.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy	58

5.4.3. Parametry biochemiczne krwi	60
5.4.4. Wpływ oleju rybnego na stężenie $\text{PGF}_{2\alpha}$ w surowicy krwi	62
6. Dyskusja	63
7. Podsumowanie	72
8. Wnioski.	74
9. Piśmiennictwo.	75

Objaśnienia skrótów

- ADF – Włókno rozpuszczalne w detergentach kwaśnych – Acid detergent fiber
- ALA – Kwas γ -linolenowy C18:3 n-3 – γ -linolenic acid C18:3 n-3
- AST – Aminotransferaza asparaginianowa – Asparaginian aminotransferase
- BCS – Ocena kondycji – Body condition scoring
- BAW – Bezazotowe związki wyciągowe – Nitrogen-free extract (NFE)
- BHB – Kwas β -hydroksymasłowy – β -hydroksybutyrate acid (BHBA)
- BTJE – Suma białka właściwego paszy i białka właściwego mikroorganizmów zważa obliczone na podstawie dostępnej w żwaczu energii (E) paszy, rzeczywiście trawione w jelicie cienkim – Protein digested in the small intestine supplied by rumen-undegraded dietary protein plus protein digested in the small intestine supplied by microbial protein from rumen-fermented organic matter (PDIE)
- BTJN – Suma białka właściwego paszy i białka właściwego mikroorganizmów zważa obliczone na podstawie dostępnego w żwaczu azotu (N) paszy, rzeczywiście trawione w jelicie cienkim – Protein digested in the small intestine supplied by rumen-undegraded dietary protein plus protein digested in the small intestine supplied by microbial protein from rumen-degraded protein (PDIN)
- CL – Ciało żółte – Corpus luteum
- CLA – Sprzężony kwas linolowy – Conjugated linoleic acid
- DHA – Kwas dokozaheksaenowy C22 6 n-3 – Docosahexaenoic acid C22 6 n-3
- EPA – Kwas eikozapentaenowy C20:5 n-3 – Eicosapentaenoic acid C20:5 n-3
- FA – Kwasy tłuszczowe – Fatty acids
- FO – Olej rybny – Fish oil
- GGT – γ - glutamylotranspeptydaza – γ - glutamylotransferase
- IFN- τ – Interferon tau – Interferon tau
- JPM – Jednostka paszowa produkcji mleka – Feed unit for lactation (UFL)
- JWK – Jednostka wypełnieniowa paszy objętościowej dla krów mlecznych – Fill unit for lactation (LFU)

K – Grupa kontrolna – Control group
 LA – Kwas linolowy – Linoleic acid
 LAB – Bakterie zawieszane w płynie żwacza – Liquid adhering bacteria
 LDL – Lipoproteiny o małej gęstości – Low density lipoprotein
 LN – Kwas linolenowy – Linolenic acid
 MUFA – Jednonienasycone kwasy tłuszczowe – Monounsaturated fatty acids
 NDF – Włókno rozpuszczalne w detergentach neutralnych – Neutral detergent fiber
 NEL – Energia netto laktacji – Netto energy lactation
 MFD – Syndrom spadku zawartości tłuszczu w mleku – Milk fat depression
 NEB – Negatywny bilans energii – Negative energy balance
 NNKT – Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe – Essential unsaturated fatty acid
 ORCH – Olej rybny chroniony – Protected fish oil
 ORN – Olej rybny niechroniony – Unprotected fish oil
 PGF – Prostaglandyna – Prostaglandin
 PGFM – Metabolit 13,14 dihydro, 15-keto PGF_{2α} – Metabolite 13,14 dihydro, 15-keto PGF_{2α}
 PUFA – Wielonienasycone kwasy tłuszczowe – Polyunsaturated fatty acids
 P-value – Graniczny poziom istotności – Limiting significance level
 SAB – Bakterie przylegające do cząstek paszy – Solid adhering bacteria
 SEM – Standardowy błąd średniej – Standard error of the mean
 SM – Sucha masa – dry matter
 SFA – Kwasy tłuszczowe nasycone – Saturated fatty acids
 TG – Triglicerydy – Triglycerides
 TMR – Dawka pokarmowa pełnoporcjowa – Total mixed ration
 TVA – Kwas wakcenyowy *trans*-11 C18:1 – Trans vaccenic acid *trans*-11 C18:1
 WKT – Wolne kwasy tłuszczowe – Non-esterified fatty acids (NEFA)
 VLDL – Lipoproteiny o bardzo małej gęstości – Very low density lipoproteins

1. Wstęp

Mleko i jego produkty są wysoko cenione i powszechnie spożywane przez człowieka. Mleko krowie jest najczęściej wykorzystywane przez przemysł mleczarski, natomiast hodowla bydła mlecznego w niektórych krajach jest strategicznym elementem produkcji rolniczej. Obecnie polityka rolna UE zmierza do większej liberalizacji i wzrostu konkurencyjności w omawianym sektorze produkcji. W Polsce pomimo sukcesywnego spadku liczebności krów na przestrzeni ostatnich lat wzrasta ilość pozyskiwanego od nich mleka. Odmiennym zagadnieniem jest fakt, że mleko jest codziennym składnikiem diety człowieka. Jego spożycie sprzyja zachowaniu odpowiedniej masy ciała, obniża ryzyko chorób serca, niedokrwiennej udaru mózgu, zmniejsza ryzyko wstąpienia cukrzycy i osteoporozy. Kazeina i osteoprotegerin mogą zwiększać przyswajalność wapnia i przeciwdziałać osteoporozie [Szulc i in. 2010].

Mleko krów to źródło nie tylko składników pokarmowych, ale również związków o charakterze prozdrowotnym, m.in. niezbędnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (NWKT). Należą do nich kwas linolowy C18:2 n-6, a-linolenowy C18:3 n-3, eikozapentaenowy C20:5 n-3 (EPA), dokozaheksaenowy C22:6 n-3 (DHA) oraz kwasy γ -linolenowy C18:3 n-6 i arachidonowy C20:4 n-6 [McGuire, McGuire 2000, Simopoulos 2008]. Ważnym zagadnieniem jest udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie człowieka. Istnieje szereg możliwości modyfikowania składu chemicznego mleka krowiego. Obecna technologia pozwala na uzyskanie produktu mlecznego wzbogaconego w sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA) czy kwasy n-3. Można to również uzyskać poprzez wprowadzanie do diety krów mlecznych nasion roślin oleistych, olejów roślinnych, olejów rybnych, alg morskich lub ich soli wapniowych [Krzyżewski i in. 2010].

Istnieje szereg powodów, dla których podejmowane są próby zmiany składu chemicznego mleka krów, a należą do nich m.in. przesłanki ekonomiczne i technologiczne. Konsumentów zainteresowanych są wartością odżywczą mleka i jego produktów, z uwzględnieniem kwasów n-3 i n-6, CLA, biologicznie czynnych peptydów, witamin oraz makro- i mikroelementów o wysokiej przyswajalności dla człowieka [Krzyżewski i in. 2010]. Tego rodzaju produkty mają niewątpliwie charakter żywności funkcjonalnej.

Zdecydowana większość wysoko wydajnych krów żywiona jest systemem TMR, jednak przy tym systemie zawartość sprzężonego kwasu linolowego i kwasów z rodziny n-3 w mleku jest mniejsza niż przy żywieniu pastwiskowym [Kelsey 2003, AbuGazaleh i in. 2007b]. Biorąc pod uwagę fakt, że coraz liczniejsze grupy konsumentów zainteresowane są żywnością o ukierunkowanym prozdrowotnym oddziaływaniu na organizm, każda

metoda modyfikacji składu tłuszczu mleka krów wydaje się celowa. Badania ostatnich lat wskazują, że największy wpływ na zawartość CLA i kwasów n-3 w tłuszczu mleka mają dieta krów i stosowanie dodatków tłuszczowych.

Stosowane w żywieniu krów oleje lub śruty roślin oleistych oraz sole wapniowe tych olei zwiększają zawartość CLA w tłuszczu mleka [Kelly i in. 1998, Chouinard i in. 2001, Whitlock i in. 2002, Flowers i in. 2008, Cerri i in. 2009, Nałęcz-Tarwacka i in. 2009]. Jedną z metod zwiększenia zawartości CLA i kwasów n-3 w mleku jest wprowadzenie do dawek pokarmowych krów oleju rybnego. Wzrost koncentracji CLA po zastosowaniu oleju rybnego może wynosić do 400% [Donovan i in. 2000, Osborne i in. 2008, Kupczyński i in. 2011]. Efektywną metodą jest również łączne stosowanie oleju rybnego i olejów roślinnych z dużym udziałem kwasu linolowego [AbuGhazaleh i in. 2002, 2004, 2007a, 2007b, Shingfield i in. 2006, Whitlock i in. 2006], chronionego oleju rybnego [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007, Caroprese i in. 2009] czy też oleju rybnego wraz z algami morskimi [AbuGhazaleh i in. 2009]. Transfer kwasów n-3 z dawki pokarmowej do tłuszczu mleka jest jednak niski (< 6%), nawet gdy zastosowana zostanie zwiększona podaż wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w formie chronionej [Palmquist, Griinari 2006, Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Podawane krowom sole wapniowe oleju rybnego powodowały większy wzrost zawartości w tłuszczu mleka EPA i DHA niż w przypadku oleju niechronionego [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007].

Oleje rybne pozyskiwane z całych ryb, jak i odpadów technologicznych znajdują coraz szersze zastosowanie w żywieniu różnych gatunków zwierząt [Dobrzański i in. 2002, Bakula i in. 2005, Usydus i in. 2007]. Stanowią one nie tylko źródło energii, ale również charakteryzują się bogatymi walorami funkcjonalnymi wynikającymi z korzystnego składu kwasów tłuszczowych, w tym zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). Mogą też być wartościowym składnikiem dawek pokarmowych (np. mieszanek i koncentratów paszowych), zarówno dla zwierząt monogastrycznych [Korniewicz i in. 2002, Raes i in. 2004, Kołacz i in. 2004], jak i przeżuwaczy [Donovan i in. 2000, Abu-Ghazaleh i in. 2003, 2004, 2007a, 2009, Osborne i in. 2008, Caroprese i in. 2010]. Surowe oleje rybne mogą wprawdzie zawierać szereg zanieczyszczeń, istnieją jednak technologie ich oczyszczania, w których uzyskuje się maksymalną redukcję niepożądanych związków, przy jednoczesnym zachowaniu składników o działaniu prozdrowotnym [Usydus i in. 2004]. Technologia przerobu olejów rybnych pozwala również wyeliminować ich specyficzny zapach. Na rynku paszowym dostępne są także dodatki aromatyczne (zapachowe) umożliwiające zwiększenie walorów smakowych, co może wpływać na większe pobranie paszy.

W ostatnich latach celem zmniejszenia negatywnego bilansu energii i nadmiernej lipolizy w okresie okołoporodowym oraz na początku laktacji zwiększano udział energii w dawkach krów, stosowano sole wapniowe olejów roślinnych, izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA lub skracano długość okresu zasuszenia przy żywieniu wysokoenergetyczną dawką [Heravi Moussavi i in. 2007, Grummer 2008]. W przypadku wysoko wydajnych krów tłuszczce paszowe stosowane na początku laktacji mają zwiększyć pobranie energii. Oprócz tłuszczów roślinnych coraz większa liczba badań dotyczy suplementacji dawek pokarmowych krów tłuszczami zwierzęcymi, głównie olejami rybnymi [Heravi Moussavi i in. 2007, Childs i in. 2008, Osborne i in. 2008]. Wykazano również, że przy dużych dawkach

niechronionego oleju rybnego istnieje ryzyko obniżenia pobrania paszy, zawartości tłuszczu w mleku oraz spadku wydajności [Donovan i in. 2000, Shingfield i in. 2003, Bauman i in. 2008]. Dieta przeżuwaczy zawierająca wielonienasycone kwasy tłuszczowe prowadzi do niepełnego uwodorowania kwasów tłuszczowych i powstawania produktów pośrednich, takich jak *trans*-10, *cis*-12 CLA [Bauman i in. 2008]. Wzrost zawartości tego izomeru w mleku krów stwierdzono po zastosowaniu oleju rybnego. Izomer ten był wyraźnie skorelowany z obniżeniem wydajności tłuszczu [Whitlock i in. 2006, Bauman i in. 2008].

Duży problem ekonomiczny i kliniczny krów mlecznych stanowi śmiertelność zarodków w pierwszych tygodniach po inseminacji [Dunne i in. 2000, Castañeda-Gutiérrez i in. 2009]. W ostatnich latach zwrócono uwagę na rolę prostaglandyn serii 2 (PGF_{2α}) i związanych z ich nadmiernym wydzielaniem ryzykiem luteolizy ciała żółtego, jeszcze w okresie przedimplantacyjnym zarodka [Mattos i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007]. Stwierdzono, że kwasy tłuszczowe EPA i DHA mogą hamować sekrecję PGF_{2α} przez *endometrium* [Pettit i in. 2004, Mattos i in. 2004]. Badań z tego zakresu jest jednak niewiele, a uzyskane wyniki nie są jednoznaczne [Mattos i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007]. Stwierdzono również, że izomery CLA mogą hamować syntezę PGF_{2α}, a ich wpływ nie musi zależeć od stosunku kwasów n-6 do n-3 [Harris i in. 2001].

2. Przegląd piśmiennictwa

2.1. Żywność funkcjonalna

Jakość żywności określają wartość odżywcza, bezpieczeństwo zdrowotne i preferencje konsumenta. Od wieków znane jest znaczenie diety dla zdrowia człowieka. Termin „żywność funkcjonalna” pojawił się po raz pierwszy w Japonii w 1984 roku. Koncepcja żywności funkcjonalnej jest znacznie starsza i wywodzi się z tradycji Wschodu w myśl założeń, że nie ma wyraźnej różnicy między lekami a pożywieniem. Założenia idei żywności funkcjonalnej były następnie propagowane w USA i Europie. W 1996 roku rozpoczęto program badawczy FUFOS (Functional Food Science in Europe), finansowany przez Komisję Europejską. W dokumencie końcowym FUFOS z 1999 roku ustalono szereg kryteriów jakie powinna spełniać taka żywność [Scientific Concepts of Functional Foods in Europe]:

- żywność może być uznana za funkcjonalną, jeśli udowodniono jej korzystny wpływ na jedną lub więcej funkcji organizmu ponad efekt odżywczy, który to wpływ polega na poprawie stanu zdrowia oraz samopoczucia i/lub zmniejszeniu ryzyka chorób;
- żywność funkcjonalna musi przypominać postacią żywność konwencjonalną i wykazywać korzystne oddziaływanie w ilościach, które oczekuje się, że będą normalnie spożywane z dietą – nie są to tabletki ani kapsułki, ale część składowa prawidłowej diety;
- podwyższona jakość zdrowotna takiej żywności wynika głównie z obecności substancji bioaktywnych, stymulujących pożądaną przebieg przemian metabolicznych oraz z optymalnej fizjologicznie proporcji poszczególnych składników;
- korzystne oddziaływanie zdrowotne tej żywności powinno być udokumentowane badaniami klinicznymi prowadzonymi na ludziach, do diety których włączono badany produkt spożywczy;
- żywność funkcjonalna jest przeznaczona do ogólnego spożycia jako część codziennej diety.

Żywność funkcjonalna nazywana jest także żywnością projektowaną do określonych potrzeb organizmu (ang. designer foods, tailored foods). Może ona również mieć charakter nutraceutyków. Produkty mogą uzyskać cechy funkcjonalne poprzez modyfikację ich składu, eliminację składnika o szkodliwym działaniu i zwiększenie stężenia tego, który naturalnie występuje w żywności (prozdrowotnego) bądź dodatek innego, zastąpienie lub poprawę biodostępności czynników istotnych w jednej albo wielu funkcjach organizmu

[Roberfroid 2000]. Jednocześnie żywność funkcjonalna, tak jak każdy inny rodzaj żywności, musi zapewniać bezpieczeństwo konsumenta, skuteczność oraz udział w całkowitej diecie.

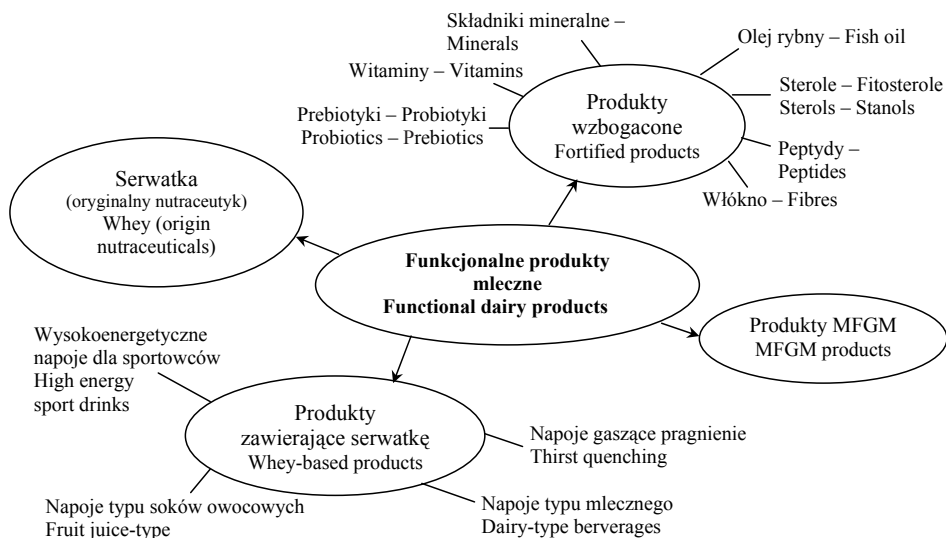
Ze względu na skład żywność funkcjonalną dzieli się na: żywność wzbogaconą, niskoenergetyczną, wysokobłonnikową, probiotyczną, niskosodową, niskocholesterolową, energizującą. Istnieje też drugi podział ze względu na jej oddziaływanie na organizm człowieka: zmniejszająca ryzyko rozwoju chorób krążenia, nowotworów, osteoporozy, żywność dla osób obciążonych stresem, w podeszłym wieku, dietetyczna dla osób z zaburzeniami metabolizmu i trawienia, sportowców, kobiet w ciąży i karmiących, niemowląt, młodzieży w fazie intensywnego wzrostu, wpływającą na nastrój i wydolność psychofizyczną [Grajeta i in. 2004].

Globalny rynek związany z żywnością funkcjonalną przeżywa dynamiczny i szybki rozwój. Przyczyny wzrostu zainteresowania żywnością funkcjonalną to:

- rozwój wiedzy dotyczącej biologicznie aktywnych substancji,
- wzrost siły nabywczej konsumentów w krajach rozwiniętych/rozwijających się,
- starzenie się społeczeństw, wzrost kosztów opieki medycznej i społecznej,
- wzrost częstotliwości występowania schorzeń chronicznych związanych z żywieniem,
- rozwój biotechnologii i technologii przetwórstwa surowców spożywczych,
- moda i lansowanie nowych typów żywności, które mogłyby przyczynić się do zwiększenia asortymentów i ilości produktów na rynku oraz przyczynić się do zwiększenia dochodów producentów,
- szeroko rozumiany zdrowy styl życia.

Wartość sprzedawanej w skali świata żywności funkcjonalnej szacuje się na ok. 16 mld dolarów rocznie, w tym produkty mleczne stanowią 43% [Leatherhead Food International 2006]. Koniunkturę gwarantują preferencje konsumentów. Według niektórych danych w USA aż 93% społeczeństwa jest przeświadczona, że część pokarmów wywiera korzystny wpływ na zdrowie i jednocześnie redukuje ryzyko chorób [Hözer, Kirmaci 2010]. W krajach rozwiniętych konsumenci wykazują dużą świadomość nt. związku odżywiania ze stanem zdrowia. Artykuły mleczne należące do żywności funkcjonalnej w znacznym stopniu są produktami prefermentowanymi. Generalnie można podzielić je na trzy kategorie [Hözer, Kirmaci 2010]:

1. Podstawowe produkty mleczne, takie jak jogurty, sery, masło, lody itp.
2. Produkty zmodyfikowane. Są to produkty o obniżonej zawartości laktozy lub bez laktozy, hypoalergiczne produkty dla niemowląt (z hydrolizatami białka), mleko wzbogacone w witaminy czy składniki mineralne (np. Ca). Produkty te są powszechnie wykorzystywane przez poszczególne grupy i zwykle nie są zaliczane do żywności funkcjonalnej.
3. Funkcjonalne produkty mleczne. Można tu wyróżnić 2 grupy: wzbogacone produkty mleczne (zawierające pre- i probiotyki, włókno, polifenole, peptydy, sterole, fitosterole, składniki mineralne, witaminy i olej rybny) oraz napoje z udziałem serwatki, zarówno napoje owocowe, jak i typowo mleczne (ryc. 1).



Ryc. 1. Kategorie funkcjonalnych produktów mlecznych [Hözer, Kirmaci 2010].

MFGM – otoczki kuleczek tłuszczowych
 Fig. 1. Category of functional dairy beverages
 MFGM – milk fat globule membrane

W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój funkcjonalnych produktów mlecznych wzbogaconych w kwasy z rodziny n-3, sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA), fitosterole, isoflawony, witaminy i składniki mineralne. Produkty handlowe mogą być wzbogacane również w pro- i prebiotyki. Probiotyki są to preparaty zawierające mono- lub mieszaną kulturę żywych i/lub martwych mikroorganizmów i ich metabolitów, głównie są to bakterie kwasu mlekowego albo ich mieszaniny. Spożywanie probiotyków jest idealną drogą do przywrócenia optymalnego bilansu mikrobiologicznego jelit. Ich pozytywny wpływ przejawia się w działaniu osłonowym przy antybiotykoterapii (w tym w przebiegu biegunki), zapobieganiu infekcjom jelitowym, kontrolowaniu namnażaniu rotawirusów, zapobieganiu owrzodzeniom wywołanym przez *Helicobacter pylori*, poprawie odpowiedzi immunologicznej [Reid i in. 2003]. Efekt terapeutyczny występuje wówczas, gdy ilość bakterii probiotycznych wynosi od 10^6 do 10^7 cfu/ml.

W produkcji żywności probiotycznej wykorzystywane są przede wszystkim bakterie fermentacji mlekowej, fizjologicznie zasiedlające przewód pokarmowe (głównie *Lactobacillus* spp. i *Bifidobacterium* spp.). Wśród bakterii znajdujących się w produktach mlecznych należy wymienić przede wszystkim szczepy *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus acidophilus*, *Lb. lactis* subsp. *lactis*, *Lb. Casei*, *Lb. casei* F19, *Lb. casei* Shirota, *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. johnsonii*, *Lb. Helvetius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Lb. rhamnosus* LB21, *Lactobacillus plantarum* 299v) i *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. bereve*, *B. longum* CKL 1969 i DSM 2054), *Streptococcus* (np. *Str. thermophilus*) oraz niektóre gatunki drożdży (np. *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces lactis*) i inne [Awaishah i in. 2005, Prado i in. 2008].

Dużą popularnością cieszą się również preparaty wzbogacone w kwasy z rodziny n-3, głównie kwas γ -linolenowy (C18:3 n-3, ALA), eikozapentaenowy EPA (C20:5 n-3) i dokozaheksaenowy DHA (C22:6 n-3). Ich pozytywny wpływ na zdrowie człowieka wynika z redukcji ryzyka wystąpienia schorzeń sercowo-naczyniowych, wpływu na rozwój układu nerwowego u dzieci (głównie DHA). W Europie pierwsze mleko wzbogacone w kwasy n-3 pojawiło się w Irlandii (produkt Omega-3). W 1998 roku we Włoszech wprowadzono na rynek mleko Omega-3 Plus zawierające 80 mg/l kwasów n-3 [Hözer, Kirmaci 2010]. Dodatek kwasów n-3 do produktów poddanych fermentacji (jogurty, kefir) wprowadzić nie zmienia ich smaku i aromatu, lecz niekorzystnie wpływa na konsystencję. Problem ten starano się rozwiązać, dodając jednocześnie kwasy n-3 i białka serwatki [Martin-Diana i in. 2004, Awaisheh i in. 2005].

Pełnotłuste produkty nabiałowe o wysokiej zawartości CLA mają szansę wzbogacić rynek żywności jako nutraceutyki. Przy produkcji jogurtów stosowanie różnych poziomów inokulantów zawierających *Lactobacillus rhamnosus* nie powoduje zmian zawartości CLA podczas przechowywania (14 dni), jak również ich tekstury, kwasowości i zapachu [Xu i in. 2005]. Dodatek kwasu linolowego (0,1%) podczas produkcji jogurtu wiąże się z wyraźnym wzrostem zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA, bez negatywnego wpływu na cechy sensoryczne produktu końcowego [Lin 2003]. Dodanie hydrolizatu oleju sojowego jako źródła tłuszczu podczas fermentacji wywołanej przez *L. rhamnosus* miało podobny, lecz słabszy wpływ [Xu i in. 2005]. Konwencjonalne metody ogrzewania mleka czy produktów mlecznych nie powodują znacznego wzrostu zawartości izomerów *trans*, natomiast ogrzewanie przez 10 minut w kuchence mikrofalowej przyczynia się do spadku zawartości CLA w serze o 53% w porównaniu z zawartością w serze świeżo zagotowanym [Herzallah i in. 2005].

2.2. Tłuszcze w żywieniu człowieka

Pod względem budowy chemicznej tłuszcze można podzielić na tłuszcze proste i złożone. Lipidy proste są to estry kwasów tłuszczowych z różnymi alkoholami. Wśród nich wyróżniamy tłuszcze właściwe (estry kwasów tłuszczowych i glicerolu) oraz woski (estry kwasów tłuszczowych z wyższymi alkoholami jednowodorotlenowymi). W tłuszczach złożonych obok kwasów tłuszczowych i glicerolu mogą występować jeszcze grupy funkcyjne (aminy, cukry, alkohole etc.). Lipidy złożone nie jest łatwo sklasyfikować, zasadniczo można wyróżnić fosfolipidy, glikolipidy oraz inne, do których należą sulfolipidy, aminolipidy, lipoproteiny. Charakterystyczną cechą tej grupy związków jest obecność w nich kwasów tłuszczowych [Barłowska, Litwińczuk 2009, Bałasińska i in. 2010].

Kwasy tłuszczowe zbudowane są z łańcucha węglowego zakończonego grupą karboksylową (-COOH). Spotykane w żywności kwasy tłuszczowe zawierają przeważnie od 14 do 24 atomów węgla, chociaż może ich być od 4 do nawet 80 [Bałasińska i in. 2010]. W ich budowie występują dwie grupy funkcyjne, które znajdują się na końcach łańcucha, z jednej strony jest to grupa metylowa -CH₃, z drugiej grupa karboksylowa -COOH.

Biorąc pod uwagę długość łańcucha węglowego, szczególnie w odniesieniu do tłuszczu mleka, kwasy tłuszczowe można podzielić na krótkołańcuchowe (C4:0–C12:0), średniołańcuchowe (C14:0–C16:0) i długołańcuchowe (> C17:0) [AbuGhazaleh i in. 2004,

Osborne i in. 2008]. Połączone pojedynczymi wiązaniami atomy węgla określa się je jako kwasy tłuszczowe nasycone (saturated fatty acids – SFA). Kwasy tłuszczowe z jednym wiązaniem podwójnym to mononienasycone (monounsaturated fatty acids – MUFA), natomiast gdy wiązań podwójnych jest więcej, są to kwasy wielonienasycone (polyunsaturated fatty acids – PUFA). Wśród PUFA występują grupy kwasów n-3, n-6, n-7 i n-9 (oznaczone również omega- lub ω -). Cyfra oznacza położenie pierwszego wiązania nienasyconego, licząc od metylowego końca łańcucha węglowego [Kolanowski 2007].

Wśród 588 kwasów tłuszczowych oznaczonych w tłuszczu mleka około 94% związana jest z lipidami prostymi, jakimi są triacyloglicerole [Glasser i in. 2007]. Dominującą grupą są kwasy nasycone – SFA (ok. 68%), jedno- i wielonienasycone to odpowiednio ok. 29 i 3% tłuszczu mleka [Pisulewski 2000, Jensen 2002]. Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym bydła to w ok. 44% SFA, w 46 MUFA oraz 10 PUFA. Stosunek kwasów n-6:n-3 wołowiny wynosi nieco poniżej 3, z tendencją do obniżania się SFA wraz ze wzrostem mięsności bydła [Kończak 2007].

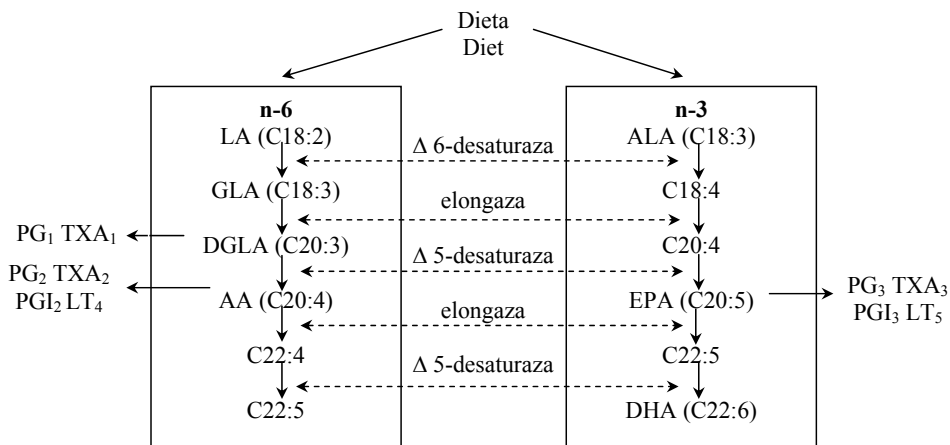
Lipidy są podstawowym i najlepszym związkiem dostarczającym organizmowi energii. Stanowią także materiał budulcowy dla substancji biochemicznie czynnych i hormonów (cholesterolu, fosfolipidów, glikolipidów) i wpływają na właściwości dynamiczne błony komórkowej [Ziemlański 1997]. Tłuszcz umożliwia absorpcję rozpuszczalnych w nim witamin i innych hydrofobowych związków biologicznie czynnych, w tym karotenoidów.

Stwierdzono, że tłuszcz mleka ze względu na udział cholesterolu i SFA nie ma aż tak istotnego wpływu na wzrost ryzyka wystąpienia hypercholesteremii i chorób układu krążenia. Dla zdrowia człowieka niekorzystna jest frakcja LDL cholesterolu stanowiąca 70% zawartości całego cholesterolu [Skrzypek 1999, Dymnicka, Koziorowski 2007]. Poziom spożycia cholesterolu ma niewielki wpływ na jego koncentrację we krwi, gdyż istnieją mechanizmy regulujące wchłanianie i wydalanie. Jedynie kwas laurynowy (C12:0) i mirystynowy (C14:0), a u ludzi starszych kwas palmitynowy (C16:0) są kwasami hypercholesterolemicznymi. Kwas stearynowy (C18:0) można pod tym względem uznać za neutralny, ponieważ w organizmie bardzo łatwo przechodzi w kwas oleinowy C18:1 [Lock, Bauman 2004].

Mleko niekiedy postrzegane jest jako źródło izomerów *trans*, które mogą powodować wystąpienie choroby wieńcowej u ludzi. Na powstawanie chorób sercowo-naczyniowych ludzi wpływ kwasów *trans* pochodzących od przeżuwaczy, jak i powstających w procesach technologicznych nie jest jednoznaczny [Mensink 2005]. Udział kwasów o konfiguracji *trans* w olejach rafinowanych i margarynach jest odmienny od tych występujących w mleku przeżuwaczy, w którym 60–80% ogółu kwasów *trans* stanowi kwas wakcenyowy, *trans*-11 C18:1 (TVA). Na podstawie analizy 29 publikacji przeprowadzonej przez Moate i in. [2007] zawartość ta wynosiła średnio 78%. W niektórych badaniach stwierdzono ujemny związek pomiędzy zapadalnością ludzi na choroby układu wieńcowego a pobraniem *trans* kwasów tłuszczowych pochodzenia zwierzęcego [Pietinen i in. 1997]. W przypadku zwierząt laboratoryjnych żywionych masłem wzbogaconym w *cis*-9, *trans*-11 CLA i TVA stosunek lipoprotein miażdżycogennych (VLDL+IDL+LDL) do antymiażdżycowych (HDL) był statystycznie niższy niż u zwierząt żywionych zwykłym masłem [Lock i in. 2005]. Zatem wzrost w spożywanym masle *cis*-9, *trans*-11 CLA i TVA wpływa na redukcję ryzyka wystąpienia miażdżycy. Dodatkowo kwas wakcenyowy może hamować rozwój komórek nowotworowych [McGuire, McGuire 2000].

Nadmierne spożycie tłuszczu, zawierającego duże ilości kwasów tłuszczowych nasyconych, prowadzi do rozwoju otyłości, miażdżycy, cukrzycy typu II oraz powstawania nowotworów. Ważna jest jednak ilość i jakość spożywanych tłuszczów. W produktach pochodzenia zwierzęcego, z wyjątkiem ryb, w składzie kwasów tłuszczowych dominują nasycone i wielonienasycone kwasy tłuszczowe typu n-6. Z punktu zdrowia człowieka pożądanym jest w diecie niski stosunek kwasów n-6/n3 [Simopoulos 2008].

Kwasy SFA i MUFA, podobnie jak cholesterol, mogą być syntetyzowane w organizmie zwierząt i człowieka. Kwasy linolowy C18:2 n-6 (LA) i α -linolenowy C18:3 n-3 (ALA) nie podlegają syntezie *de novo* w organizmie człowieka i u większości zwierząt. Ich niedobór powoduje poważne konsekwencje zdrowotne, dlatego zalicza się je do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (WNKT). Do tej grupy należą również kwas arachidonowy C20:4 n-6 (AA) oraz dwa kwasy z rodziny n-3, eikozapentaenowy C20:5 n-3 (EPA) i dokozaheksaenowy C22:6 n-3 (DHA), które są dostarczane z pożywieniem lub powstają na drodze przemian enzymatycznych. Tkanki ludzkie mają zdolność do przekształcenia kwasu LA i ALA (ryc. 2), która polega na wydłużaniu łańcucha węglowego (elongacja) i wprowadzaniu do niego wiązań podwójnych (desaturacja). Stopień przemian ustrojowych wynika z konkurencji w tych szlakach metabolicznych o desaturazy (głównie delta 6) na korzyść dominujących w diecie kwasów n-6 [Simopoulos 2008]. Dlatego też jedynie ok. 5% pobranego wraz z dietą ALA przekształcane jest w kwasy EPA i DHA [Kolanowski 2007].



LA – kwas linolowy, GLA – kwas γ -linolenowy, DGLA – dihomo- γ -linolenowy, AA – kwas arachidonowy, EPA – eikozapentaenowy, ALA – kwas α -linolenowy, PG – prostaglandyny, TXA – tromboksany, PGI – prostacykliny, LT – leukotrieny

LA – linolenic acid, GLA – γ -linolenic acid, DGLA – dihomo- γ -linolenic acid, AA – arachidonic acid, EPA – eicosapentaenoic acid, ALA – α -linolenic acid, PG – prostaglandin, TXA – tromboksane, PGI – prostacycline, LT – leucotriene

Ryc. 2. Przemiany metaboliczne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w organizmie [Tanaka 2005, Kolanowski 2007]

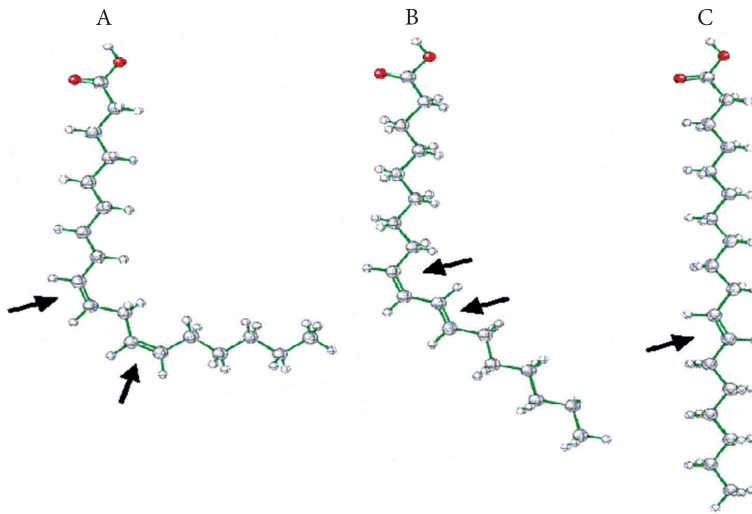
Fig. 2. Systemic metabolism of long-chain polyunsaturated fatty acids

W organizmie człowieka długołańcuchowe kwasy z rodziny n-3 wchodzi w skład fosfolipidów błon komórkowych, a szczególnie wysoki ich poziom występuje w tkance centralnego układu nerwowego, siatkówce i jądrach [Kolanowski 2007]. Proporcja tych kwasów w tkankach, w dużym stopniu, zależy od ich stosunku w pobranym pożywieniu [Sanders 2000]. Kwasy te są także prekursorami wewnątrzustrojowej syntezy eikozanoidów (związków o statusie hormonów), głównie prostaglandyn serii 3, prostacyklin, leukotrienów, lipoksyn oraz tromboksanów [Tavani i in. 2005]. Niedobór kwasów EPA i DHA stanowi ważną przyczynę rozwoju szeregu schorzeń cywilizacyjnych, do których należą schorzenia układu krążenia. Kwasy te hamują nasilenie procesów zapalnych, zakrzepowych, reakcji alergicznych, nowotworzenia oraz zmian miażdżycowych [Simopoulos i in. 2008, Jatoi 2005]. Eikozanoidy wpływają m.in. na regulację czynności układu sercowo-naczyniowego, ciśnienia krwi, wykrzepianie, stężenie triglicerydów, procesy zapalne, funkcjonowanie układu odpornościowego, proliferację komórek i rozwój nowotworów, regulację czynności hormonów i neuromediatorów, ekspresję genów, odczuwanie bólu oraz zmniejszenie dawki terapeutycznej i toksyczności niektórych leków. Eikozanoidy powstałe z EPA wykazują działanie przeciwzakrzepowe, przeciwzapalne, hamując nadmierną kurczliwość naczyń i karcinogenezę. Odmienne działanie i to w małych stężeniach, mają eikozanoidy powstałe z kwasu arachidonowego (n-6) [Sanders 2000, Stillwell i in. 2005].

Spożywanie ryb morskich oraz suplementacje nutraceutyków umożliwiają większe pobranie przez człowieka kwasów n-3. Zawartości EPA i DHA w tłuszczu rybim zależą od gatunku ryb, pory roku oraz akwenu, w którym są odławiane. Ryby z zimnych mórz północnych zawierają więcej EPA, a z południowych – DHA. Zalecane dzienne pobranie kwasów n-3 (EPA i DHA) powinno wynosić 0,65 g. Zatem człowiek powinien spożywać ok. 300 g ryb tygodniowo. W Polsce jednak spożycie oscyluje w granicach 125 g [Kolanowski 2007].

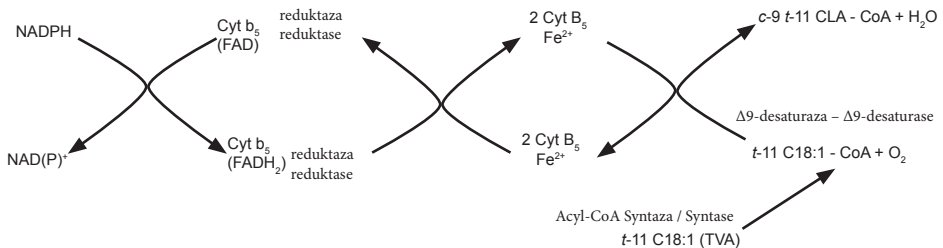
W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudzają izomery CLA (ang. conjugated linoleic acid). Termin ten określa grupę pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego – oktadekadienowego (C18:2). Sprzężony kwas linolowy nazywany jest także kwasem żwaczowym (ang. ruminic acid), nazwa ta wzięła swój początek od jednego z miejsc powstawania tego związku w organizmie krów. W cząsteczce CLA wiązania podwójne są rozdzielone tylko jednym wiązaniem pojedynczym w wyniku reakcji izomeryzacji (ryc. 3). Wiązania podwójne w cząsteczkach CLA obecnych w tłuszczach zwierzęcych występują najczęściej przy węglu 9 i 11 oraz 10 i 12, chociaż istnieje szereg innych izomerów CLA. W izomerach CLA wiązania podwójne mogą występować także przy węglu 6 i 8, 7 i 9, 8 i 10, 11 i 13 oraz 12 i 14 [Fritsche i in. 2000]. Izomery te mogą mieć konfigurację przestrzenną *cis* i *trans*, tzn. mogą one występować w formach *cis-cis*, *trans-trans*, *cis-trans* oraz *trans-cis*.

Znanych jest ok. 28 różnych izomerów CLA. W naturalnym pokarmie głównym izomerem jest *cis-9, trans-11* CLA, który stanowi ponad 90% pobranego wraz z dietą człowieka CLA [Bhattacharya i in. 2006]. Izomery CLA oznaczane w tkance tłuszczowej ludzi najczęściej mają konfigurację *cis-9, trans-11* i *trans-9, trans-11*, inne izomery są wykrywane w śladowych ilościach. CLA obecny w organizmie człowieka jest zasadniczo pochodzenia egzogenego, a tylko niewielka ilość powstaje w wyniku endogennej syntezy. Wzbogacenie diety kobiet w kwas wakcenyowy TVA (2,5 mg/kg masy ciała) spowodowało wzrost



Ryc. 3. Schemat budowy chemicznej kwasu linolowego (*cis*-9, *cis*-12 18:2; A), *cis*-9, *trans*-11 CLA (B) oraz *trans*-11 18:1 (C) [Bauman i in. 2000]. Strzałki wskazują miejsca wiązań podwójnych
 Fig. 3. Chemical structure of linoleic acid (*cis*-9, *cis*-12 18:2; A), *cis*-9, *trans*-11 CLA (B) and *trans*-11 18:1 (C). Arrows indicate location of double bonds

zawartości tego kwasu w tłuszczu mleka do 7,6% w 18 godz. od pobrania. W tym czasie stwierdzono również maksymalny poziom CLA (0,4%) [Mosley i in. 2006]. Autorzy tych badań wskazują, że w mleku kobiet < 10% CLA pochodzi z endogennej syntezy, konwersja ta zachodzi z TVA przy udziale Δ^9 -desaturazy (ryc. 4).



Ryc. 4. Enzymatyczne przekształcenie TVA do *cis*-9, *trans*-11 CLA przy udziale Δ^9 -desaturazy [Khanal, Dhiman 2004]

Fig. 4. Enzymatic conversion of TVA to *cis*-9, *trans*-11 CLA with Δ^9 -desaturase contribution

Parodi [1977] zwraca uwagę na obecność w tłuszczu mleka izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA. Właściwości sprzężonych dienów kwasu linolowego odkryte zostały przypadkowo, gdy Pariza i Hargraves [1985] badali rakotwórcze właściwości grillowanej wołowiny. Wbrew oczekiwaniom naukowcy stwierdzili antykancerogenne właściwości kwasów tłuszczowych wołowiny. W następnych latach odkrycie to pociągnęło za sobą lawinę doświadczeń, w których oceniano prozdrowotny wpływ CLA, zarówno *in vitro*,

jak również na zwierzętach modelowych oraz w badaniach klinicznych [Belury 2002, Lipowski i in. 2003, Burdge i in. 2004, Brownbill i in. 2005]. Wskazano na wiele istotnych właściwości CLA:

- hamowanie (*in vitro* i *in vivo*) rozwoju komórek nowotworowych (*cis-9, trans-11* CLA) [McGuire, McGuire 1999, Ip 1999, Belury 2002],
- opóźnianie rozwoju arteriosklerozy [Kritchevsky i in. 2000],
- redukcja tkanki tłuszczowej (*trans-10, cis-12* CLA) [Petridou i in. 2003],
- opóźnianie rozwoju cukrzycy typu II [McGuire, McGuire 1999],
- działanie immunomodulujące i przeciwzapalne, poprawa mineralizacji kości [Jensen 2008],
- działanie bakteriostatyczne i antyutleniające [Albers i in. 2003, Nugent i in. 2005].

Stosując w żywieniu zwierząt laboratoryjnych masło lub produkty wzbogacone w CLA, stwierdzono wyraźny wzrost zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego w ich tkankach oraz działanie profilaktyczne przy indukcji nowotworów gruczołu mlekowego (tab. 1) [Ip i in. 1999]. W badaniach *in vitro* stosując preparaty wzbogacone w izomer *cis-9, trans-11* CLA, zaobserwowano bardzo wysoką aktywność antyproliferacyjną w kierunku linii komórkowej ludzkiej białaczki promielocytarnej HL-60 oraz linii komórkowej raka jamy ustnej KB [Lipkowski i in. 2003]. Podobnie w badaniach na myszach z wszczepionymi komórkami raka ludzkiego żołądka i dwunastnicy odnotowano znaczne obniżenie metastazy [Kuniyasu i in. 2005]. Podobnie zastosowanie 1% CLA obniżyło karcenogenezę raka dwunastnicy u szczurów poprzez wzrost stosunku Bax/Bcl-2, kluczowych białek dla apoptozy [Park i in. 2004].

Tabela 1
Table 1

Wpływ różnych źródeł CLA na występowanie nowotworów gruczołu mlekowego u szczurów [Ip i in. 1999]
Mammary cancer occurrence in rats fed different sources of CLA [Ip et al. 1999]

Grupa Group	CLA diety CLA in diet (g/100 g)	Występowanie guzów Tumor incidence	Całkowita liczba guzów (n) Total tumors (n)
Kontrolna – Control (CLA: 83% <i>cis-9, trans-11</i>)	0,1	28/30 (93%) ^a	92 ^a
Masło CLA – Butter CLA (CLA: 92% <i>cis-9, trans-11</i>)	0,8	15/30 (50%) ^b	43 ^b
Produkt A – Product A (CLA: 81 % <i>cis-9, trans-11</i> ,)	0,8	16/30 (53%) ^b	46 ^b
Produkt B – Product B (CLA: 25.3% <i>cis-9, trans-11</i>)	0,8	17/30 (57%) ^b	48 ^b

Suplementację żywieniową CLA stosowano przez 1 miesiąc (od 23. do 55. dnia życia). Powstawanie guzów gruczołu mlekowego indukowano poprzez iniekcję wszystkim szczurom MUN CLA feeding was started from weaning and continued for 1 mo (i.e. 23–55 d of age). Methylnitrosourea (MNU) was injected into each rat for mammary tumor induction at this point.

a,b – różnice statystyczne przy $P \leq 0,05$

a,b – differences statistical at $P \leq 0.05$

Tłuszcz mleka i mięsa przeżuwaczy jest naturalnym źródłem CLA. Średnia zawartość CLA w mleku krów waha się od 3 do 6 mg/g tłuszczu [Kelly i in. 1998]. W wołowinie zawartość

CLA wynosi od 2,8 do 14 mg/g [Mir i in. 2004]. Ilości te są jednak względnie małe. Spożycie CLA w niektórych krajach mieści się w przedziale 15–174 mg/dzień, wynosząc średnio 94,9 mg/dzień [Ens i wsp. 2001]. Analogicznie jak w badaniach na zwierzętach laboratoryjnych [Ip i in. 1999] dawka CLA wywołująca korzystny wpływ (np. antykanцерогenny) u człowieka o wadze 70 kg powinna być wyższa niż 2,8 g/dzień. W badaniach klinicznych Voorrips i in. [2002] wykazali nieznaczny pozytywny wpływ suplementacji CLA u kobiet narażonych na wystąpienie raka piersi, natomiast McCann i in. [2004] wskazują na marginalny wpływ CLA na dynamikę rozwoju guza piersi u kobiet przed menopauzą, lecz nie po niej. Opracowano także metody wzbogacania tłuszczu mleka przeżuwaczy w bioaktywne izomery CLA (nawet 9,5% *cis*-9, *trans*-11 C18:2) i kwas wakcenyowy [Patkowska-Sokoła i in. 2005]. Istnieją pewne trudności techniczne uzyskania preparatów zawierających tylko jeden izomer CLA, jednak skuteczność preparatów naturalnych jest lepsza niż syntetycznych.

2.3. Czynniki wpływające na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka

Zawartość tłuszczu w mleku krów wynosi średnio 3,8%, w przedziale od 3 do 8%. Zależy ona od rasy, okresu laktacji, pewnych właściwości osobniczych (np. wiek), fazy doju oraz żywienia. W mleku tłuszcz występuje jako kuleczki, których stopień dyspersji jest znaczny. Przeciętna ich średnica wynosi 4 µm (0,1–20 µm) [Barłowska, Litwińczuk 2009]. Wśród dużej grupy kwasów tłuszczowych, siedem z nich (C4:0, C6:0, C10:0, C14:0, C16:0, C18:0 i C18:1) stanowi > 75% ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych [Park i in. 2007]. Około 15 z nich występuje w ilości > 95%, a jedynie > 0,1% to ok. 36 kwasów wraz z ich izomerami [Barłowska, Litwińczuk 2009].

Źródłem kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka przeżuwaczy są kwasy powstające w procesach żwaczowych, lipidy pochodzące z dawki pokarmowej oraz uruchamiany tłuszcz zapasowy organizmu [Barłowska, Litwińczuk 2009]. W tłuszczu mleka istnieje przewaga krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych nasyconych (C:4–C:14), które są syntezowane *de novo* w gruczole mlekowym z powstającego w żwaczu kwasu octowego i kwasu β-hydroksymasłowego tworzącego się w przedżołądkach. Około 50% kwasu palmitynowego (C16:0) również syntezowane jest *de novo*, pozostała część pochodzi z lipidów krwi. Wyższe kwasy tłuszczowe (> C:18) zasadniczo wywodzą się z krwiobiegu, w tym po bezpośrednim wchłonięciu z przewodu pokarmowego lub z tłuszczu zapasowego. Wchłonięty kwas C16:0 może przechodzić do tłuszczu mleka w znacznej ilości (29–90%), w mniejszej ilości kwas C:18 (19–65%) oraz kwasy od C:10 do C:14 (25–40%) [Szumacher-Strabel 2005].

Czynnik genetyczny, rasa krów w dużym stopniu determinują profil kwasów tłuszczowych mleka. Według Barłowskiej i Litwińczuka [2009] najwyższa zawartość kwasów nasyconych występuje w mleku krów rasy jersey (74,8%) i polskiej czerwonej (67,36%), a więc u ras o wysokiej zawartości tłuszczu w mleku. W mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej (PHF) stwierdzono 65,2–69,8% kwasów nasyconych i 24,9–25,4% kwasów nienasyconych [Kupczyński i in. 2008]. Wyższą zawartość kwasów nasyconych wykazano u krów rasy simentalskiej niż u rasy PHF o wysokiej wydajności mleka

[Kupczyński i in. 2008]. Zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych u różnych ras, żywionych systemem TMR, zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Table 2

Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka (g/100 g kwasów tłuszczowych)
Fatty acids composition in milk fat (g/100 g of fatty acids)

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rasa – Breed		
	PHF ¹	Simmental ¹	Holsztyńska ²
C _{4:0}	3,05	2,91	2,57
C _{6:0}	1,55	2,11	2,14
C _{8:0}	2,93	1,6	1,34
C _{10:0}	2,46	2,4	3,14
C _{12:0}	3,71	3,53	3,61
C _{14:0}	10,16	10,57	10,76
C _{14:1}	0,49	0,54	0,94
C _{16:0}	29,33	29,38	31,02
C _{16:1}	1,25	1,63	1,57
C _{18:0}	10,47	11,87	8,49
C _{18:1n-7} (TVA)	0,82	2,01	0,95
C _{18:2n-7,t12}	0,48	0,26	0,05
C _{18:2n-7,c12}	3,22	2,33	2,34
C _{18:2n-7,t11} (CLA)	0,45	0,68	0,66
C _{18:3 n-3}	0,05	0,04	0,44
C _{18:3 n-6}	0,23	0,59	0,04
C _{20:1}	0,07	0,09	–
C _{20:4}	0,15	2,12	0,15
C _{20:5 n-3} (EPA)	0,02	0,03	0,05
C _{22:6 n-3} (DHA)	–	0,07	0,03

¹Kupczyński i in 2008, ²Cruz-Hernandez i in. 2007

Kupczyński et al. 2008, Cruz-Hernandez et al. 2007

Selekcja krów w kierunku wysokiej wydajności powoduje obniżenie zawartości tłuszczu i białka w mleku, nie mając jednak wyraźnego wpływu na zawartość w nim kwasów tłuszczowych [Bobe i in. 2007]. Podobnie uważają Kay i in. [2005]. W badaniach tych stwierdzono jednak, że krowy selekcyjonowane w kierunku wysokiej wydajności produkują mleko o niższej zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. Mleko krów rasy mombeliard i normandzkiej charakteryzowało się niższą zawartością C:16 i wyższą zawartością C18:0 i C18:1 w porównaniu z rasą holsztyńską z Irlandii lub Niemiec [Lawless i in. 1999]. We wcześniejszych badaniach własnych w tłuszczu mleka rasy simentalskiej stwierdzono ($P \leq 0,01$) więcej kwasów nasyconych niż w mleku krów wysoko wydajnych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej [Kupczyński i in. 2008]. Jednocześnie mleko krów

rasy simentalskiej charakteryzowało się najwyższą zawartością długłańcuchowych kwasów tłuszczowych (> C17:0). W mleku krów rasy jersey, bez względu na system żywienia (pastwisko czy TMR), stwierdzono wyższy udział kwasów nasyconych (od C:6 do C:18) w porównaniu z rasą holsztyńską [White i in. 2001].

Nie odnotowano wyraźnych zależności pomiędzy zawartością tłuszczu w mleku a koncentracją kwasów długłańcuchowych [White i in. 2001, Kay i in. 2005]. Kwasy tłuszczowe syntezowane *de novo* (od C4:0 do C15:0) były wyraźnie ($P \leq 0,05$) skorelowane między sobą [Moate i in. 2007]. Podobne zależności dotyczyły C16:0 i C18:0. Kwasy *trans*-10 C18:1 i *trans*-10, *cis*-12 CLA były ujemnie skorelowane z zawartością tłuszczu w mleku [Bauman i in. 2008]. Również ukierunkowana suplementacja żywieniowa (np. olej rybny) prowadzi do wzrostu koncentracji izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA i redukcji zawartości tłuszczu w mleku [Shingfield i in. 2003, 2006].

Indywidualna zmienność zawartości CLA pomiędzy poszczególnymi rasami jest jednak duża i może wahać się od 2,8 do 24,5 mg/g tłuszczu [Moate i in. 2006]. Mleko krów rasy simentalskiej charakteryzuje się najwyższą ($P \leq 0,01$) zawartością izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA (0,68 g/100 g kwasów tłuszczowych) w porównaniu z wysoko wydajnymi krowami rasy PHF (0,45 g/100 g kwasów tłuszczowych) [Kupczyński i in. 2008]. Wyższą zawartość CLA stwierdzono w tłuszczu mleka rasy montbeliard niż u rasy holsztyńskiej czy normandzkiej [Lawless i in. 1999]. Porównując rasę holsztyńską z brunatnym bydłem szwajcarskim, zauważono mało istotne różnice w zawartości CLA [Kelsey i in. 2003], natomiast tłuszcz mleka rasy holsztyńskiej zawierał wyższą zawartość tego izomeru niż rasy jersey [White i in. 2001]. Krowy wysoko wydajne tej samej rasy charakteryzują się niższą zawartością CLA niż o średniej wydajności [Kupczyński i in. 2008, Nałęcz-Tarwacka i in. 2009].

Głównym źródłem izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka przeżuwaczy jest endogenna synteza z kwasu wakcenenowego (TVA), pochodzącego ze żwacza pod wpływem enzymu Δ^9 -desaturazy (stearoyl-CoA desaturase) [Griinari i in. 2000, Piperova i in. 2002, Mosley i in. 2006]. Na pewne różnice pomiędzy rasami w aktywności Δ^9 -desaturazy wskazują Kelsey i in. [2003]. Potwierdzają to również badania Siebert i in. [2003], którzy stwierdzili wyższą aktywność tkankową tego enzymu u rasy jersey niż u bydła mięsnego (Limousine). Jednak w innych badaniach mimo wyraźnych różnic w zawartości CLA w mleku nie stwierdzono istotnych zmian w wartości indeksu desaturazy [AbuGhazaleh i in. 2007]. Przy wyliczaniu tego indeksu brany jest stosunek produktu i substratu dla Δ^9 -desaturazy. Istnieje też inna teoria mówiąca, że w obrębie danej rasy większe pobranie kwasu linolowego i linolenowego wraz z dawką pokarmową (wzrost ilości TVA w treści żwacza) przyczyniają się do większej syntezy enzymatycznej przy udziale Δ^9 -desaturazy w gruczole mlekowym [Bargo i in. 2006].

Kelsey i in. [2003] stwierdzili, że dla rasy, kolejności laktacji i jej fazy współczynnik całkowitej zmienności zawartości CLA wynosi odpowiednio: < 0,1 oraz < 0,3 i < 2,0%. Odnotowano wyższą koncentrację CLA w mleku krów wieloródek niż pierwiastek, jednak nie był to czynnik silnie determinujący zawartość tego izomeru [Nałęcz-Tarwacka i in. 2009]. W badaniach odnotowano wyższą zawartość CLA w mleku krów > 120 dnia laktacji, chociaż różnice te nie były statystycznie istotne. Moate i in. [2008] podają, że zmienność zawartości w mleku poszczególnych kwasów tłuszczowych wynosi od 25 do 100%. Wskazują, że na różnice te w zasadniczy sposób wpływa żywienie. Dieta pastwiskowa

w porównaniu z TMR różniła się istotnie ($P \leq 0,05$) w przypadku zawartości w mleku *trans*-10 C18:1, *trans*-10 C18:1, *cis*-9, *cis*-12 C18:2, C20:0 oraz C20:5. Również w badaniach skandynawskich, w zależności od pory roku, stwierdzono wyraźny wpływ czynnika żywieniowego [Thorsdottir i in. 2004]. Podsumowując, koncentrację CLA w tłuszczu mleka determinują pewne uwarunkowania dotyczące rasy, wieku krów, stadium laktacji, jednak największy wpływ wywiera czynnik żywieniowy.

2.4. Biosynteza CLA

Tłuszcz mleka i mięsa przeżuwaczy jest naturalnym źródłem sprzężonego kwasu linolowego. Produkty mleczne dostarczają człowiekowi około 70% pobranego CLA [Ritzen-thaler i wsp. 2001]. Największa zawartość CLA w tłuszczu mleka przeżuwaczy występuje u owiec, następnie kóz i krów [Patkowska i in. 2005]. W mleku krów żywionych dawkami TMR zawartość ta mieściła się w przedziale od 2,3 do 7,2 mg/g tłuszczu, średnio 4,3 mg/g [Kelsey i in. 2003], natomiast podczas żywienia pastwiskowego zawartość CLA w tłuszczu mleka jest wyraźnie wyższa [White i in. 2001, Kay i in. 2004]. System TMR jest powszechnie stosowany i zalecany u krów wysoko wydajnych, a każda z metod modyfikacji składu mleka krów żywionych tym systemem zasługuje na uwagę.

Izomer *cis*-9, *trans*-11 stanowi około 75–90% całkowitej zawartości CLA w tłuszczu mleka, przeważnie około 80% [Corl i in. 2002, Bauman 2008]. Głównym jego źródłem w mleku jest endogenna synteza z kwasu wakcenenowego *trans*-11 C18:1 (TVA), pochodzącego ze żwacza [Peterson i in. 2002, Corl i in. 2002, Kay i in. 2004]. Izomer *trans*-7, *cis*-9 CLA powstaje wyłącznie podczas endogennej syntezy, natomiast zasadniczym źródłem innych izomerów są procesy uwodorowania kwasów tłuszczowych w żwaczu [Piperova i in. 2002]. Udział poszczególnych izomerów w tłuszczu mleka podano w tabeli 3.

Tabela 3

Table 3

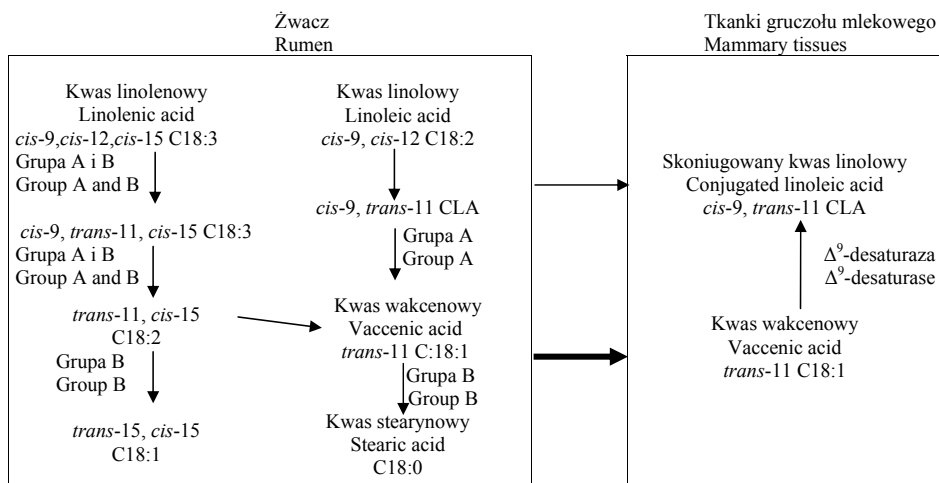
Koncentracja izomerów CLA (%) w mleku krów [Bauman i in. 2008]
Concentration of investigated CLA (%) isomers in cows milk

Izomer CLA CLA isomer	Całkowita zawartość izomerów CLA Total CLA isomers content
<i>trans</i> -8, <i>cis</i> -10	< 0,1–1,5
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	< 0,1–1,5
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	72,6–91,2
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11	0,8–2,9
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	< 0,1–1,5
<i>cis</i> -10, <i>trans</i> -12	< 0,1–1,5
<i>trans</i> -10, <i>trans</i> -12	0,3–1,3
<i>cis</i> -11, <i>trans</i> -13	0,2–4,7

W latach 60. ubiegłego wieku stwierdzono, że izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA powstaje w żwaczu jako produkt pośredni biouwodorowania kwasu linolenowego przez bakterie *Butyrivibrio fibrisolvens* [Kepler, Tove 1967]. Kolejne badania nie zmieniły postawionej tezy, pozwoliły jednak na precyzyjne określenie mikroorganizmów biorących

udział w tym procesie, jak również ustaliły ścieżki biouwodorowania PUFA. Obecnie przyjmuje się, że synteza CLA u przeżuwaczy przebiega dwiema ścieżkami. Są to procesy biouwodorowania w żwaczu, natomiast większość powstaje w procesach enzymatycznych w gruczole mlekowym (ryc. 5).

Dostarczane wraz z dietą kwasy linolowy i linolenowy podlegają biouwodorowaniu w wyniku oddziaływania lipazy bakteryjnej do kwasu stearynowego [Or-Rashid i in. 2007]. W tych przemianach izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA oraz kwas wakceniowy stanowią produkty pośrednie w wyniku hydrogenacji kwasu linolowego i linolenowego [Griinari i in. 2000]. Izomery *trans*-18:1 powstają w żwaczu także z kwasu oleinowego [Mosley i in. 2002]. Pewna ilość wytworzonego w żwaczu CLA ulega wchłonięciu. Aby uzyskać pełne uwodornienie PUFA, konieczne są bakterie z grupy A i B. Grupa A obejmuje wiele bakterii, m.in. *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Ruminococcus albus*. Grupa B (*Fucocillus* spp.), bierze głównie udział w uwodornianiu kwasu oleinowego *cis*-9 C18:1 oraz jego izomerów do kwasu stearynowego [Griinari i in. 2000, Palmquist i Griinari 2006]. Palmquist i Griinari [2006] przytaczają podział różnych filogenetycznie *Butyrivibrio*, a w obu grupach opisano ich 69 gatunków (A i B). Do grupy B należy także *Clostridium proteoclasticum*. Aktywność transferazy bakterii grupy A jest stymulowana obecnością octanów. Oprócz *cis*-9, *trans*-11 CLA pozostałe izomery tego kwasu w żwaczu stwierdzane są w minimalnych ilościach, należą do nich izomery 10t12c oraz 11c13t, 12c14t, 11t13c, 7t9t, 8t10t, 9t11t, 10t12t, 11t13t i 12t14t [Loor i in. 2005].



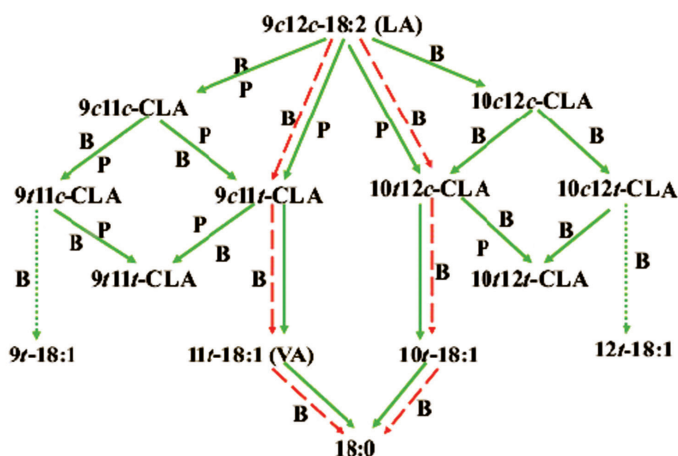
Ryc. 5. Ścieżki biouwodorowania i endogenna synteza *cis*-9, *trans*-11 CLA u krów [wg Bauman i in. 2000, Jenkins i in. 2008]

Fig. 5. The biohydrogenation pathways and endogenic synthesis of *cis*-9, *trans*-11 CLA at cows [Adapted from Bauman et al. 2000, Jenkins et al. 2008]

Udział bakterii i pierwotniaków w biouwodornianiu kwasu linolowego przedstawia rycina 6. Badania Boeckert i in. [2009] wskazują, że bakterie przylegające do cząstek paszy

(SAB, solid adhering bacteria) dokonują pełnego biouwodrojenia *cis*-9, *cis*-12 C18:2 do C18:0, podczas gdy bakterie zawieszona w płynie żwacza (LAB, liquid adhering bacteria) przeprowadzają częściowe biouwodrojenie do *trans*-10 C18:1/*trans*-11 C18:1. Bakterie *Butyrivibrio* spp. tolerują podwyższone ilości wprowadzanych do żwacza nienasyconych kwasów tłuszczowych, a ich populacja wyraźnie wzrasta po łącznym zastosowaniu w żywieniu krów oleju rybnego z olejem słonecznikowym [Palmquist i Griinari 2006].

Zasadniczym źródłem CLA w tłuszczu mleka, mającym miejsce w tkankach gruczołu mlekowego, jest endogenna synteza izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA z kwasu walcenowego (TVA) pochodzącego ze żwacza, pod wpływem enzymu Δ^9 -desaturazy (stearoyl-CoA desaturase). Nawet 64–78% *cis*-9, *trans*-11 CLA obecnego w tłuszczu mleka jest syntezowane w gruczole mlekowym [Corl i in. 2003, 2002, Pereson i in. 2002, Kay i in. 2004]. W badaniach Mosley i in. [2006] używając bolusów ze znakowanym kwasem TVA, stwierdzono, że na drodze konwersji enzymatycznej znajduje się w tłuszczu mleka około 80% CLA.



Ryc. 6. Metaboliczne ścieżki biosyntezy CLA w żwaczu i udział bakterii (B) i pierwotniaków (P) w przemianach kwasu linolenowego [Or-Rashid i in. 2009]

Fig. 6. Metabolic pathways for the biosynthesis of CLA and related compounds from linoleic acid by rumen bacteria (B) and protozoa (P) [Or-Rashid et al. 2009]

Efektom zmiany środowiska żwacza jest zmiana profilu biouwodrojenia. Zmieniona ścieżka biouwodrojenia kwasu linolenowego i linolenowego zależy od dawki pokarmowej. Redukcja biouwodrojenia PUFA na „prawidłowej” ścieżce zachodzi, gdy dieta krów zawiera nadmiar paszy treściwej. Ma to także związek z obniżeniem pH treści żwacza i zmianami w populacji bakterii. Niskie pH treści żwacza prowadzi do wzrostu izomerów *trans* C18:1 w tłuszczu mleka. Stosowanie dużych ilości paszy treściwej prowadzi do wzrostu izomeru *trans*-10 C18:1, przy istotnie niższej zawartości *trans*-11 C18:1 [Enjalbert i in. 2008]. Dodatkowo w przebiegu kwasicy występuje wzrost C18:2 n-6 oraz C18:3 n-3 ($P \leq 0,05$).

2.5. Modyfikacja żywienia zawartości kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka

Czynnik żywieniowy w największym stopniu determinuje zawartość CLA w mleku krów. W trawie pastwiskowej jest 11,4–15,7% kwasu linolowego i 40,5–48,7% kwasu linolenowego [Kay i in. 2004, AbuGhazaleh 2007b], które w zwacu ulegają biouwodorowaniu poprzez kwas wakceniowy (ryc. 5). Dodatkowo kwas linolenowy hamuje w zwacu przejście TVA do C18:0 [cyt. za Nałęcz-Tarwacka i in. 2009a]. Następnie TVA po przejściu z krwi do wymienia stanowi substrat dla Δ^9 -desaturazy [Bargo i in. 2006]. Najprostszym sposobem zwiększenia ilości *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka jest stymulowanie zwiększenia produkcji kwasu wakceniowego przez bakterie żwacza.

Tłuszcz mleka krów żywionych na pastwisku charakteryzuje się korzystniejszym składem kwasów tłuszczowych i zawiera więcej składników prozdrowotnych (TVA, CLA, EPA, DHA, witamin A i E, β -karoten) w porównaniu z tłuszczem mleka krów żywionych systemem TMR lub paszami objętościowymi i treściwymi [Nałęcz-Tarwacka 2009b]. White i in. [2001] stwierdzili prawie 2-krotnie wyższą zawartość CLA w mleku krów holsztyńskich żywionych na pastwisku w porównaniu ze zwierzętami żywionymi systemem TMR, odpowiednio 0,72 i 0,41%. W nowszych badaniach AbuGhazaleh i in. [2007b] zawartość CLA w mleku krów korzystających z pastwiska również była wyższa (1,52%) niż u krów żywionych dawką TMR (0,84%). Tendencje te dobitnie obrazują badania Couvreur i in. [2006], w których zastąpienie kiszonki z kukurydzy świeżo ciętą trawą w ilości 0, 30, 60 i 100% spowodowało wzrost CLA odpowiednio do następujących zawartości 0,48, 0,54, 1,21 i 1,65 mg/100 g kwasów tłuszczowych. Podczas żywienia pastwiskowego nawet ponad 91% ogólnej zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka może powstawać w wyniku endogennej syntezy w gruczole mlekowym, a wzbogacenie diety pastwiskowej w olej słonecznikowy zwiększa zawartość PUFA w tłuszczu mleka [Kay i in. 2004].

Czynniki żywieniowe wpływające na koncentrację CLA w tłuszczu mleka zestawiono w tabelach 4 i 5. Stosowanie w żywieniu krów tłuszczów pochodzących z nasion roślin oleistych wpływa wyraźnie na wzrost CLA w tłuszczu mleka [Kelly i in. 1998, Brzóska i in. 1999, Dhiman i in. 2000, Whitlock i in. 2003]. W literaturze światowej omawiany jest wpływ stosowania całych nasion roślin oleistych, śrutowanych nasion, makuchów, śrut ekstrudowanych, olejów roślinnych czy też soli wapniowych kwasów tłuszczowych na profil kwasów tłuszczowych mleka. Tłuszcze te są nie tylko źródłem energii dla przeżuwacza, ale stanowią dodatkową podaż kwasu linolowego i linolenowego. Oceniając wpływ olejów: z orzeszków ziemnych, słonecznikowego i lnianego, stwierdzono, że największy wzrost ($P \leq 0,001$) ilości CLA w mleku nastąpił po podaniu oleju słonecznikowego i wyniósł aż 500% [Kelly i in. 1998]. W wyniku tej suplementacji w mleku odnotowano 2,44% CLA. Olej słonecznikowy może zawierać ok. 70% kwasu linolenowego. Dhiman i in. [2000] stosując w dawkach pokarmowych krów 2% oleju sojowego, stwierdzili wzrost koncentracji CLA w mleku o 237%. Stosowanie całych ziaren lnu zwiększyło zawartości CLA jedynie z 0,56% do 0,93% [Reklewska, Bernatowicz 2003]. Podobne wyniki uzyskali Nałęcz-Tarwacka i in. [2009a]. Wyższy wzrost zawartości CLA w tłuszczu mleka stwierdzono, dodając do dawki pokarmowej 10% śruty z nasion lnu (odmiany Omega, Linola,

Opal) lub nasion rzepaku (odmiany Spencer, Kontakt) [Zymon i in. 2007]. Mleko krów żywionych nasionami roślin oleistych charakteryzowało się mniejszą zawartością SFA i największym obniżeniem w mleku proporcji kwasów n-6/n-3.

Oleje bogate w C18:2 podlegają biouwodorowaniu, natomiast kwasy tłuszczowe o bardzo długim łańcuchu, które zawierają olej rybny, hamują biouwodorowanie do końcowego produktu, jakim jest C18:0 [Loor 2004]. Badania *in vitro* wykazują, że wysoka zawartość EPA, DHA w diecie krów ma hamujący wpływ na biouwodorowanie kwasów tłuszczowych i prowadzi do wzrostu ilości produktów pośrednich, w tym *trans*-11 C18:1 [Abu-Ghazaleh, Jenkins 2004, Boeckeaert i in. 2007]. Wzrastające dawki oleju rybnego w diecie krów powodują w mleku liniowy wzrost zawartości kwasów C:4 do 16:1 i obniżenie zawartości C18:0, *cis*-9 C18:1 i C18:2 [Palmquist, Griinari 2006]. W badaniach tych umiarkowany poziom oleju rybnego (10 g/kg suchej masy) podawany łącznie z olejem słonecznikowym spowodował najwyższy wzrost *trans*-11 18:1 i *cis*-9, *trans*-11 18:2 w tłuszczu mleka. Olej rybny zwiększył zawartość kwasu masłowego w treści żwacza, co może wiązać się ze wzrostem ilości bakterii *Butyrivibrio* spp.

Olej rybny jest bogaty w wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3. W oleju śledziowo-szprotowym zawartość EPA i DHA kształtuje się na poziomie, odpowiednio 8,19 i 13,83% [Kupczyński i in. 2011]. Podobną ilość tych kwasów (10,72 i 13,15%) stwierdzono w oleju z manhadena [AbuGhazaleh, Holmes 2007], który był przedmiotem licznych badań [AbuGhazaleh i in. 2002, 2003, Osborne i in. 2008]. Olej z tuńczyka zawiera znacznie mniej EPA (3,24 %), przy zbliżonej zawartości DHA (11,6 %) [Kitessa i in. 2004].

Badania *in vitro* wykazały, że zastosowanie oleju rybnego u krów prowadzi do wzrostu zawartości izomeru *trans*-11 C18:1 w treści żwacza [AbuGhazaleh, Jenkins 2004]. W efekcie następuje wyższa endogenna synteza *cis*-9, *trans*-11 CLA w gruczole mlekowym [Shingfield i in. 2003]. Donovan i in. [2000] stwierdzili, że dodatek 2% oleju rybnego był najefektywniejszy, gdyż wzrost *cis*-9, *trans*-11 CLA i kwasu wakcenenowego wyniósł – odpowiednio 360 i 430%. Wyższa dawka oleju rybnego powodowała wyraźne obniżenie pobrania paszy, wydajności i zawartości tłuszczu w mleku, nie mając spektakularnego wpływu na zawartość CLA. Stosowanie oleju rybnego w ilości 200 i 400 ml około 3-krotnie zwiększyło zawartość CLA w mleku [Chouinard i in. 2001]. Suplementacja dawek TMR olejem rybnym spowodowała większy wzrost zawartości w tłuszczu mleka *cis*-9, *trans*-12 CLA niż podanie oleju z wodą pitną [Osborne i in. 2008].

Stosując różne dawki soli wapniowych oleju rybnego, zawartość CLA w mleku wyniosła 0,7 i 1,04 mg/100 g kwasów tłuszczowych, natomiast znacznie więcej przy infuzji dożwaczowej (6,05 mg/100 g kwasów tłuszczowych) oraz jedynie 0,49 mg/100 g kwasów tłuszczowych po infuzji do trawieńca [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Odmienne rezultaty uzyskano odnośnie kształtowania się zawartości kwasów n-3. Zastosowany niechroniony olej śledziowo-szprotowy (2% suchej masy w dawce) powodował wzrost zawartości TVA – z 1,19 do 5,12 g/100 g kwasów tłuszczowych. W efekcie odnotowano wyraźny wzrost ($P \leq 0,01$) zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA do 2,87 g/100 g kwasów tłuszczowych [Kupczyński i in. 2011]. Olej rybny spowodował również wzrost ($P \leq 0,01$) zawartości w tłuszczu mleka kwasów długołańcuchowych, przy jednoczesnym obniżeniu ($P \leq 0,05$) zawartości kwasów krótkołańcuchowych (C4:0–C12:0).

Tabela 4.

Table 4.

Wpływ czynników żywieniowych na zawartość CLA w tłuszczu mleka [wg Jensen 2002]
 Influence of dietary factors that affect concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat [Adapted Jensen 2002]

Czynnik żywieniowy Dietary factor	Zawartość CLA w tłuszczu mleka Content of CLA in milk fat
1. Tłuszcze Fats Nienasycone a nasycone Unsaturated vs. saturated fat Rodzaj oleju roślinnego Type of plant oil Ilość oleju roślinnego Level of plant oil Sole Ca olejów roślinnych Ca salts of plant oils Nasiona poddane obróbce Processed seeds Olej rybny Fish oil Algi morskie Marine algae	Wzrost po zastosowaniu tłuszczu nienasyconych Increase after an addition of unsaturated fat Wzrost, gdy oleje roślinne zawierają dużo nienasyconych kwasów tłuszczowych Increase with oils high in unsaturated fatty acids Wzrost ilości oleju powoduje wzrost CLA Dose-dependent increase Wzrost Increase Wzrost Increase Wzrost Increase Wzrost Increase
2. System żywienia Feeding system Pastwisko a TMR Pasture vs TMR Stadium wzrostu roślin Growth stage of forage Koncentracja paszy w dawce Forage concentration ratio Stosunek paszy objętościowej do treściwej Ratio of forage to concentrate Poziom węglowodanów niestrukturalnych Nonstructural carbohydrate level	Pastwisko – wzrost Pasture – increase Wzrost w przypadku młodych roślin Increase with less mature forage Zmienny wpływ Variable effect Wzrost CLA przy przewadze paszy objętościowej CLA increase with forage dominance Niewielki wpływ Minor effect
3. Środowisko żwacza Rumen environment Kwasica – Acidosis DCAD Bufory – Buffers Zawartość Cu Cu concentration	Spadek – decrease Minimalny wpływ – Minimal effect Mały wpływ wraz ze stosowaniem włókna – Little effect with sufficient fiber Wzrost przy niskiej zawartości Cu Low concentration Cu increased
4. Dodatek CLA CLA supplement	Wzrost zależny od dawki i zastosowanych izomerów Increase dependent on a dose and isomers used

Tabela 5.
Table 5.

Wpływ dawki pokarmowej na zawartość *cis-9, trans-11* CLA (g/100 g kwasów tłuszczowych)
w mleku krów

Influence of nutritional dose on *cis-9, trans-11* CLA (g/100 g of fatty acids) content in milk cows

Rasa Breed	Żywienie Diet	Zawartość CLA Content CLA	Autorzy Autors
HF	Pastwisko (<i>ad libitum</i>) Pasture (<i>ad libitum</i>)	1,21	Kay i in. 2004 Kay et al. 2004
JE	TMR	0,32	White i in. 2001
HF	TMR	0,41	White et al. 2001
HF	TMR	0,60	Donovan i in. 2000 Donovan et al. 2000
	TMR + 1% FO	1,58	
	TMR + 2% FO	2,23	
	TMR + 3% FO	1,90	
BHF	TMR	0,50	Shingfield i in. 2006 Shingfield et al. 2006
	TMR + 45 g/kg SM FO + SFO	3,47	
HF	TMR + CaFO-1	0,70	Castañeda-Gutiérrez i in. 2007 Castañeda-Gutiérrez et al. 2007
	TMR+ CaFO-1	1,04	
HF	TMR/ z wodą 214 g/d FO	0,88	Osborne i in. 2008 Osborne et al. 2008
	TMR+ 213 g/d FO	1,33	
HF	Pastwisko + 350 g SO + 150 g FO Pasture + 350 g SO + 150 g FO	3,41	AbuGhazaleh i in. 2009 AbuGhazaleh et al. 2009
	Pastwisko + 350 g SO + 100 g FO + + 50 g MA Pasture + 350 g SO + 100 g FO + + 50 g MA	3,69	
	Pastwisko +350 g SO + 150 g MA Pasture + 350 g SO + 150 g MA	4,21	
PHF	TMR	0,59	Kupczyński i in. 2011 Kupczyński et al. 2011
	TMR + 300 g/d IFO	1,97	

HF – holsztyńsko-fryzyjska – Holstein-Friesian; PHF – polska holsztyńsko-fryzyjska – Polish Holstein-Friesian; BHF – brytyjska holsztyńsko-fryzyjska – British Holstein-Friesian; JE – jersey; SIM – simentalska – Simentaler; WW – wysoka wydajność – high milk yield; NW – niska wydajność – low milk yield; TMR – dawka pełnoporcjowa – total mixed ration; FO – olej rybny – fish oil; SO – olej sojowy – soybean oil; SFO – olej słonecznikowy – sunflower oil; CaFO-1 – sole Ca oleju rybnego i olej palmowy, niższa dawka – Ca salts of fish oil and palm fatty acid low dose; CaFO-1 – sole Ca oleju rybnego i olej palmowy, wyższa dawka – Ca salts of fish oil and palm fatty acid high dose; MC – mikroalgi – micro-algae; SM – sucha masa – dry matter

Korzystnym zabiegiem okazało się również łączne stosowanie oleju rybnego z olejami roślinnymi, zawierającymi duże ilości kwasu linolowego i linolenowego [AbuGhazaleh i in. 2002, 2003, 2004, Whitlock i in. 2003]. Podanie krowom oleju rybnego wraz z olejem sło-

necznikowym już w 5. dniu spowodowało wzrost koncentracji w mleku *cis-9, trans-11* CLA do 5,37 g/100 g kwasów tłuszczowych, natomiast po 15. dniach podawania tych dodatków zawartość *cis-9, trans-11* CLA obniżyła się do 2,35 g/100 g kwasów tłuszczowych [Shingfield i in. 2006]. Podobne wyniki uzyskano, gdy krowom żywionym na pastwisku podawano paszę treściwą zawierającą 100 g oleju rybnego i 300 g oleju słonecznikowego [AbuGazaleh i Holmes 2007]. Natomiast długoterminowe podawanie oleju rybnego i ekstrudowanej śrutu sojowej powodowało maksymalnie 2,5-krotny wzrost tego izomeru w mleku oraz wzrostu wydajności o 4,4 kg dziennie [AbuGazaleh i in. 2004]. Stosunkowo wysoki wzrost zawartości *cis-9, trans-11* CLA w mleku utrzymywał się przez pierwsze 5 tygodni (w 3. tygodniu doświadczenia wzrost o 350%), w kolejnych tygodniach zawartość izomeru w mleku nieznacznie się obniżyła [AbuGazaleh i in. 2004]. Łączne podawanie krowom alg morskich i oleju rybnego prowadzi również do zwiększenia zawartości CLA w tłuszczu mleka [AbuGhazaleh i in. 2009].

Możliwości zwiększenia zawartości w mleku kwasów z rodziny n-3 są ograniczone, ponieważ transfer EPA i DHA z dawki pokarmowej do mleka i innych tkanek jest niski [AbuGhazaleh i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007]. Ochrona przed biouwodorowaniem w zwaczu tylko w niewielkim stopniu wpływa na wzrost tych kwasów w tłuszczu mleka [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Współczynnik transferu EPA i DHA do tłuszczu mleka wyniósł, odpowiednio 2–4,38% i 4–6% [Chilliard i in. 2001, Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Loo i in. [2005 246] stwierdzili, że przy dużych dawkach oleju rybnego wartość współczynnika transferu DHA do mleka może osiągnąć aż 13%. Są to jednak nieliczne badania ukazujące tak duże możliwości transferu tych kwasów do tłuszczu mleka.

2.6. Wpływ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na rozród bydła

Tłuszcze są powszechnie stosowanym komponentem dawek pokarmowych wysoko wydajnych krów mlecznych, co wynika z trudności pokrycia ich potrzeb energetycznych w pierwszym okresie laktacji. Wzrost pobrania suchej masy na początku laktacji jest stopniowy, natomiast gwałtowny wzrost produkcji mleka po wycieleniu powoduje występowanie negatywnego bilansu energii (NEB). Niedobór energii prowadzi do wzrostu lipolizy tłuszczu zapasowego i uwalniania wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) do krwi. Ponadnormatywne stężenie WKT we krwi powoduje kumulację triglicerydów (TG) w wątrobie oraz znaczną produkcję związków ketonowych. Wysokie zapotrzebowanie na energię prowadzi do znacznego zużycia glukozy, potrzebnej głównie do syntezy laktozy mleka [Overton, Waldron 2004, Grummer i in. 2008]. Nie bez znaczenia są także prawidłowa struktura dawki pokarmowej, jej smakowitość oraz jakość pasz objętościowych [Mikołajczak i in. 2005].

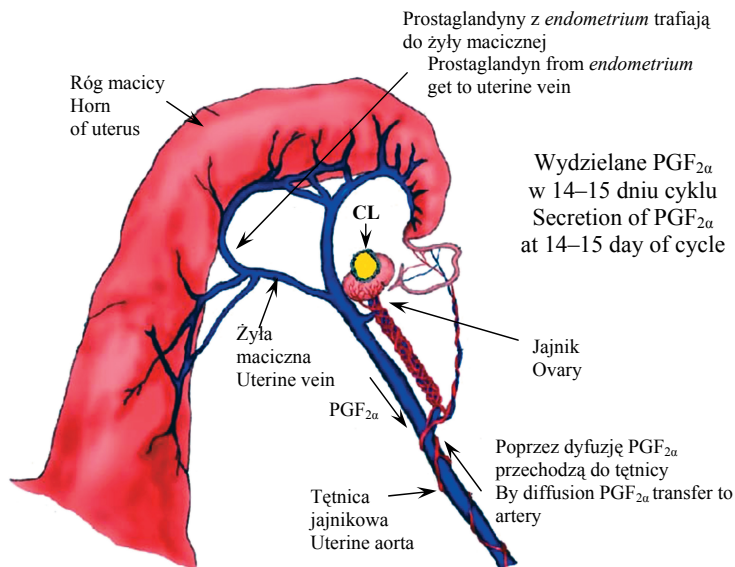
Ujemny bilans energii u krów na początku laktacji opóźnia rozpoczęcie normalnej aktywności jajników. Deficyt energii zaburza również gospodarkę hormonalną, głównie obniżając sekrecję LH, przyczyniając się do nieprawidłowego rozwoju pęcherzyków Graffa [Hess i in. 2005]. Zmniejszeniu ulega także liczba cykli rujowych, a objawy rui są słabo manifestowane, spada jakość oocytów, zwiększa się śmiertelność zarodków, co powoduje obniżenie skuteczności inseminacji [Butler 2003].

Wpływ tłuszczu na przemiany żwaczowe, metaboliczne i funkcje reprodukcyjne zależy od jego ilości w dawce pokarmowej, rodzaju, formy fizycznej i profilu kwasów tłuszczowych [Castañeda-Gutiérrez i in. 2009]. Tłuszcz niechronione obniżając aktywność bakterii celulołitycznych w treści żwacza, zmniejszając strawność węglowodanów. Kwasy tłuszczowe mogą hamować wzrost i metabolizm komórkowy mikroorganizmów żwacza, zmniejszając syntezę ich białka. Ujemny wpływ tłuszczu na fermentację żwaczową można ograniczyć poprzez jego „ochronę”. Popularną metodą jest wytwarzanie soli wapniowych kwasów tłuszczowych. Palmquist i Griinari [2006] uważają, że technologia produkcji soli wapniowych tłuszczu ma na celu ochronę mikroorganizmów w żwaczu, a nie „bezwzględna” ochronę nienasyconych kwasów tłuszczowych przed biouwodorowaniem.

Zaburzenia rozrodu stanowią poważny problem we wszystkich krajach z wysoko rozwiniętą hodowlą krów mlecznych. Jednym z aspektów niepowodzeń reprodukcyjnych jest wczesna śmiertelność zarodków, jeszcze w okresie przedimplantacyjnym. Śmiertelność embrionów może wynosić 30% w pierwszym miesiącu po inseminacji [Dunne i in. 2000]. Tłuszcz paszowy może mieć wpływ na osiągnięcia reprodukcyjne dwoma sposobami: 1. kwasy tłuszczowe są prekursorami syntezy hormonów steroidowych (z cholesterolu), 2. kwasy tłuszczowe są prekursorami syntezy prostaglandyn (z kwasu arachidonowego) [Zachut i in. 2010]. Pozytywny wpływ dodatku tłuszczu do dawki pokarmowej może wynikać również ze wzrostu sekrecji hormonu wzrostu i insuliny [Heravi Moussavi i in. 2007a], stymulującej wzrost pęcherzyków jajnikowych.

Utrzymanie wysokiego poziomu progesteronu we krwi (czynnego ciała żółtego) jest warunkiem zachowania ciąży w okresie przedimplantacyjnym. W wielu badaniach zwrócono uwagę na znaczenie prostaglandyn serii 2, szczególnie $\text{PGF}_{2\alpha}$. Komórki trofoblastu wydzielają interferon tau ($\text{IFN-}\tau$), pomiędzy 14.–18. (15.–24.) dniem od zapłodnienia w celu zmniejszenia uwalniania przez *endometrium* $\text{PGF}_{2\alpha}$ [Fałkowska-Podstawka i in. 2002, Heravi Moussavi i in 2007]. Jeśli zapłodniona komórka jajowa nie może skontrolować syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$, dochodzi do luteolizy i przerwania ciąży (ryc. 7). Właściwości antyluteolityczne $\text{IFN-}\tau$ polegają na hamowaniu ekspresji receptorów oksytcynowych i zmianie ekspresji genów odpowiedzialnych za wydzielanie prostaglandyn oraz powodują wzrost ekspresji cyklooksygenazy (COX2) [Parent i in. 2003]. Efektem tego oddziaływania jest zmiana profilu sekrecji przez *endometrium* prostaglandyn z $\text{PGF}_{2\alpha}$ na korzyść PGE_2 będącej inhibitorem luteoliny. Jeśli zapłodniona komórka jajowa nie może skontrolować syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$, dochodzi do luteoliny ciała żółtego i przerwania ciąży. Pod wpływem $\text{IFN-}\tau$ na początku ciąży dochodzi do obniżenia stężenia kwasu arachidonowego w *endometrium*. Zmiana metabolizmu lipidowego wpływa na syntezę prostaglandyn (ryc. 7).

Podczas wczesnej ciąży zwiększenie podaży w dawkach pokarmowych krów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (EPA i DHA) może prowadzić do obniżenia syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ w *endometrium* [Mattos i in. 2000, Burns i in. 2003, Childs i in. 2008]. Kwasy te mogą mieć również bezpośredni wpływ na kluczowe geny i ich białka, które regulują biochemiczne procesy oraz na szlaki regulujące zależności ciała żółte – macica – zarodek [Childs i in. 2008]. Podczas biosyntezy PG kwas linolowy (C18:2n-6) przekształcany jest do kwasu arachidonowego (C20:4 n-6), prekursora PG typu 2. Podobnie w procesach enzymatycznych elongacji i desaturacji kwasy n-3 (kwas α -linolenowy LNA) prze-



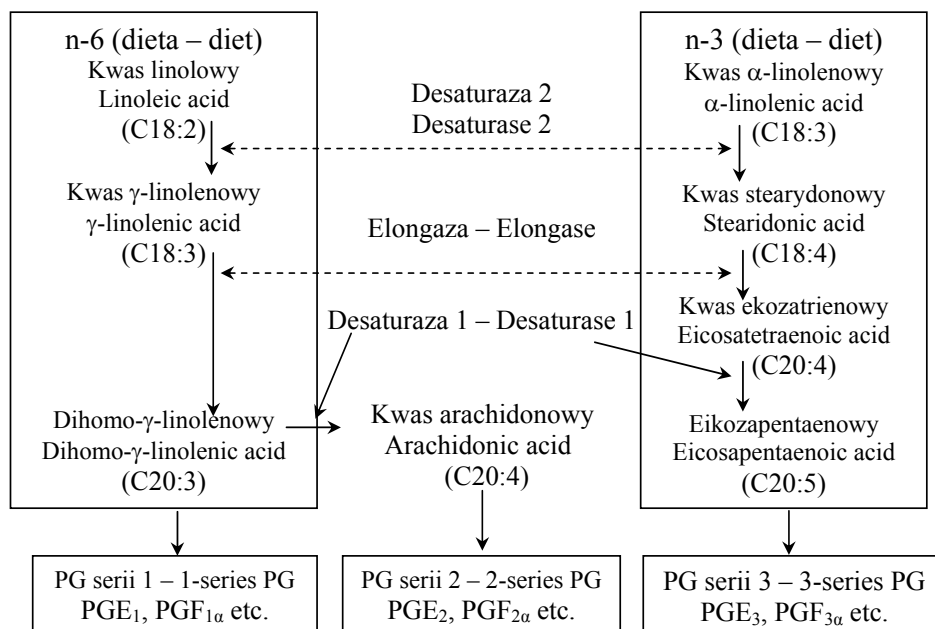
Ryc. 7. Udział prostaglandyn $\text{PGF}_{2\alpha}$ w luteolizie ciała żółtego (CL) [Senger 2003]
Fig. 7. Participation of prostaglandin $\text{PGF}_{2\alpha}$ in luteolysis of corpus luteum (CL)

kształcane są w EPA (C20:5n-3), prekursora PG serii – 3 (ryc. 8). W pierwszym tygodniu po porodzie wyższa podaż w diecie kwasu linolowego n-6 (olej słonecznikowy) skutkuje wyższym poziomem metabolitów PGF_2 w surowicy krwi [Scholljegerdes i in. 2007].

Badania *in vitro* wskazują, że kwasy n-3 (EPA i DHA) zmieniają biosyntezę prostaglandyn w komórkach i tkankach i hamują sekrecję $\text{PGF}_{2\alpha}$ w hodowlach komórek *endometrium* (BEND) [Mattos i in. 2003]. Mieszanina izomerów *cis*-9, *trans*-11 CLA i *trans*-10, *cis*-12 CLA użyta w badaniach *in vitro* hamowała również syntezę $\text{PGF}_{2\alpha}$ w hodowlach komórek BEND [Rodriguez-Sallaberry i in. 2006]. W kulturach tkanek hamowanie biosyntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ przez n-3 może zależeć też od stosunku n-6:n-3, a przy wyższym udziale kwasów n-3 wpływ ten był pozytywny [Caldari-Torres i in. 2006]. Stosując mączkę rybną lub olej rybny w żywieniu krów stwierdzono wzrost DHA i EPA w lipidach *endometrium* [Mattos i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007]. Wykazano jednak, że suplementacja mączki rybnej (od 1 do 5% SM dawki) i chronionego oleju rybnego nie powoduje w istotny sposób zmniejszenia sekrecji $\text{PGF}_{2\alpha}$ w *endometrium* [Heravi Moussavi i in. 2007]. Podobne wyniki uzyskali Childs i in. [2008]. Oleje roślinne bogate w kwasy n-6 (olej słonecznikowy) powodują większy wyrzut prostaglandyn serii 2, a stosowanie różnych olejów roślinnych podobnie wpływało na dynamikę wzrostu pęcherzyków jajnikowych [Petit i in. 2004]. Mechanizmy oddziaływania stosunku kwasów n-6:n-3 na funkcję jajników nie są jednak do końca poznane [Zachut i in. 2010].

Stosowanie oleju lnianego w postaci gniecionych nasion, zawierających duże ilości C18:3 n-3 (56,7%), korzystnie wpłynęło na skuteczność pierwszej inseminacji [Ambrose i in. 2006]. Tłuszcze bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe (C18:1 *trans*) wpływają

na większą skuteczność zapłodnienia i rozwój embrionów (większa liczba blastomerów) w porównaniu z krowami otrzymującymi olej palmowy [Cerri i in. 2009].



Ryc. 8. Schemat syntezy prostaglandyn serii 1-, 2- i 3 (PG) w zależności od wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie [Wathes i in. 2007]

Fig. 8. Scheme to illustrate the generation of 1-, 2-, and 3-series prostaglandins (PG) from dietary polyunsaturated fatty acids [Wathes et al. 2007]

3. Hipotezy badawcze i cel badań

Tłuszcze, w tym tłuszcze chronione, są powszechnie stosowanym komponentem dawek pokarmowych wysoko wydajnych krów mlecznych. Wynika to z trudności pokrycia ich potrzeb energetycznych w pierwszym okresie laktacji. W praktyce są to tłuszcze roślinne na bazie oleju palmowego, które nie mają istotnego wpływu na zawartość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka. Wprowadzenie do diety krów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) może mieć pozytywny wpływ na zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w mleku, co w konsekwencji spowoduje wzrost wartości prozdrowotnej mleka. Na podstawie przedstawionego w poprzednim rozdziale przeglądu piśmiennictwa można sformułować następujące hipotezy badawcze:

1. W pracy starano się ocenić wpływ olejów rybnych na profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka oraz na aktywność desaturazy poprzez wyliczanie jej indeksów. Sądzi się, że zwiększenie ilości kwasu *trans*-11 C18:1 prowadzi do wzrostu endogennej syntezy w gruczole mlekowym izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA. W badaniach własnych dokonano oceny tych zależności po wprowadzeniu do dawek pokarmowych TMR różnych rodzajów i form olejów, zarówno niechronionych, jak i chronionych.
2. Zmniejszenie biouwodorowania PUFA ma na celu zwiększenie podaży pozażwaczowej kwasów z rodziny n-3. Ochrona PUFA może zwiększyć transfer EPA i DHA do mleka, co w badaniach własnych starano się określić poprzez zastosowanie w żywieniu krów chronionego oleju z łososia lub mikrokapsułek zawierających olej z wątroby dorsza. Nieliczne badania przeprowadzono z użyciem mikrokapsułek z olejem rybnym.
3. Wprowadzenie kwasów tłuszczowych do dawek TMR u krów w początkowym okresie laktacji może przyczynić się do zmniejszenia ujemnego bilansu energii, wpływając na procesy rozrodcze. W pracy starano się zweryfikować hipotezy na ten temat poprzez ocenę wpływu różnych olejów rybnych na gospodarkę węglowodanowo-lipidową, bilans energii oraz wskaźniki płodności.
4. Badań dotyczących wpływu zawartych w diecie PUFA na luteolizę ciała żółtego jest niewiele, a uzyskane wyniki nie są jednoznaczne [Mattos i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007, Childs i in. 2008]. W badaniach własnych podjęto zagadnienie oceny wpływu zwiększonej podaży PUFA w postaci chronionej na sekrecję prostaglandyn $F_{2\alpha}$ podczas indukowanej luteolizy ciała żółtego.

Celem badań była ocena wpływu stosowania w dawkach pokarmowych krów mlecznych w pierwszym okresie laktacji różnych olejów rybnych (śledziowo-szprotowego, z łososia i wątroby dorsza) na:

- pobranie paszy, wydajność i skład chemiczny mleka,
- profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, w tym zawartość izomeru *cis-9, trans-11* CLA i kwasów z rodziny n-3 (EPA, DHA) oraz indeks desaturazy,
- wybrane parametry biochemiczne krwi,
- wskaźniki reprodukcyjne oraz sekrecję prostanglandyn $F_{2\alpha}$ (13,14-dihydro 15-keto $PGF_{2\alpha}$) po zastosowaniu oleju chronionego.

4. Materiał i metody

4.1. Przebieg doświadczeń

Badaniami objęto 64 krowy mleczne rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Przeprowadzono 3 doświadczenia, na których wykonanie uzyskano pozytywną decyzję II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu (uchwała nr 4/2003, 74/2007, 22/2009). Badania przeprowadzono na krowach wysoko wydajnych, średnia roczna wydajność stada 9000–10 500 kg mleka podczas 305-dniowej laktacji. Do poszczególnych doświadczeń zwierzęta przydzielono metodą analogów, uwzględniając kolejność laktacji (50% stanowiły pierwiastki, zaś 50% wieloródki będące w 2. i 3. laktacji) oraz wydajność. Krowy utrzymywano na uwięzi w warunkach produkcyjnych i izolowano przestrzennie. Wszystkie zwierzęta były klinicznie zdrowe. Schemat doświadczeń zestawiono w tabeli 6. W eksperymentach tych zastosowano następujące oleje rybne:

- niechroniony olej śledziowo-szprotowy (doświadczenie I),
- chroniony olej z łososia (doświadczenie II),
- niechroniony i chroniony olej z wątroby dorsza (doświadczenie III).

We wszystkich doświadczeniach krowy żywiono systemem TMR (Total Mixed Ration), który podawano zwierzętom dwa razy dziennie. Oleje rybne dodawano do dawki TMR w ilości 1% suchej masy (SM) dawki pokarmowej raz dziennie. Stosowano je od 1. tygodnia po porodzie przez 8 tygodni (doświadczenie I i II), natomiast w doświadczeniu III okres stosowania olejów rybnych przedłużono do 12. tygodnia laktacji, ze względu na ocenę sekrecji prostaglandyn $\text{PGF}_{2\alpha}$ u krów otrzymujących chroniony olej rybny. Niechronione oleje rybne były w formie płynnej o barwie jasnożółtej i charakterystycznym zapachu (doświadczenie I i III). W doświadczeniu III olej niechroniony stosowany był z dodatkiem aromatu o zapachu melasy – Lucta Polska (w 1 litrze oleju znajdowało się 12,5 ml aromatu). Oleje chronione nie były mydłami wapniowymi. W doświadczeniu II technologia ochrony zastrzeżona jest przez producenta (Fatrofer-til, Fatro Polska). W doświadczeniu III olej chroniony stanowiły mikrokapsułki żelatynowe (po 50 μl oleju każda).

Tabela 6
Table 6

Układ doświadczeń
Arrangement of experiments

Wyszczególnienie Item	Rodzaj oleju Kind of oil	Grupy Groups	Liczba krów Number of cows
Doświadczenie I Experiment I	Olej śledziowo- -szprotowy Herring-sprat oil	Kontrolna (K) Control (K)	10
		1% SM dawki oleju niechronionego (ORN) 1% of DM unprotected herring-sprat oil	10
Doświadczenie II Experiment II	Chroniony olej z łososia Protected salmon oil	Kontrolna (K) Control (K)	10
		1% SM dawki oleju chronionego (ORCH) 1% of DM protected salmon oil	10
Doświadczenie III Experiment III	Olej z wątroby dorsza Cod liver oil	Kontrolna (K) Control (K)	8
		1% SM dawki oleju niechronionego (ORN) 1% of DM unprotected cod liver oil (ORN)	8
		1% SM dawki oleju chronionego (ORCH) 1% of DM protected cod liver oil (ORCH)	8

4.2. Skład dawek pokarmowych, analizy pasz

Dawki pokarmowe TMR dla krów w poszczególnych eksperymentach poddano analizie chemicznej, z uwzględnieniem reprezentatywności pobieranych prób. Określono zawartość: suchej masy, białka ogólnego, popiołu surowego, tłuszczu surowego, włókna surowego i frakcji włókna (ADF i NDF) zgodnie z obowiązującymi normami AOAC [2005]. W poszczególnych doświadczeniach kiszonki z kukurydzy przygotowywane były w zbiornikach przejazdowych, natomiast zakiszanie innych pasz odbywało się w rękawach foliowych. Wartość pokarmową dawek TMR dla krów opracowano wg norm żywienia przeżuwaczy INRA 2007 [Strzetelski 2009]. Wyniki tych analiz zestawiono w tabeli 7 i 8. Podany skład chemiczny i wartość pokarmowa dawek TMR w poszczególnych doświadczeniach nie uwzględniają dodatku olejów rybnych.

Tabela 7
Table 7

Skład i wartość pokarmowa dawek krów stosowanych w doświadczeniach
Content and nutritional composition of diets of the cows used in the experiments

Skład dawki (% SM) Composition of dose (% DM)	Doświadczenie I Experiment I	Doświadczenie II Experiment II	Doświadczenie III Experiment III
Kiszonka z kukurydzy – Maize silage	43,14	34,15	34,75
Wysłodki buraczane kiszone Pressed pulp silage	7,6	5,56	10,03
Kiszonka z lucerny – Lucerne silage	–	8,2	–
Sianokiszonka + lucerna Haylage silage + lucerne	–	–	11,2
Kiszone ziarno kukurydzy Corn grain silage	8,54	–	17,48
Kiszonka z traw – Grass silage	–	7,4	2,1
Śruta zbożowa – Ground grains	11,26	–	12,34
Kiszonka CCM – Silage CCM	–	15,78	–
Młóto kiszone – Brever grain silage	–	6,77	–
Śruta sojowa – Soybean meal	10,24	8,88	3,65
Śruta rzepakowa – Rapeseed meal	9,6	8,49	5,54
Słoma pszenna – Wheat straw	7,6	2,3	1,8
Dodatek mineralno-witaminowy Vitamins-mineral addition	0,62	0,98	0,59
Dwuwęglan sodu – Sodium bicarbonate	0,78	0,97	0,52
CaCO ₃	0,62	0,52	–
Wartość pokarmowa – Nutritive value			
JPM	20,25	20,18	20,87
BTJN (g)	2195	2311	2931
BTJE (g)	2150	2165	2139
JWK	18,14	18,56	18,31
P (g)	56	48	58
Ca (g)	168	169	181

JPM – Jednostka paszowa produkcji mleka – Feed unit for lactation

JWK – Jednostka wypełnieniowa paszy objętościowej dla krów mlecznych – Fill unit for lactation

BTJE – Suma białka właściwego paszy i białka właściwego mikroorganizmów żwacza obliczone na podstawie dostępnej w żwaczu energii (E) paszy, rzeczywiście trawione w jelicie cienkim – Protein digested in the small intestine supplied by rumen-undegraded dietary protein plus protein digested in the small intestine supplied by microbial protein from rumen-fermented organic matter

Suma białka właściwego paszy i białka właściwego mikroorganizmów żwacza obliczone na podstawie dostępnego w BTJN – żwaczu azotu (N) paszy, rzeczywiście trawione w jelicie cienkim – Protein digested in the small intestine supplied by rumen-undegraded dietary protein plus protein digested in the small intestine supplied by microbial protein from rumen-degraded protein

Tabela 8
Table 8

Skład chemiczny dawek TMR
Chemical content of TMR diets

Wyszczególnienie Item	TMR		
	Doświadczenie I Experiment I	Doświadczenie II Experiment II	Doświadczenie III Experiment III
Sucha masa (%) Dry matter	41,52	48,86	45,71
Popiół surowy (% SM) Crude ash (% DM)	5,72	7,64	5,99
Białko ogólne (% SM) Crude protein (% DM)	15,20	16,45	15,04
Tłuszcz (% SM) Crude fat (% DM)	3,35	4,18	3,47
Włókno surowe (% SM) Crude fiber (% DM)	16,28	21,89	18,13
BAW (% SM)	59,45	49,84	57,37
NDF (% SM)	35,80	41,75	38,37
ADF (% SM)	18,56	22,38	20,38

BAW – bezazotowe związki wyciągowe – Nitrogen-free extract, NDF – Włókno rozpuszczalne w detergentach neutralnych – Neutral detergent fiber, ADF – Włókno rozpuszczalne w detergentach kwaśnych – Acid detergent fiber

4.3. Procedury doświadczalne, pobieranie prób i analizy

Dobową wydajność mleka w doświadczeniu I i II określono na początku badań, po 4 i 8 tygodniach. W doświadczeniu III dobową wydajność u poszczególnych krów oceniano w równych odstępach czasowych, raz w tygodniu (8 razy w okresie badań). Ocenę kondycji krów metodą BCS (1–5 pkt) wykonano w tych samych terminach co badania mleka. Określono również masę ciała zwierząt. W doświadczeniu I i II wyliczono indywidualne pobranie paszy przez krowy, korzystając ze wzoru zamieszczonego w normach NRC 2001, a podanego przez Beam i Butler [1998]:

$$DMI \text{ (kg/dzień)} = (0,372 \times FCM + 0,0968 \times BW^{0,75}) \times (1 - e^{(-0,192 \times (WL+3,67))});$$

gdzie: DMI – pobranie suchej masy (kg), FCM – wydajność mleka skorelowana na 4% zawartość tłuszczu ($FCM = 0,4 \times \text{kg mleka} + 15 \times \text{wydajność tłuszczu}$), BW – masa ciała, WL – tydzień laktacji.

W doświadczeniu III pobranie suchej masy paszy określano poprzez ważenie dawki pokarmowej przed karmieniem i niedojadów po karmieniu, oznaczając suchą masę. Dodatkowo w doświadczeniu III na początku eksperymentu oraz po 4. i 8. tyg. oszacowano u poszczególnych krów bilans energii (EB) zgodnie ze wzorami podanymi przez Moallem i in. [2007]:

$$NEc = NEL \text{ w kg} \times DM \times DMI;$$

$$NEL = \text{mleko (kg)} \times [0,0929 \times (\text{tłuszcz \%}) + 0,0547 \times (\text{białko \%}) + 0,0395 \times (\text{laktoza \%})];$$

$$\text{NER} = \text{BW}^{0,75}(0,08) \times 1,1 + \text{NEL};$$

$$\text{EB} = \text{NE}_c - \text{NER};$$

gdzie: EB – bilans energii, NE_c – energia netto pobrana, NEL – energia netto laktacji 1 kg SM dawki pokarmowej, DM – sucha masa (kg), DMI – pobranie suchej masy (kg), NER – zapotrzebowanie na energię netto, BW – masa ciała (kg).

We wszystkich doświadczeniach pobrania mleka do analiz składu i zawartości kwasów tłuszczowych oraz krwi do badań biochemicznych wykonano w identycznych terminach, tj. na początku badań (przed zastosowaniem olejów rybnych), po 4. i 8. tyg. podawania krowom olejów rybnych. Próby mleka nie podlegały konserwacji i do laboratorium przewołane były do 2. godz. od pobrania.

W reprezentatywnych próbach mleka oznaczono skład chemiczny (tłuszcz, białko, laktozę, suchą masę) analizatorem Bentley 150 (Bentley Instruments, USA) oraz liczbę komórek somatycznych przy użyciu analizatora Somacount 150 (Bentley Instruments, USA).

W celu oznaczenia poszczególnych kwasów tłuszczowych próby mleka po odwirowaniu tłuszczu (3000 g × 15 minut, 4°C) do czasu analiz zamrożono w temperaturze -20°C. Tłuszcz po ekstrakcji metodą Soxhleta poddano hydrolizie, a uwolnione z niego kwasy tłuszczowe przeprowadzono w estry metylowe. Rozdział kwasów tłuszczowych wykonano metodą chromatografii gazowej przy użyciu chromatografu firmy Agilent Technologies 6890N wyposażonego w detektor masowy Agilent Technologies 5973 w następujących warunkach: kolumna 60 m × 250 mm × 0,25 mm, temperatura kolumny 240°C, gaz nośny hel (20 cm/s), nastrzyk 1 ml, split 100:1. Podobną metodykę wykorzystano do oznaczenia kwasów tłuszczowych w olejach rybnych. Identyfikacji kwasów tłuszczowych dokonano na podstawie analizy porównawczej otrzymanych czasów retencji i widm masowych z analogicznymi parametrami pochodzącymi od substancji wzorcowych. Użyto standardów Supelco (USA).

Dla kwasów tłuszczowych, które reprezentują produkt i substrat, wyliczono indeks desaturazy poszczególnych kwasów tłuszczowych: C14:1 do C14:0, C16:1 do C16:0, *cis*-9C18:1 do C18:0 oraz *cis*-9, *trans*-11C18:2 do *trans*-11C18:1 [AbuGhazaleh i in. 2007b]. Obliczono także indeks Δ^9 -desaturazy wg wzoru zaproponowanego przez Kay i in. [2005]:

$$\begin{aligned} \text{Indeks } \Delta^9\text{-desaturazy} = & (14:1 + 16:1 + \textit{cis}\text{-}9\ 18:1 + \textit{cis}\text{-}9, \textit{trans}\text{-}11\ \text{CLA}) / \\ & / (14:0 + 16:0 + 18:0 + \textit{trans}\text{-}11\ 18:1 + 14:1 + 16:1 + \\ & + \textit{cis}\text{-}9\ 18:1 + \textit{cis}\text{-}9, \textit{trans}\text{-}11\ \text{CLA}). \end{aligned}$$

We wszystkich doświadczeniach krew do badań biochemicznych pobierano od krów z żyły szyjnej zewnętrznej (*v. jugularis externa*), w godzinach porannych przed karmieniem. Krew pobierano do probówek bez antykoagulantu oraz z antykoagulantem ADTA K2. W celu uzyskania surowicy lub osocza próby wirowano (10 minut × 3000 g). Surowicę krwi do czasu analiz przechowywano w temperaturze -20°C. Osocze krwi w doświadczeniu III mrożono w -80°C (oznaczenia metabolitu $\text{PGF}_{2\alpha}$). Analizy parametrów biochemicznych w surowicy krwi wykonano przy użyciu analizatora Pentra 400 (Horiba ABX Diagnostics, Francja), oznaczając:

- stężenie glukozy metodą oksydazową przy użyciu odczynników firmy HORIBA ABX (Glukoza PAP, Nr kat. A11A01679);

- koncentrację kwasu β -hydroksymasłowego (BHB), wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) – metodą enzymatyczną przy użyciu odczynników firmy Randox (RANBUT, Nr kat. RB1007 i WKT Nr kat. FA 115);
- stężenie triglicerydów (TG), cholesterolu całkowitego metodą enzymatyczną, odczynniki HORIBA ABX (TG Nr kat. A11A01640, cholesterol Nr kat. A11A01634),
- poziom białka całkowitego i albumin metodą kolorymetryczną, odczynniki HORIBA ABX (Białko całkowite Nr kat. A11A01669, albuminy Nr kat. A11A01664);
- aktywność enzymów: aminotransferazy asparaginianowej (ALT) i γ -glutamylotransferazy (GGT) metodą kinetyczną wg zaleceń IFCC, przy użyciu odczynników firmy HORIBA ABX (ALT Nr kat. A11A01629, GGT Nr kat. A11A01630);
- stężenie bilirubiny całkowitej metodą kolorymetryczną, odczynniki HORIBA ABX (Nr kat. A11A01639);
- stężenie insuliny w surowicy krwi (doświadczenie I) oznaczono metodą ELISA przy użyciu zestawu BioSource INS-EASIA Kit (Nr kat. KAP1251), firmy BioSource Europe SA (Belgia). Odczytu absorpcji dokonano przy użyciu czytnika Synergy (BioTek Instruments, USA).

W doświadczeniu III 60 dni *post partum* u krów z grup kontrolnej ($n = 8$) i otrzymującej chroniony olej rybny ($n = 8$) wykonano badania kliniczne narządów rodnych (wielkość, położenie, symetria oraz konsystencja macicy, obecność i charakter wypływów z dróg rodnych lub ich brak). Ponadto każda krowa została poddana transrektalnemu badaniu ultrasonograficznemu macicy i jajników za pomocą sondy liniowej (5 MHz) przy użyciu aparatu Honda HS 2000 (Honda Electronics Co. Ltd. Japonia). Wykonano mapowanie jajników (ocena położenia i dynamiki zmian wielkości pęcherzyków jajnikowych). Jednocześnie przeprowadzono synchronizację rui wg programu Ovsynch. W iniekcji domięśniowej (60 dni *post partum*) podano analog GnRH – Depherelin Veyx (VEYX-PHARMA GMBH) w ilości 2 ml (100 mg); po 7 dniach prostanglandynę $F_{2\alpha}$ w ilości 25 mg *i.m.* (Lutalyse, Pfizer); po 48 godzinach wykonano drugą iniekcję GnRH – Depherelin Veyx, również w dawce 2 ml (dzień 0 synchronizowanego cyklu). W 15. dniu każdej krowie podano *i.v.* 100 IU oksytocyny w celu indukcji wyrzutu $PGF_{2\alpha}$ (luteoliza ciała żółtego). Zastosowana procedura posłużyła ocenie wpływu suplementacji żywieniowej kwasów EPA i DHA na redukcję sekrecji $PGF_{2\alpha}$ w *endometrium*. Była to modyfikacja metodyki zaproponowanej przez Mattos i in. [2004] oraz Heravi Moossavi i in. [2007]. Krew pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej w następujących przedziałach czasowych -30, 0 (podanie oksytocyny) oraz po 30, 60, 120, 150 minutach. W osoczu krwi oznaczono metabolit $PGF_{2\alpha}$ 13,14-dihydro 15-keto $PGF_{2\alpha}$ (PGFM) metodą immunoenzymatyczną testem ELISA przy użyciu testu firmy Caymantech (USA). Odczyt absorpcji wykonano przy użyciu czytnika Synergy (BioTek Instruments, USA).

W doświadczeniu I i II oceniono płodność krów na podstawie wybranych wskaźników rozrodu, tj. okresu spoczynku płciowego, indeksu inseminacyjnego oraz długości okresu międzyciążowego.

4.4. Obliczenia statystyczne

Wszystkie wartości liczbowe uzyskane podczas badań poddano analizie statystycznej przy użyciu pakietu SAS [SAS 2009]. Uwzględniono średnie arytmetyczne, odchylenia stan-

dardowe, standardowy błąd średniej (SEM) i graniczny poziom istotności (P-value) w całym zestawie danych. Do obliczeń wykorzystano procedury: GLM, MEANS, REG i UNIVARIATE.

Różnice między średnimi poszczególnych parametrów badano na podstawie następującego modelu liniowego analizy wariancji dla pomiarów powtarzalnych (procedura GLM):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk};$$

gdzie: μ – średnia ogólna dla danej cechy, α_i – grupa (kontrolna, potraktowana czynnikiem doświadczalnym), β_j – seria badań po wprowadzeniu czynnika doświadczalnego (1, 2, 3 w doświadczeniach I–III, 1, 2, ..., 8 wydajności mleka w doświadczeniu III, 1, 2, ..., 5 dla PGFM), $\alpha\beta_{ij}$ – efekt grupy x seria badań, ε_{ijk} – losowy efekt resztkowy.

Istotność różnic pomiędzy średnimi oszacowano przy użyciu testu Duncana. Zależność zmian między koncentracją *cis*-9, *trans*-11 CLA a *trans*-11 C18:1 w tłuszczu mleka krów badano metodą regresji liniowej (procedura REG). Dodatkowo wyniki zawartości PGF_{2a} (PGFM) w surowicy krwi przeanalizowano testem Q-Dixona.

5. Wyniki badań

5.1. Charakterystyka składu kwasów tłuszczowych w olejach rybnych

Analizę składu kwasów tłuszczowych stosowanych w olejach rybnych podano w tabeli 9. Koncentracja krótkołańcuchowych kwasów nasyconych była podobna w oleju śledziowo-szprotowym i oleju z łososia, natomiast niższa w oleju z wątroby dorsza. Wyraźne różnice odnotowano w zawartości kwasów długołańcuchowych. Najwyższą zawartością kwasu C18:2 charakteryzował się olej z łososia, przy jednocześnie najniższej zawartości kwasów n-3. Zawartość EPA i DHA najwyższa była w oleju śledziowo-szprotowym i wyniosła odpowiednio: 13,65 i 8,20%. Wyraźnie najniższym stosunkiem kwasów n-6/n-3 charakteryzował się olej z wątroby dorsza. Również w tym oleju stwierdzono wysoki udział kwasu erukowego (10,01%), przy jednocześnie wysokiej zawartości EPA i DHA.

Tabela 9
Table 9

Zawartość kwasów tłuszczowych w olejach rybnych (%)
Fatty acids composition of fish oil

Kwasy tłuszczowe Fatty acid	Doświadczenie I (olej śledziowo- -szprotowy) Experiment I (herring-sprat oil)	Doświadczenie II (olej z łososia) Experiment II (salmon oil)	Doświadczenie III (olej z wątroby dorsza) Experiment III (cod liver oil)
1	2	3	4
C12:0	nd	nd	nd
C14:0	5,95	4,48	3,64
C14:1	0,43	0,30	nd
C15:0	0,62	0,43	nd
C16:0	16,15	20,18	11,60
C16:1	3,47	5,09	9,11
C16:2	nd	0,84	nd
C17:0	nd	nd	nd
C18:0	2,86	2,89	2,22
C18:1	22,70	30,10	24,50

Tabela 9 cd.
Table 9 cont.

1	2	3	4
C18:2	7,25	14,18	2,36
C18:3	3,86	3,36	1,08
C20:0	0,20	nd	nd
C20:1	2,95	6,07	10,01
C20:4	0,92	nd	nd
C20:5	8,20	3,96	8,22
C22:0	0,90	nd	0,70
C22:1	2,96	0,91	10,01
C22:5	1,60	0,75	1,86
C22:6	13,65	6,02	11,31
Kwasy tłuszczowe n-3 n-3 fatty acids	27,31	14,09	22,47
Kwasy tłuszczowe n-6 n-6 fatty acids	7,25	14,18	2,36
n-6/n-3	0,27	1,01	0,11

nd – nie oznaczono lub poniżej 0,01 g/100 g kwasów tłuszczowych

nd – not detectable or below 0.01 g/100 g of fatty acids

5.2. Doświadczenie I

Celem doświadczenia I była ocena wpływu suplementacji niechronionego oleju śledziowo-szprotowego do dawek pokarmowych krów mlecznych w pierwszym okresie laktacji na parametry produkcyjne, profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, w tym zawartość izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA i kwasów z rodziny n-3 (EPA, DHA), wybrane parametry biochemiczne krwi w zakresie przemian węglowodanowo-lipidowych oraz funkcji wątroby, jak również wskaźniki reprodukcyjne.

5.2.1. Parametry produkcyjne krów

W okresie badań nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy kondycją krów doświadczalnych i kontrolnych (tab. 10). Obserwowany u obu grup spadek kondycji wraz z wchodzeniem w szczyt laktacji należy uznać za fizjologiczny. Pobranie suchej masy dawki pokarmowej było jedynie nieco wyższe w grupie krów, którym podawano olej rybny niż w grupie kontrolnej (22,12 w porównaniu z 21,43 kg).

Wyniki dotyczące wydajności i składu mleka podano w tabeli 10. Zastosowanie na początku laktacji w żywieniu krów oleju śledziowo-szprotowego spowodowało wyższą wydajność mleka w porównaniu z krowami kontrolnymi (36,31 w porównaniu z 32,71 kg). Różnic tych nie potwierdzono statystycznie. Wyższa wydajność mogła być spowodowana większą podażą energii w dawce pokarmowej, w której zastosowano dodatek tłuszczowy. Nie stwierdzono różnic statystycznych w zawartości tłuszczu i LKS pomiędzy grupami, jednak procentowa zawartość tłuszczu w mleku grupy doświadczalnej była nieco niższa. Zawartość białka była niższa ($P \leq 0,01$) w grupie ORN, natomiast zawartość laktozy wyższa

niż w grupie K. Wyższa wydajność mleka w grupie doświadczalnej w efekcie spowodowała wzrost wydajności tłuszczu, białka i laktozy.

Tabela 10
Table 10

Pobranie suchej masy, BCS, wydajność mleka i jego skład chemiczny
Dry matter intake, BCS, milk yield, milk composition

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORN		
Pobranie suchej masy (kg/d) Dry matter intake	21,43 ± 1,30	22,12 ± 0,69	0,24	0,98
BCS	3,25 ± 0,30	3,35 ± 0,26	0,30	0,93
Wydajność mleka (kg/d) Milk yield	32,71 ± 8,54	36,31 ± 9,03	1,15	0,51
Tłuszcz – Fat (%) (kg/d)	4,19 ± 0,19	3,94 ± 0,15	0,13	0,29
	1,37 ± 0,07	1,44 ± 0,06	0,09	0,16
Białko – Protein (%) (kg/d)	3,28 ± 0,14	3,18 ± 0,20	0,03	0,01
	1,07 ± 0,08	1,15 ± 0,09	0,01	< 0,01
Laktoza – Lactose (%) (kg/d)	4,77 ± 0,18	4,82 ± 0,19	0,05	0,68
	1,56 ± 0,03	1,75 ± 0,05	0,02	0,34
Sucha masa Total solids	12,21 ± 0,72	12,14 ± 0,89	0,36	0,33
LKS, × 10 ³ /ml SCC, × 10 ³ /ml	298,96 ± 36,89	276,05 ± 94,67	27,36	0,79

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej śledziowo-szprotowy – K – control group, ORN – unprotected herring-sprat oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

Skala 5-punktowa, gdzie 1 – nadmiernie chuda, 5 – nadmiernie tłusta

Scored on a 5-point scale, where 1 = overly thin, 5 = overly fat

5.2.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy

Stosowanie oleju śledziowo-szprotowego w dawce pokarmowej krów spowodowało obniżenie zawartości w tłuszczu mleka kwasów nasyconych, tj. C4:0, C10:0 oraz C18:0 (tab. 11). W konsekwencji suma kwasów nasyconych w mleku krów doświadczalnych uległa istotnemu obniżeniu w porównaniu z ich zawartością w tłuszczu mleka grupy kontrolnej, wynosząc odpowiednio 63,17 i 66,04 g/100 g tłuszczu. Podanie krowom tego oleju rybnego spowodowało wyraźnie wyższą ($P \leq 0,01$) zawartość kwasów nienasyconych (30,85 w porównaniu z 24,44 g/100 g tłuszczu). Podobną zależność potwierdzono w przypadku kwasów długołańcuchowych ($P \leq 0,01$).

Tabela 11
Table 11

Profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka (g/100 g tłuszczu)
Fatty acid profile in milk fat (g/100 g of fat)

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORN		
C4:0	3,16 ± 0,40	2,67 ± 0,46	0,14	0,07
C6:0	1,98 ± 0,49	1,58 ± 0,56	0,16	0,21
C8:0	1,77 ± 0,16	1,45 ± 0,42	0,10	0,11
C10:0	2,54 ± 0,23	2,20 ± 0,37	8,54	0,90
C12:0	3,42 ± 0,22	3,39 ± 0,25	0,07	0,55
C14:0	10,92 ± 0,75	10,70 ± 0,92	0,23	0,66
C14:1	0,54 ± 0,07	0,51 ± 0,07	0,02	0,51
C16:0	30,03 ± 0,47	30,28 ± 0,64	0,16	0,45
C16:1	1,07 ± 0,10	2,12 ± 0,82	0,23	0,01
C18:0	12,18 ± 0,42	10,90 ± 0,73	0,25	<0,01
C18:1 t9	0,38 ± 0,04	0,26 ± 0,08	0,02	0,05
C18:1 c9	18,33 ± 0,50	16,87 ± 0,89	0,30	0,01
C18:1 t11 (TVA)	1,10 ± 0,18	2,97 ± 1,37	0,40	0,01
C18:2 t9, t12	0,58 ± 0,04	0,32 ± 0,10	0,03	0,01
C18:2 c9, c12	2,95 ± 0,15	2,20 ± 0,60	0,17	0,01
C18:2 c9, t11 (CLA)	0,61 ± 0,04	1,89 ± 0,83	0,03	0,01
C18:2 t9, t11 (CLA)	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,06	0,01	0,33
C18:3 n-3	0,50 ± 0,02	0,44 ± 0,07	0,01	0,02
C18:3 n-6	0,19 ± 0,02	0,50 ± 0,27	0,07	0,02
C20:1	0,11 ± 0,03	1,84 ± 1,39	0,38	0,01
C20:4 n-6	0,18 ± 0,02	0,24 ± 0,06	0,05	0,03
C20:5 n-3 (EPA)	0,03 ± 0,01	0,42 ± 0,05	0,07	0,01
C22:6 n-3 (DHA)	–	0,18 ± 0,08	0,03	–
Inne – Others	9,46 ± 2,85	10,78 ± 1,27	0,94	0,36
SCFA ¹	12,86 ± 0,73	11,07 ± 0,81	0,24	0,28
MCFA ²	42,56 ± 12,30	43,64 ± 12,11	0,09	0,58
PUFA ³	37,20 ± 5,66	39,12 ± 4,94	0,07	0,01
Nasycone – Saturated	66,04 ± 11,30	63,17 ± 9,84	0,41	0,93
Nienasycone – Unsaturated	24,44 ± 4,95	30,85 ± 3,34	0,14	0,01
Σ n-3 PUFA	0,53 ± 0,02	1,04 ± 0,12	0,02	0,04
n-6/n-3	9,54 ± 0,52	3,21 ± 0,32	0,06	0,01

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej śledziowo-szprotowy – K – control group, ORN – unprotected herring-sprat oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Values are means ± standard deviation

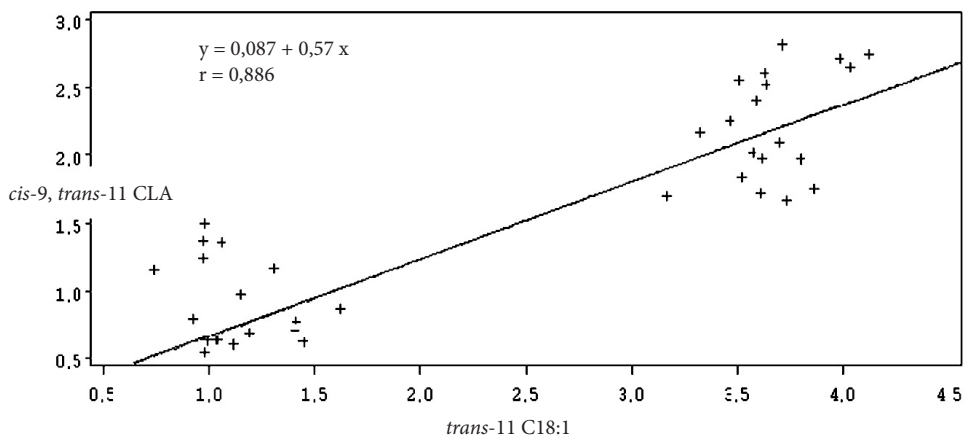
SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹Kwasy krótkołańcuchowe (SCFA): from C4 to C12; ²Kwasy średniołańcuchowe (MCFA) C14–C16:1; ³Kwasy długołańcuchowe (PUFA) > C17

Short chain fatty acids (SCFA): from C4 to C12; ²Medium-chain fatty acids (MCFA) C14–C16:1; ³Long-chain fatty acids (PUFA) > C17

W tłuszczu mleka krów kontrolnych nie stwierdzono zmian zawartości *cis*-9, *trans*-12 C18:2, natomiast w mleku krów, którym podawano olej rybny, jego koncentracja wyraźnie zmalała ($P \leq 0,01$). Koncentracja *trans*-11 C18:1 istotnie wzrosła w tłuszczu mleka krów doświadczalnych otrzymujących olej rybny (do 1,10 g/100 g tłuszczu). Podczas okresu badań w tłuszczu mleka grupy kontrolnej nie odnotowano zmian zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA, natomiast w grupie otrzymującej olej rybny zawartość tego izomeru była wyraźnie wyższa ($P \leq 0,01$), wynosząc średnio 1,89 g/100 g tłuszczu. Zależność pomiędzy koncentracją *cis*-9, *trans*-11 CLA a *trans*-11 C18:1 w tłuszczu mleka krów (ryc. 8) była wysoko skorelowana ($r = 0,886$, przy $P \leq 0,01$).

W tłuszczu mleka krów doświadczalnych stwierdzono wyraźnie wyższą ($P \leq 0,01$) zawartość kwasów z rodziny n-3 (EPA 0,42 i DHA 0,18 g/100 g tłuszczu). Koncentracja DHA w tłuszczu mleka krów kontrolnych była poniżej progu wykrywalności (10^{-3}). Zmiany zawartości kwasów długołańcuchowych w grupie ORN wpłynęły na obniżenie stosunku n-6/n-3, do 3,21. W grupie kontrolnej stosunek ten wyniósł 9,54. Różnice pomiędzy grupami były istotne ($P \leq 0,01$).



Ryc. 8. Zależność pomiędzy koncentracją *cis*-9, *trans*-11 CLA a *trans*-11 C18:1 w tłuszczu mleka
Fig. 8. Relationship between *cis*-9, *trans*-11 18:2 CLA and *trans*-11 18:1 fatty acids in milk fat

Aktywność Δ^9 -desaturazy zestawiono w tabeli 12. Podanie krowom w dawce pokarmowej oleju rybnego spowodowało wzrost wartości indeksu dla C18:1 *cis*-9/C18:0, *cis*-9, *trans*-11 CLA/VA oraz indeksu Δ^9 -desaturazy wyliczanego. Różnic tych pomiędzy grupami nie potwierdzono statystycznie.

Tabela 12
Table 12

Wpływ oleju rybnego na wartość indeksu Δ^9 -desaturazy
Effect of fish oil on Δ^9 -desaturase index

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORN		
Indeks desaturazy dla poszczególnych kwasów Desaturase index for particular acids				
C14:1/C14:0	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,01	0,02
C16:1/C16:0	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02	< 0,01	0,07
C18:1 <i>cis</i> -9/C18:0	1,50 ± 0,04	1,55 ± 0,02	0,01	0,03
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA/TVA	0,55 ± 0,02	0,64 ± 0,04	0,07	0,05
Indeks Δ^9 -desaturazy ¹ Δ^9 -Desaturase index ¹	0,26 ± 0,05	0,29 ± 0,06	0,02	0,06

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej śledziowo-szprotowy – K – control group, ORN – unprotected herring-sprat oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹wg Kay i in. [2005] – Adapted from Kay et al. [2005]

5.2.3. Parametry biochemiczne krwi

Średnie wartości dotyczące parametrów biochemicznych krwi zestawiono w tabeli 13. Stwierdzono wyższe stężenie glukozy w surowicy krwi krów otrzymujących olej rybny w porównaniu z grupą kontrolną. Jednocześnie odnotowano niższą ($P \leq 0,05$) koncentrację BHB w grupie doświadczalnej. Nasilonej ketogenezy i lipolizy w grupie krów kontrolnych jednak nie stwierdzono. Nie wykazano różnic w stężeniu insuliny między grupami. Odnotowano natomiast wyższe stężenie cholesterolu i triglicerydów ($P \leq 0,01$) po zastosowaniu oleju rybnego. Niższe stężenie albumin w grupie ORN było potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$), przy nieco wyższym stężeniu białka całkowitego. Nie wykazano różnic w aktywności ALT i stężeniu bilirubiny między grupami, natomiast stwierdzono niższą ($P \leq 0,01$) aktywność GGT w grupie doświadczalnej. Podczas okresu doświadczenia aktywność badanych enzymów mieściła się w granicach wartości referencyjnych [Winnicka 2008].

Tabela 13
Table 13

Profil metaboliczny surowicy krwi
Serum blood metabolic profile

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORN		
1	2	3	4	5
Glukoza (mmol/l) Glucose	3,37 ± 0,72	3,50 ± 0,55	0,05	0,15
BHB (mmol/l) BHBA	0,57 ± 0,82	0,42 ± 0,19	0,03	0,05

Tabela 13 cd.
Table 13 cont.

1	2	3	4	5
WKT (mmol/l) NEFA	0,72 ± 0,49	0,64 ± 0,49	0,05	0,47
Cholesterol (mmol/l) Cholesterol	3,90 ± 1,54	4,29 ± 1,24	0,06	0,01
Insulina (μU/ml) Insulin	14,74 ± 7,81	15,62 ± 5,36	0,75	0,92
Triglicerydy (mmol/l) Triglycerides	0,11 ± 0,04	0,17 ± 0,08	0,01	< 0,01
Białko całkowite (g/l) Total protein	74,11 ± 7,70	76,74 ± 7,46	0,87	0,35
Albuminy (g/l) Albumins	36,81 ± 4,76	33,25 ± 2,95	0,48	0,76
ALT (U/l)	69,11 ± 19,90	70,22 ± 13,79	1,94	0,08
GGT (U/l)	37,61 ± 14,64	28,90 ± 11,35	0,03	0,01
Bilirubina całkowita (μmol/l) Total bilirubine	2,54 ± 1,50	2,16 ± 1,30	0,16	0,35

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej śledziowo-szprotowy – K – control group, ORN – unprotected herring-sprat oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

5.2.4. Wskaźniki płodności

Wskaźniki płodności kształtowały się bardziej korzystnie w grupie krów otrzymującej olej śledziowo-szprotowy niż w grupie kontrolnej. Różnic nie potwierdzono statystycznie (tab. 14).

Tabela 14
Table 14

Wskaźniki płodności krów
Coefficients of the cows' fertility

Wyszczególnienie Item	K	ORN	SEM	P-value
Okres spoczynku płciowego (dni) Reproductive rest period (day)	94,80 ± 18,83	95,90 ± 18,32	5,48	0,44
Indeks inseminacyjny Insemination index	2,28 ± 0,87	1,98 ± 0,54	0,45	0,56
Okres międzyciążowy (dni) Inter-pregnancy period (day)	145,20 ± 32,05	134,10 ± 19,62	4,37	0,87

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej śledziowo-szprotowy – K – control group, ORN – unprotected herring-sprat oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

5.3. Doświadczenie II

Celem doświadczenia II była ocena wpływu stosowania chronionego oleju z łososia w żywieniu wysoko wydajnych krów mlecznych na parametry produkcyjne, profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, w tym zawartość izomeru *cis-9, trans-11* CLA i kwasów z rodziny n-3 (EPA, DHA) oraz wpływu na wybrane parametry biochemiczne krwi w zakresie przemian węglowodanowo-lipidowych, funkcji wątroby i wskaźniki reprodukcyjne.

5.3.1. Parametry produkcyjne krów

Pobranie suchej masy paszy w grupie krów otrzymujących w dawkach pokarmowych chroniony olej z łososia (ORCH) należy uznać za wysokie (24,32 kg). W grupie kontrolnej było ono na podobnym, nieco niższym poziomie (23,85 kg). Kondycja krów w grupie ORCH była niższa w porównaniu z krowami kontrolnymi (tab. 15). Różnice te nie były potwierdzone statystycznie.

Wyższą ($P \leq 0,01$) wydajność mleka stwierdzono w grupie krów doświadczalnych, różnica ta była jednak niewielka (1,68 kg). W mleku grupy otrzymującej chroniony olej z łososia stwierdzono niższą zawartość tłuszczu przy wyższej zawartości białka ($P \leq 0,01$). Podobne tendencje zaobserwowano w wydajności tłuszczu i białka mleka. Liczba komórek somatycznych w mleku nie różniła się istotnie pomiędzy grupami, będąc na nieco niższym poziomie w grupie kontrolnej.

Tabela 15

Table 15

Pobranie suchej masy, BCS, wydajność mleka i jego skład chemiczny
Dry matter intake, BCS, milk yield, milk composition

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORCH		
1	2	3	4	5
Pobranie suchej masy Dry matter intake	23,85 ± 5,11	24,12 ± 4,73	0,63	0,74
BCS	3,04 ± 0,21	2,94 ± 0,20	0,03	0,15
Wydajność mleka (kg/d) Milk yield	39,40 ± 3,08	41,08 ± 2,91	0,06	< 0,01
Tłuszcz – Fat (%) (kg/d)	3,95 ± 0,56	3,86 ± 0,64	0,10	0,14
	1,55 ± 0,06	1,47 ± 0,07	0,09	0,18
Białko – protein (%) (kg/d)	3,03 ± 0,26	3,19 ± 20	0,03	0,01
	1,18 ± 0,08	1,30 ± 0,06	0,04	0,03
Laktoza – Lactose (%) (kg/d)	4,94 ± 0,17	4,78 ± 0,20	0,03	< 0,01
	1,94 ± 0,04	1,95 ± 0,03	0,23	0,12

Tabela 15 cd.
Table 15 cont.

1	2	3	4	5
Sucha masa Total solids	12,01 ± 0,76	12,28 ± 0,98	0,13	0,36
LKS, × 10 ³ /ml SCC, × 10 ³ /ml	149,53 ± 114	162,00 ± 72,61	1,24	0,28

K – grupa kontrolna, ORCH – chroniony olej z łososia – K – control group, ORCH – protected salmon oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

Skala 5-punktowa, gdzie 1 – nadmiernie chuda, 5 – nadmiernie tłusta

Scored on a 5-point scale, where 1 = overly thin to 5 = overly fat

5.3.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy

Zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka krów po zastosowaniu chronionego oleju z łososia zestawiono w tabeli 16. W mleku krów grupy doświadczalnej stwierdzono niewielki spadek zawartości kwasów nasyconych, przy wyraźnym wzroście ($P \leq 0,01$) kwasów nienasyconych (do 30,73 g/100 g tłuszczu). W grupie doświadczalnej wśród kwasów krótkołańcuchowych wyraźnie niższa zawartość kwasów nasyconych dotyczyła C4:0, C8:0 i C12:0. Stwierdzono jednocześnie w mleku grupy ORCH istotny ($P \leq 0,01$) wzrost zawartości kwasów długołańcuchowych (40,52 w porównaniu z 35,01 g/100 g tłuszczu) oraz nieco niższy wzrost kwasów średniołańcuchowych (42,64 w porównaniu z 41,44 g/100 g tłuszczu). Koncentracja kwasów krótkołańcuchowych w tłuszczu mleka grupy doświadczalnej była niższa w porównaniu z grupą kontrolną, wynosząc odpowiednio 11,45 g/100 g tłuszczu i 13,85 g/100 g tłuszczu.

Tabela 16
Table 16

Profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka (g/100 g tłuszczu)
Fatty acid profile in milk fat (g/100 g of fat)

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORCH		
1	2	3	4	5
C4:0	3,06 ± 0,08	2,39 ± 0,52	0,07	< 0,01
C6:0	1,72 ± 0,17	1,61 ± 0,34	0,05	0,62
C8:0	2,84 ± 0,31	1,72 ± 0,34	0,09	< 0,01
C10:0	2,50 ± 0,14	2,34 ± 0,29	0,04	0,02
C12:0	3,72 ± 0,13	3,39 ± 0,21	0,04	< 0,01
C14:0	10,15 ± 0,48	10,39 ± 0,28	0,11	0,05
C14:1	0,51 ± 0,07	0,60 ± 0,11	0,01	< 0,01
C16:0	29,58 ± 0,27	30,20 ± 0,44	0,09	0,01
C16:1	1,20 ± 0,07	1,45 ± 0,82	0,06	0,03
C18:0	10,71 ± 0,12	10,22 ± 0,84	0,05	0,03
C18:1 t9	0,38 ± 0,01	0,35 ± 0,06	0,01	0,17
C18:1 c9	17,72 ± 0,21	16,93 ± 0,19	0,09	< 0,01

Tabela 16 cd.
Table 16 cont.

1	2	3	4	5
C18:1 t11 (TVA)	0,87 ± 0,03	2,83 ± 0,20	0,28	< 0,01
C18:2 t9, t12	0,50 ± 0,05	0,39 ± 0,13	0,02	< 0,01
C18:2 c9, c12	3,25 ± 0,14	3,33 ± 0,26	0,07	0,63
C18:2 c9, t11 (CLA)	0,51 ± 0,03	1,78 ± 0,09	0,12	< 0,01
C18:2 t9, t11 (CLA)	0,05 ± 0,01	0,12 ± 0,06	< 0,01	< 0,01
C18:3 n-3	0,45 ± 0,01	0,58 ± 0,06	0,02	< 0,01
C18:3 n-6	0,21 ± 0,02	0,53 ± 0,33	0,03	< 0,01
C20:1	0,07 ± 0,01	1,64 ± 0,11	0,15	< 0,01
C20:4 n-6	0,16 ± 0,01	0,26 ± 0,12	0,01	< 0,01
C20:5 n-3 (EPA)	0,02 ± 0,01	0,23 ± 0,17	0,18	0,03
C22:6 n-3 (DHA)	–	0,22 ± 0,04	–	–
Inne – Others	11 ± 2,14	10,62 ± 1,55	0,06	0,03
SCFA ¹	13,85 ± 0,70	11,45 ± 0,49	0,09	0,16
MCFA ²	41,44 ± 12,25	42,64 ± 12,45	0,03	0,07
PUFA ³	35,01 ± 5,25	40,52 ± 4,86	0,11	0,01
Nasycone – Saturated	64,80 ± 8,77	63,56 ± 9,06	0,03	0,09
Nienasycone – Unsaturated	26,00 ± 4,54	30,73 ± 3,71	0,04	0,01
Σ n-3 PUFA	0,47 ± 0,03	1,03 ± 0,09	1,02	0,36
n-6/n-3	8,77 ± 0,04	4,38 ± 0,98	0,17	0,34

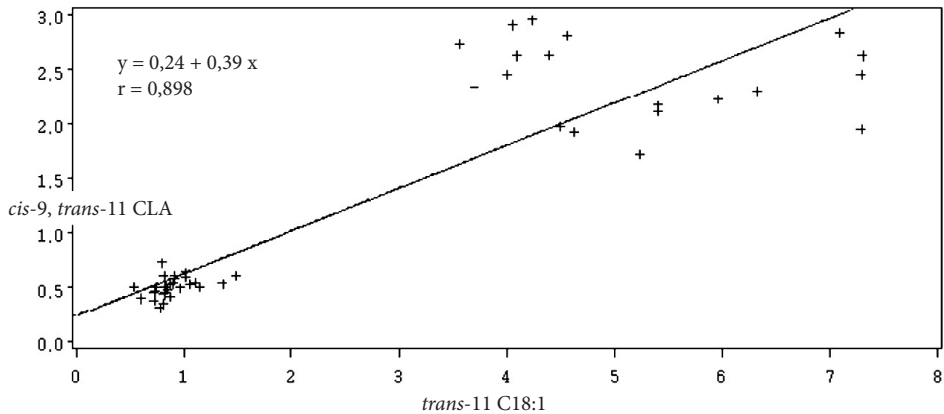
K – grupa kontrolna, ORCH– chroniony olej z łososia – K – control group, ORCH – protected salmon oil
Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Values are means ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹Kwasy krótkołańcuchowe (SCFA): from C4 to C12; ²Kwasy średniołańcuchowe (MCFA) C14–C16:1; ³Kwasy długołańcuchowe (PUFA) > C17

Short chain fatty acids (SCFA): from C4 to C12; ²Medium-chain fatty acids (MCFA) C14–C16:1; ³Long-chain fatty acids (PUFA) > C17

Zawartość kwasu wakcenenowego (*trans*-11 C18:1) była istotnie ($P \leq 0,01$) wyższa w mleku krów doświadczalnych niż kontrolnych (2,83 w porównaniu z 0,87 g/100 g tłuszczu). W efekcie, w grupie doświadczalnej, której podawano chroniony olej z łososia, wzrosła ($P \leq 0,01$) koncentracja izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA i wyniosła 1,78 g/100 g tłuszczu. W grupie kontrolnej niski poziom *cis*-9, *trans*-11 CLA utrzymywał się podczas całego okresu badań (średnio 0,51 g/100 g tłuszczu). Zależność pomiędzy koncentracją *cis*-9, *trans*-11 CLA a TVA przedstawiono na rycinie 9. Zależność ta była wysoko skorelowana ($r = 0,898$, $P \leq 0,01$), co potwierdza znaczenie TVA w endogennej syntezie CLA w gruczole mlekowym.



Ryc. 9. Zależność pomiędzy koncentracją *cis-9, trans-11* CLA a *trans-11* C18:1 w tłuszczu mleka
 Fig. 9. Relationship between *cis-9, trans-11* 18:2 CLA and *trans-11* 18:1 fatty acids in milk fat

Po zastosowaniu chronionego oleju rybnego z łosiosia odnotowano wzrost PUFA, w tym FUFU n-3 ($P \leq 0,01$). W grupie krów doświadczalnych zawartość EPA i DHA wyniosła, odpowiednio 0,23 i 0,22 g/100 g tłuszczu. W grupie krów kontrolnych zawartość DHA była powyżej progu detekcji, a koncentracja EPA wyniosła 0,02 g/100 g tłuszczu. Również zawartość C18:3 n-3 była wyższa ($P \leq 0,01$) w mleku krów doświadczalnych (tab. 16).

Oszacowany indeks desaturazy dla kwasów C14:1/C14:0, C16:1/C16:0 i C18:1 *cis-9*/C18:0 nie różnił się istotnie pomiędzy grupami (tab. 17). Niższą ($P \leq 0,05$) wartość tego indeksu odnotowano w grupie doświadczalnej dla *cis-9, trans-11* CLA/TVA, jednak sumaryczny indeks Δ^9 -desaturazy liczony w poszczególnych układach kwasów (produkt/substrat) był wyższy w grupie otrzymującej olej rybny (0,29) niż grupy kontrolnej (0,26).

Tabela 17
 Table 17

Wpływ oleju rybnego na wartość indeksu Δ^9 -desaturazy
 Effect of fish oil on Δ^9 -desaturase index

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORCH		
Indeks desaturazy dla poszczególnych kwasów Desaturase index for particular acids				
C14:1/C14:0	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,01	0,02
C16:1/C16:0	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,01	0,03
C18:1 <i>cis-9</i> /C18:0	1,69 ± 0,04	1,69 ± 0,02	< 0,01	0,02
<i>cis-9, trans-11</i> CLA/TVA	0,57 ± 0,02	0,50 ± 0,04	0,09	0,04
Indeks Δ^9 -desaturazy ¹ Δ^9 -Desaturase index ¹	0,26 ± 0,05	0,29 ± 0,06	0,01	0,03

K – grupa kontrolna, ORCH – chroniony olej z łosiosia – K – control group, ORCH – protected salmon oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹wg Kay i in. [2005] – Adapted from Kay et al. [2005]

5.3.3. Parametry biochemiczne krwi

Wyższe stężenie glukozy odnotowano w surowicy krwi krów otrzymujących olej rybny, przy słabiej nasilonej lipolizie (tab. 18). Stężenie WKT wyniosło 0,36 mmo/l w grupie doświadczalnej i 0,50 mmol/l w grupie kontrolnej. Wyższe ($P \leq 0,01$) stężenie WKT w grupie kontrolnej nie świadczy jednak o nasilonej lipolizie. W surowicy krwi krów otrzymujących chroniony olej rybny stwierdzono wyższe stężenie cholesterolu i triglicerydów. Nieco niższe stężenie białka całkowitego i albumin odnotowano u krów doświadczalnych w porównaniu z kontrolnymi. Podobne zależności wystąpiły w zakresie aktywności ALT, natomiast aktywność GGT była niższa w grupie doświadczalnej (34,09 U/l) w porównaniu z grupą kontrolną (40,49 U/l). Wpływ zastosowanego oleju rybnego przyczynił się także do niższego stężenia bilirubiny w surowicy (5,30 μ mol/l grupa ORCH i 06 μ mol/l grupa K). Oprócz zawartości WKT w surowicy krwi wszystkie badane parametry nie różniły się istotnie pomiędzy grupami.

Tabela 18
Table 18

Profil metaboliczny surowicy krwi
Serum blood metabolic profile

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group		SEM	P-value
	K	ORCH		
Glukoza (mmol/l) Glucose	3,38 \pm 0,41	3,49 \pm 0,36	0,05	0,16
BHB (mmol/l) BHBA	0,45 \pm 0,39	0,55 \pm 0,36	0,02	0,27
WKT (mmol/l) NEFA	0,50 \pm 0,14	0,36 \pm 0,12	0,04	< 0,01
Cholesterol (mmol/l) Cholesterol	5,93 \pm 0,96	6,26 \pm 1,21	0,17	0,39
Triglicerydy (mmol/l) Triglycerides	0,11 \pm 0,06	0,17 \pm 0,08	0,02	0,19
Białko całkowite (g/l) Total protein	83,22 \pm 11,34	79,14 \pm 13,44	1,58	0,25
Albuminy (g/l) Albumine	29,24 \pm 1,79	28,21 \pm 3,41	0,35	0,12
ALT (U/l)	92,60 \pm 19,37	90,04 \pm 16,51	2,92	0,60
GGT (U/l)	40,49 \pm 15,96	34,09 \pm 9,46	1,74	0,09
Bilirubina całkowita (μ mol/l) Total bilirubine	6,06 \pm 1,89	5,30 \pm 1,62	0,23	0,17

K – grupa kontrolna, ORCH – chroniony olej z łososia – K – control group, ORCH – protected salmon oil
Wartości średnie \pm odchylenie standardowe – Mean values \pm standard deviation
SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

5.3.4. Wskaźniki płodności

Krowy obu grup charakteryzowały się długim okresem spoczynku płciowego (tab. 19), ze względu na stosowanie w tym stadzie modelu laktacji przedłużonych. W grupie krów otrzymujących chroniony olej z łososia odnotowano niższą wartość indeksu inseminacyj-

nego (2,05) niż u krów kontrolnych (2,30). Oceniane wskaźniki płodności nie różniły się istotnie między grupami.

Tabela 19
Table 19

Wskaźniki płodności krów
Coefficients of the cows' fertility

Wyszczególnienie Item	K	ORCH	SEM	P-value
Okres spoczynku płciowego (dni) Reproductive rest period (day)	107,70 ± 18,81	105,90 ± 28,27	4,21	0,43
Indeks inseminacyjny Insemination index	2,30 ± 0,97	2,05 ± 0,74	0,17	0,48
Okres międzyciążowy (dni) Inter-pregnancy period (day)	152,50 ± 42,05	144,10 ± 29,62	2,39	0,43

K – grupa kontrolna, ORCH – chroniony olej z łososia – K – control group, ORCH – protected salmon oil
Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation
SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

5.4. Doświadczenie III

Celem doświadczenia III była ocena wpływu suplementacji niechronionego oleju z wątroby dorsza (wraz z dodatkiem aromatycznym o zapachu melasy) oraz oleju poddanego ochronie do dawek pokarmowych krów mlecznych w pierwszym okresie laktacji na parametry produkcyjne, profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, wybrane parametry biochemiczne krwi w zakresie przemian węglowodanowo-lipidowych oraz funkcji wątroby, wskaźniki reprodukcyjne i sekrecję prostanglandyn F_{2a} .

5.4.1. Parametry produkcyjne krów

Średnie pobranie suchej masy paszy było zbliżone u poszczególnych grup (tab. 20). Zastosowany do surowego oleju rybnego (grupa ORN) dodatek aromatyczny o zapachu melasy tylko w niewielkim stopniu wpłynął na wzrost pobrania paszy. W okresie badań najniższą kondycją charakteryzowały się krowy otrzymujące chroniony olej rybny z wątroby dorsza (ORCH), natomiast najwyższą krowy, którym podano olej niechroniony ($P \leq 0,01$). Podobne zależności odnotowano pomiędzy grupą ORCH a grupą kontrolną.

Tabela 20
Table 20

Pobranie suchej masy, BCS, wydajność mleka i jego skład chemiczny
Dry matter intake, BCS, milk yield, milk composition

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group			SEM
	K	ORN	ORCH	
1	2	3	4	5
Pobranie suchej masy Dry matter intake	21,16 ± 0,43	21,19 ± 0,42	21,12 ± 0,44	0,08
BCS	3,10 ± 0,40 ^A	3,25 ± 0,24 ^B	3,02 ± 0,30 ^C	0,03

Tabela 20 cd.
Table 20 cont.

1	2	3	4	5
Wydajność mleka (kg/dzień) Milk field (kg/d)	37,69 ± 3,25 ^A	34,77 ± 7,96 ^B	41,88 ± 6,95 ^C	0,04
Tłuszcz – Fat (%) (kg/d)	4,10 ± 0,93 1,55 ± 0,07	3,50 ± 0,75 1,19 ± 0,06	3,99 ± 0,84 1,66 ± 0,08	0,10 0,09
Białko – Protein (%) (kg/d)	3,27 ± 0,31 ^a 1,02 ± 0,03 ^a	3,37 ± 0,54 ^b 1,14 ± 0,04 ^b	3,38 ± 0,20 ^b 1,42 ± 0,03 ^b	0,05 0,03
Laktoza – Lactose (%) (kg/d)	4,87 ± 0,31 1,84 ± 0,04	4,82 ± 0,46 1,63 ± 0,05	4,99 ± 0,35 2,07 ± 0,04	0,05 0,03
Sucha masa Total solids	12,77 ± 1,10	12,26 ± 1,04	12,26 ± 1,62	0,15
LKS, × 10 ³ /ml SCC, × 10 ³ /ml	599,71 ± 311,37	537,00 ± 294,17	489,79 ± 208,17	39,01
EB (Mcal/dzień) EB (Mcal/day)	2,25 ± 2,17	0,89 ± 1,23	4,07 ± 3,56	1,01

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej z wątroby dorsza, ORCH – chroniony olej z wątroby dorsza

K – control group, ORN – unprotected cod liver oil, ORCH – protected cod liver oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

EB – bilans energii – energy balance, SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

Skala 5-punktowa, gdzie 1 – nadmiernie chuda, 5 – nadmiernie tłusta

Scored on a 5-point scale, where 1 = overly thin to 5 = overly fat

a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P \leq 0,05$

a, b – means marked with different letters differ statistically with $P \leq 0,05$

A, B – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P \leq 0,01$

A, B – means marked with different letters differ statistically with $P \leq 0,01$

Wydajność mleka krów otrzymujących olej niechroniony była istotnie niższa ($P \leq 0,01$) w porównaniu z grupą kontrolną i ORCH. Podanie krowom oleju chronionego spowodowało wyższą ($P \leq 0,01$) wydajność mleka (41,88 kg) niż w grupie kontrolnej (37,69 kg). Zawartość tłuszczu w grupie ORN uległa obniżeniu do 3,50%, podczas gdy u krów kontrolnych wyniosła 4,10%. Chroniony olej rybny nie spowodował tak wyraźnego spadku zawartości tłuszczu w mleku (tab. 20). Stwierdzono jednocześnie wyższą ($P \leq 0,05$) zawartość białka w mleku obu grup doświadczalnych.

Średnia liczba komórek somatycznych w okresie badań była we wszystkich grupach bardzo wysoka, przekraczając wartości dopuszczalne dla surowego mleka przeznaczonego do obrotu. Tak wysoka ilość LKS wynikała z występowania podklinicznych stanów zapalnych gruczołu mlekowego u 5 krów w grupie kontrolnej, u 4 krów otrzymujących olej chroniony i 3 krów, którym podawano olej niechroniony. Podczas okresu badań najniższą ilość komórek somatycznych w mleku odnotowano u krów, którym podano olej chroniony.

5.4.2. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku oraz indeks desaturazy

Zastosowanie w żywieniu krów obu rodzajów olejów rybnych w istotny sposób wpłynęło na dynamikę zmian zawartości w tłuszczu mleka kwasów długołańcuchowych ($> C18$), powodując ich wzrost ($P \leq 0,01$), przy jednoczesnym wzroście kwasów nienasyconych (tab. 21). Również w obu grupach doświadczalnych obniżeniu uległa zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych ($P \leq 0,01$). W największym stopniu zmiany te dotyczyły kwasów C4:0–C8:0 oraz C16:0. Zawartość kwasów nienasyconych w tłuszczu mleka grupy kontrolnej wyniosła 24,90 g/100 g tłuszczu, przy wyższej koncentracji w grupach doświadczalnych ORN i ORCH (odpowiednio 31,53 i 31,52 g/100 g tłuszczu). Zawartość kwasów nienasyconych była najniższa w mleku krów kontrolnych, natomiast istotnie wyższa ($P \leq 0,01$) w obu grupach doświadczalnych.

Po zastosowaniu dodatków tłuszczowych stwierdzono wyraźny wzrost ($P \leq 0,01$) zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA w mleku grup doświadczalnych, natomiast w grupie kontrolnej koncentracja tego izomeru utrzymywała się na niskim poziomie (0,63 g/100 g tłuszczu). Koncentracja *cis*-9, *trans*-11 CLA w grupie ORN wyniosła średnio 1,98 g/100 g tłuszczu, a w grupie ORCH 1,94 g/100 g tłuszczu. Również zawartość kwasu wakcenoowego była istotnie wyższa ($P \leq 0,01$) w mleku krów doświadczalnych niż kontrolnych (tab. 21). Stwierdzona zawartość *cis*-9, *trans*-11 CLA i kwasu wakcenoowego w mleku krów po zastosowaniu chronionego oleju rybnego może wskazywać, że użyte mikro kapsułki były częściowo rozkładane w żwaczu oraz przegryzały je krowy, wpływając tym samym na biouwodorowanie PUFA w treści żwacza. Spostrzeżenia te poparte były codzienną obserwacją pobierania przez zwierzęta mikro kapsulek z olejem rybnym. Zależność pomiędzy koncentracją *cis*-9, *trans*-11 CLA a *trans*-11 C18:1 (ryc. 10) w tłuszczu mleka krów była wysoko skorelowana ($r = 0,928$ przy $P \leq 0,01$).

Obie formy podawania krowom oleju rybnego wyraźnie wpłynęły na wzrost zawartości kwasów n-3 w mleku. Wyższe zawartości odnotowano w przypadku EPA niż DHA, podczas gdy poziomy tych kwasów w mleku krów kontrolnych był na bardzo niskim poziomie (odpowiednio 0,09 i 0,05 g/100 g tłuszczu). W grupie krów otrzymujących olej nieochroniony zawartość EPA i DHA wyniosła 0,49 i 0,32 g/100 g tłuszczu, natomiast po zastosowaniu oleju chronionego 0,62 i 0,47 g/100 g tłuszczu. Również zawartość C18:3 n-3 była wyższa ($P \leq 0,01$) w mleku krów grup ORCH i ORN. W mleku krów otrzymujących chroniony olej z wątroby dorsza stwierdzono najniższy ($P \leq 0,01$) stosunek n-6/n-3 w porównaniu z pozostałymi grupami.

Wyniki doświadczenia wskazują, że ochrona oleju rybnego prowadzi do większego wzrostu zawartości w mleku kwasów z rodziny n-3, natomiast zawartość *cis*-9, *trans*-11 CLA była na zbliżonym (wysokim) poziomie po zastosowaniu obu postaci oleju rybnego z wątroby dorsza.

Po zastosowaniu chronionego oleju rybnego odnotowano najniższą wartość indeksu desaturazy dla kwasów C14:1/C14:0 i C18:1 *cis*-9/C18:0. Wartość indeksu desaturazy C16:1/C16:0 była wyższa niż u grupy kontrolnej (tab. 22). Wartość indeksu Δ^9 -desaturazy była taka sama u wszystkich objętych badaniami grup.

Tabela 21
Table 21

Profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka (g/100 g tłuszczu)
Fatty acid profile in milk fat (g/100 g of fat)

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Grupa – Group			SEM
	K	ORN	ORCH	
C4:0	2,57 ± 0,40 ^A	2,09 ± 0,24 ^B	2,10 ± 0,14 ^B	0,04
C6:0	2,07 ± 0,64 ^A	1,87 ± 0,32 ^B	1,60 ± 0,34 ^C	0,06
C8:0	1,65 ± 0,25 ^A	1,60 ± 0,28 ^A	1,23 ± 0,24 ^B	0,04
C10:0	2,72 ± 0,26	2,18 ± 0,32	1,86 ± 0,35	3,64
C12:0	3,26 ± 0,33	3,20 ± 0,26	3,24 ± 0,27	0,04
C14:0	10,53 ± 0,98	10,40 ± 0,53	10,35 ± 0,45	0,08
C14:1	0,45 ± 0,18 ^A	0,48 ± 0,09 ^A	0,34 ± 0,15 ^B	0,02
C16:0	29,37 ± 0,60 ^A	29,18 ± 0,94 ^A	28,74 ± 0,52 ^B	0,10
C16:1	1,16 ± 0,30 ^A	2,14 ± 0,71 ^B	2,24 ± 0,72 ^C	0,10
C18:0	11,03 ± 0,73	10,98 ± 0,74	10,97 ± 0,79	0,09
C18:1 t9	0,22 ± 0,08 ^a	0,28 ± 0,10 ^b	0,30 ± 0,10 ^c	0,01
C18:1 c9	18,24 ± 1,16 ^A	17,34 ± 1,07 ^B	16,98 ± 1,57 ^C	0,17
C18:1 t11 (TVA)	1,30 ± 0,31 ^A	2,93 ± 1,25 ^B	3,05 ± 1,08 ^B	0,16
C18:2 t9, t12	0,27 ± 0,10 ^{aa}	0,37 ± 0,10 ^b	0,40 ± 0,11 ^{bb}	0,01
C18:2 c9, c12	2,99 ± 0,63 ^A	2,14 ± 0,72 ^a	1,88 ± 0,76 ^B	0,11
C18:2 c9, t11 (CLA)	0,63 ± 0,17 ^A	1,98 ± 0,94 ^B	1,94 ± 1,16 ^B	0,12
C18:2 t9, t11 (CLA)	0,06 ± 0,02 ^A	0,17 ± 0,11 ^B	0,19 ± 0,11 ^B	0,01
C18:3 n-3	0,32 ± 0,15 ^A	0,50 ± 0,20 ^B	0,63 ± 0,25 ^B	0,04
C18:3 n-6	0,15 ± 0,03 ^A	0,17 ± 0,04 ^A	0,24 ± 0,09 ^B	0,01
C20:1	0,12 ± 0,07 ^A	1,97 ± 1,37 ^B	1,96 ± 1,37 ^B	0,18
C20:4 n-6	0,17 ± 0,07 ^A	0,26 ± 0,09 ^B	0,27 ± 0,08 ^B	0,01
C20:5 n-3 (EPA)	0,09 ± 0,04 ^A	0,49 ± 0,17 ^B	0,62 ± 0,21 ^B	0,04
C22:6 n-3 (DHA)	0,05 ± 0,04 ^A	0,32 ± 0,09 ^B	0,47 ± 0,08 ^C	0,03
Inne – Others	7,14 ± 1,47 ^A	8,04 ± 1,05 ^B	9,60 ± 1,14 ^C	0,20
SCFA ¹	12,28 ± 0,68 ^A	10,93 ± 0,61 ^B	10,03 ± 0,74 ^B	0,03
MCFA ²	41,51 ± 9,81 ^a	42,21 ± 9,54 ^b	41,66 ± 9,48 ^a	0,16
PUFA ³	35,62 ± 2,86 ^A	39,89 ± 3,98 ^B	39,92 ± 4,93 ^B	0,12
Nasycone – Saturated	63,21 ± 6,23 ^A	61,50 ± 9,51 ^B	60,09 ± 9,45 ^C	0,03
Nienasycone – Unsaturated	24,90 ± 6,74 ^A	31,53 ± 4,32 ^B	31,52 ± 3,22 ^B	0,01
Σ n-3 PUFA	0,45 ± 0,16 ^A	1,31 ± 0,12 ^B	1,72 ± 0,29 ^C	0,02
n-6/n-3	9,93 ± 0,11 ^A	5,51 ± 0,16 ^B	3,63 ± 0,14 ^C	0,03

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej z wątroby dorsza, ORCH – chroniony olej z wątroby dorsza
K – control group, ORN – unprotected cod liver oil, ORCH – protected cod liver oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Values are means ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹Kwasy krótkołańcuchowe (SCFA): from C4 to C12; ²Kwasy średniołańcuchowe (MCFA) C14–C16:1; ³Kwasy długołańcuchowe (PUFA) > C17

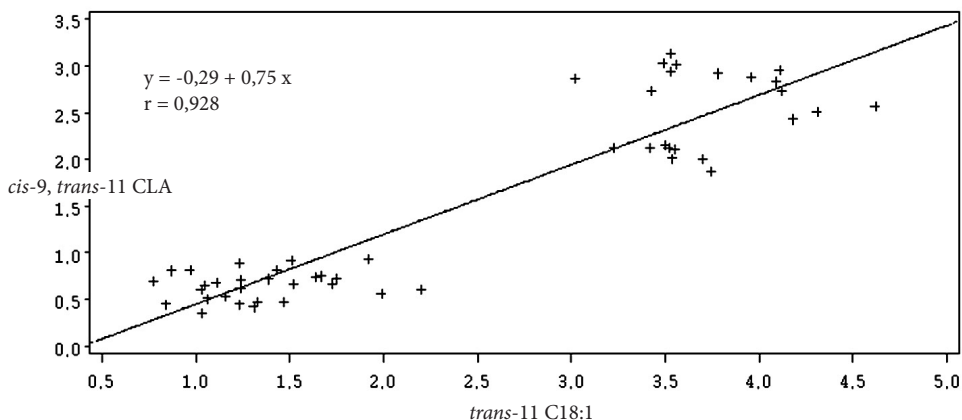
Short chain fatty acids (SCFA): from C4 to C12; Medium-chain fatty acids (MCFA) C14–C16:1; Long-chain fatty acids (PUFA) > C17

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy P ≤ 0,05

a, b – means marked with different letters differ statistically with P ≤ 0.05

A, B, C – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy P ≤ 0,01

A, B, C – means marked with different letters differ statistically with P ≤ 0.01



Ryc. 10. Zależność pomiędzy koncentracją *cis-9, trans-11* CLA a *trans-11* C18:1 w tłuszczu mleka
 Fig. 10. Relationship between *cis-9, trans-11* 18:2 CLA and *trans-11* 18:1 fatty acids in milk fat

Tabela 22
 Table 22

Wpływ olejów rybnych na wartość indeksu Δ^9 -desaturazy
 Effect of fish oil on Δ^9 -desaturase index

Wyszczególnienie Item	Grupa – Group			SEM
	K	ORN	ORCH	
Indeks desaturazy dla poszczególnych kwasów Desaturase index for particular acids				
C14:1/C14:0	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02
C16:1/C16:0	0,04 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,01
C18:1 <i>cis-9</i> /C18:0	1,65 ± 0,08	1,58 ± 0,07	1,55 ± 0,06	0,03
<i>cis-9, trans-11</i> CLA/TVA	0,48 ± 0,05	0,68 ± 0,06	0,64 ± 0,08	0,01
Indeks Δ^9 -desaturazy ¹ Δ^9 -Desaturase index ¹	0,28 ± 0,04	0,29 ± 0,06	0,29 ± 0,08	0,03

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej z wątroby dorsza, ORCH – chroniony olej z wątroby dorsza

K – control group, ORN – unprotected cod liver oil, ORCH – protected cod liver oil

Wartości średnie ± odchylenie standardowe – Mean values ± standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

¹wg Kay i in. [2005] – Adapted from Kay et al. [2005]

5.4.3. Parametry biochemiczne krwi

Średnie wartości parametrów biochemicznych krwi zestawiono w tabeli 23. Najwyższe stężenie glukozy stwierdzono w grupie otrzymującej chroniony olej rybny (3,30 mmol/l). W grupie ORN stężenie glukozy było najniższe. Różnice pomiędzy grupą ORN a grupą kontrolną i ORCH były istotne ($P \leq 0,01$). W grupie ORN odnotowano jednocześnie nasiloną ketogenezę. Stężenie BHB wyniosło w tej grupie 1,11 mmol/l, przy niskiej koncentracji w surowicy krwi WKT (0,22 mmol/l). Stężenie BHB i WKT w grupie krów kontrolnych oraz otrzymującej chroniony olej rybny było na zbliżonym poziomie (tab. 23).

W surowicy krwi krów grupy K i ORCH stężenie triglicerydów było na bardzo niskim poziomie, natomiast wyższe w surowicy krwi krów, którym podawano olej niechroniony. Jednocześnie u tej grupy stwierdzono najwyższe stężenie cholesterolu. Niewielkie różnice pomiędzy poszczególnymi grupami zaobserwowano w odnośnie kształtowania się stężenia białka całkowitego i albumin. W przypadku tego ostatniego parametru różnice te były potwierdzone statystycznie (tab. 23). Aktywność ALT w surowicy krwi krów kontrolnych i otrzymujących niechroniony olej rybny była na zbliżonym poziomie, nieco niższa w grupie otrzymującej olej rybny poddany ochronie. Aktywność GGT osiągnęła najwyższy ($P \leq 0,01$) poziom w grupie krów, której podawano niechroniony olej rybny (33,95 U/l). Aktywność tego enzymu mieściła się jednak w granicach wartości prawidłowych [Winnicka 2008]. W grupie ORN stwierdzono również najwyższe stężenie bilirubiny całkowitej (9,95 $\mu\text{mol/l}$).

Tabela 23
Table 23

Profil metaboliczny surowicy krwi
Serum blood metabolic profile

Wyszczególnienie Item	Grupa - Group			SEM
	K	ORN	ORCH	
Glukoza (mmol/l) Glucose	3,21 \pm 0,55 ^A	2,70 \pm 0,66 ^B	3,30 \pm 0,54 ^A	0,08
BHB (mmol/l) BHBA	0,83 \pm 0,45	1,11 \pm 0,84	0,81 \pm 0,45	0,03
WKT (mmol/l) NEFA	0,32 \pm 0,35	0,22 \pm 0,13	0,29 \pm 0,19	0,03
Cholesterol (mmol/l) Cholesterol	4,07 \pm 1,11	4,62 \pm 1,58	4,22 \pm 0,99	0,15
Triglicerydy (mmol/l) Triglycerides	0,08 \pm 0,03 ^A	0,13 \pm 0,04 ^B	0,09 \pm 0,04 ^A	0,01
Białko całkowite (g/l) Total protein	76,52 \pm 10,91	81,93 \pm 5,97	78,30 \pm 9,79	1,06
Albuminy (g/l) Albumine	31,55 \pm 4,43 ^a	29,78 \pm 5,42 ^b	33,23 \pm 2,93 ^c	0,54
ALT (U/l)	87,78 \pm 34,74	87,47 \pm 22,63	83,24 \pm 17,27	3,02
GGT (U/l)	23,18 \pm 6,21 ^A	33,95 \pm 8,27 ^B	22,59 \pm 6,11 ^A	1,23
Bilirubina całkowita ($\mu\text{mol/l}$) Total bilirubine	6,59 \pm 1,50 ^a	9,95 \pm 3,04 ^b	5,56 \pm 2,49 ^c	0,74

K – grupa kontrolna, ORN – niechroniony olej z wątroby dorsza, ORCH – chroniony olej z wątroby dorsza

K – control group, ORN – unprotected cod liver oil, ORCH – protected cod liver oil

Wartości średnie \pm odchylenie standardowe – Mean values \pm standard deviation

SEM – standardowy błąd średniej – SEM – standard error of the mean

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P \leq 0,05$

a, b – means marked with different letters differ statistically with $P \leq 0,05$

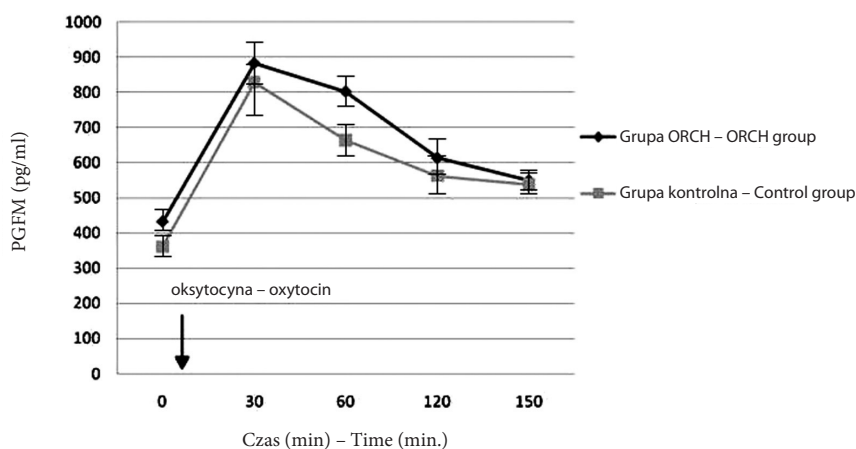
A, B – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P \leq 0,01$

A, B – means marked with different letters differ statistically with $P \leq 0,01$

5.4.4. Wpływ oleju rybnego na stężenie $\text{PGF}_{2\alpha}$ w surowicy krwi

W 60. dniu po porodzie wykonano badania kliniczne oraz USG narządów rodnych krów. U krów grupy kontrolnej i otrzymującej chroniony olej rybny stwierdzono prawidłową involucję macicy, brak patologicznych wpływów z szyjki oraz nagromadzenia wydzieliny w obrębie trzonu i rogów macicy. Wykazano istotne ($P \leq 0,01$) różnice w wielkości pęcherzyków dominujących obecnych na jajnikach. Średnia wielkość pęcherzyka dominującego w grupie kontrolnej wyniosła $12,10 \pm 3,83$ mm, natomiast doświadczalnej: $15,57 \pm 3,69$ mm.

Wpływ zastosowania większej podaży PUFA n-3 zawartych w chronionym oleju rybnym na kształtowanie się stężenia 13,14-dihydro 15-keto $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFM) przedstawiono na rycinie 11. Po podaniu *i.v.* oksytocyny nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy grupami, a dynamika zmian stężenia PGFM była zbliżona.



ORCH – chroniony olej z wątroby dorsza – ORCH – protected cod liver oil

Ryc. 11. Dynamika zmiany zawartości 13,14-dihydro 15-keto $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFM) po iniekcji oksytocyny. Podczas okresu suplementacji oleju rybnego P -value oszacowany dla efektu grupy wyniósł 0,62

Fig. 11. Dynamics of 13,14-dihydro 15-keto $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFM) content changes after oxytocin injection. During period the supplementation fish oil P -value for treatment effect was 0.62

6. Dyskusja

Olej rybny jest bogatym źródłem PUFA, w tym kwasów n-3 takich jak EPA i DHA. Spośród zastosowanych w badaniach własnych olejów rybnych najniższą koncentracją kwasów nasyconych charakteryzował się olej z wątroby dorsza, który jednocześnie cechował się najniższym stosunkiem kwasów n-6/n-3. W oleju śledziowo-szprotowym (doświadczenie I) stwierdzono zbliżoną zawartość EPA (8,20%) i DHA (13,65%) jak w innych badaniach [Bakuła i in. 2005, Kupczyński i in. 2011]. Zawiera on też pewne ilości kwasu linolowego [Bakuła i in. 2005]. Zastosowany w badaniach własnych olej z łososia miał niższą zawartość DHA (6,02%) niż użyty w badaniach Kitessa i in. [2004], w którym zawartość DHA wyniosła 11,6%. Stosowany w badaniach AbuGhazaleh i in. [2003] oraz Osborne i in. [2008] olej z manhadena zawierał od 10,95 do 11,92% DHA. Podobną koncentrację odnotowano w oleju z wątroby dorsza, który charakteryzował się najniższym stosunkiem n-6/n-3 spośród badanych olejów.

Brak wpływu zastosowania różnych ilości niechronionego oleju rybnego na zmianę kondycji krów w laktacji stwierdzili Donovan i in. [2000]. Najwyższą kondycję osiągnęły krowy otrzymujące 1% oleju rybnego, a najniższą – 3%. Wykazano także brak różnic, podając krowom olej rybny w okresie okołoporodowym [Ballou i in. 2009]. Porównując zastosowanie soli Ca kwasów tłuszczowych (Megalac-R), długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (prilled fat) i glikol propylenowy, nie stwierdzono różnic w kondycji krów, przy najwyższej ocenie BCS po zastosowaniu glikolu propylenowego [Castañeda-Gutiérrez i in. 2009]. W badaniach własnych nie odnotowano różnic statystycznych pomiędzy kondycją krów kontrolnych a doświadczalnych w doświadczeniu I i II, przy wyższej ocenie BCS krów otrzymujących olej niechroniony śledziowo-szprotowy. Potwierdzają to także inne badania [Donovan i in. 2000]. W doświadczeniu III podawanie oleju niechronionego z wątroby dorsza spowodowało wyższą ($P \leq 0,01$) kondycję w porównaniu z grupą kontrolną; w przeciwieństwie do grupy otrzymującej olej chroniony, gdzie odnotowano obniżenie kondycji. Zależności te mogły wynikać z osiągnięcia bardzo wysokiej wydajności mleka przez krowy otrzymujące olej chroniony. W innym doświadczeniu po zastosowaniu oleju rybnego w ilości 2% suchej masy stwierdzono wyższą kondycję u krów otrzymujących ten dodatek w porównaniu z krowami kontrolnymi [Kupczyński i in. 2011]. Również wyższą ($P \leq 0,05$) kondycję o 0,1 pkt wykazano po zastosowaniu oleju rybnego z ekstrudowaną śrutą sojową [Whitlock i in. 2006]. Sole Ca oleju rybnego z olejem palmowym w większym stopniu powodowały obniżenie kondycji w porównaniu z tłuszczami nasyconymi [Juchem i in. 2008]. Badania własne (doświadczenia III) wskazują, że choć olej rybny ma

wpływ na kształtowanie się kondycji krów w laktacji, to o wydajności mleka decydują prawidłowe zbilansowanie dawki pokarmowej i zawartość energii.

Stosując olej rybny w postaci niechronionej, odnotowano liniowe obniżenie pobrania suchej masy wraz z wzrastającą ilością oleju [Donovan i in. 2000, Palmquist, Griinari 2006]. Podobne wyniki uzyskali Shingfield i in. [2006]. Stosując sole wapniowe oleju rybnego stwierdzono wyższe pobranie suchej masy dawki w porównaniu z podawaniem oleju rybnego do żwacza lub trawieńca [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Autorzy ci sugerują, że w treści żwacza sole wapniowe zawierające PUFA w większym stopniu utrzymują równowagę pomiędzy dysocjującymi a niedysocjującymi kwasami tłuszczowymi w porównaniu z solami Ca kwasów nasyconych, mając tym samym mniejszy wpływ na mikroflorę żwacza. W badaniach własnych odnotowano wysokie pobranie paszy po zastosowaniu chronionego oleju z łososia, jednak w żadnym z doświadczeń różnice w stosunku do grupy kontrolnej nie były potwierdzone statystycznie. Również mikrootoczkowanie oleju z wątroby dorsza (doświadczenie III) nie wpłynęło na wartość tego parametru.

W piśmiennictwie można znaleźć informacje o badaniach, których efekt suplementacji dawek pokarmowych różnymi olejami był zróżnicowany pod względem wskaźników produkcyjnych. Zastosowanie oleju lnianego miało minimalny wpływ na wydajność mleka i pobranie suchej masy podczas żywienia pastwiskowego krów [Flowers i in. 2008]. Podobne wyniki uzyskano w innych badaniach, w których stosowano olej rybny [Shingfield i in. 2003]. Uzupełnianie diety krów wysokimi dawkami olejów roślinnych wiąże się z wyraźnym spadkiem pobrania paszy [Chilliard i in. 2001]. Na brak wpływu zastosowania chronionego tłuszczu roślinnego wzbogacanego w PUFA na pobranie suchej masy dawki pokarmowej oraz wydajność mleka i zawartość w nim tłuszczu wskazują Theurer i in. [2009]. Brak wpływu na wydajność i skład mleka odnotowano, podając krowom różne dawki oleju rybnego i alg morskich [AbuGhazaleh i in. 2009]. Również podczas żywienia pastwiskowego krów nie stwierdzono wyraźnego wpływu oleju rybnego na skład mleka krów [AbuGhazaleh, Holmes 2007]. Palmquist i Griinari [2006] po zastosowaniu oleju rybnego stwierdzili obniżenie zawartości tłuszczu bez wpływu na wydajność mleka i jego skład. Efekt ten można ograniczyć, podając krowom sole Ca oleju rybnego [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. W badaniach tych infuzja dożwaczowa niechronionego oleju rybnego także spowodowała obniżenie zawartości tłuszczu.

Przytoczone wyżej spostrzeżenia potwierdzają badania własne. Olej w postaci niechronionej powodował w większym stopniu spadek zawartości tłuszczu w mleku niż poddany ochronie. W badaniach własnych olej rybny w postaci chronionej (doświadczenie II i III) spowodował wyraźny wzrost wydajności mleka, natomiast olej niechroniony w doświadczeniu III przyczynił się do wyraźnego jej obniżenia. W doświadczeniu I wpływ oleju niechronionego na wydajność, mimo widocznych różnic, nie był potwierdzony statystycznie. Bez względu na rodzaj zastosowanego oleju rybnego jego wpływ na zawartość białka był korzystniejszy, gdy podawano go w formie chronionej. Zastosowanie soli Ca oleju rybnego w ilości 2,3% spowodowało wzrost wydajności mleka i pobrania paszy bez wpływu na bilans energii [Heravi Moussavi i in. 2007]. Baumgard i in. [2000] jako pierwsi stwierdzili, że izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA jest silnym inhibitorem syntezy tłuszczu w gruczole mlekowym, z ang. milk fat depression (MFD). Dieta zawierająca wielonienasycone kwasy tłuszczowe prowadzi do niepełnego uwodornienia kwasów tłuszczowych, w tym powsta-

wania produktów pośrednich takich jak *trans*-10, *cis*-12 CLA [Bauman i in. 2008]. Zawartość tego izomeru w mleku jest wyraźnie skorelowana z obniżeniem wydajności tłuszczu. Redukcję zawartości tłuszczu w mleku stwierdzono po zastosowaniu oleju rybnego, przy jednoczesnym wzroście ilości *trans*-10, *cis*-12 CLA w mleku [Whitlock i in. 2006].

Okres wczesnej laktacji charakteryzuje się szeregiem metabolicznych adaptacji, które zachodzą w gruczole mlekowym i innych tkankach, przy zmniejszeniu wrażliwości wątroby, tkanki tłuszczowej i mięśni szkieletowych na insulinę. Wzrost pobrania suchej masy na początku laktacji jest stopniowy, natomiast gwałtowny wzrost produkcji mleka po wycieleniu powoduje występowanie negatywnego (ujemnego) bilansu energii (NEB), który jest w pewnym stopniu „biologiczną koniecznością” u krów o wysokiej wydajności. Doprządza to do znacznego zużycia glukozy, potrzebnej głównie do syntezy laktozy mleka [Grummer 2008]. Dodatek tłuszczu do dawki pokarmowej krów powoduje zwiększenie w niej koncentracji energii. Ponadto zastosowany na początku laktacji tłuszcz paszowy jest lepiej wykorzystany do pokrycia potrzeb energetycznych związanych z syntezą mleka niż tłuszcz zapasowy [Heravi Moussavi i in. 2007a].

W piśmiennictwie można spotkać szereg prac dotyczących wpływu tłuszczu paszowego na przemiany metaboliczne i reprodukcję krów, co wynika z dawki zastosowanych tłuszczu oraz zawartości kwasów tłuszczowych w stosowanych dodatkach. Tłuszcz chroniony (zawierający kwas palmitynowy) powodował wzrost koncentracji WKT w surowicy krwi krów [Moallem i in. 2007, Hammon i in. 2008]. Wzrost ten był wyraźniejszy, gdy podawano krowom sole Ca kwasów tłuszczowych niż tłuszcz otoczkowany [Moallem i in. 2007]. Podwyższona zawartość WKT we krwi może prowadzić do nadmiernego ich utleniania, szczególnie w mięśniach i wątrobie, w efekcie obniżając pobranie paszy [Allen i in. 2005]. W innych badaniach zastosowanie chronionego oleju roślinnego (Megalac) nie wpłynęło istotnie na poziom WKT we krwi [Petit i in. 2004].

Stosując duże ilości (2,3% suchej masy) soli Ca oleju rybnego, odnotowano wyższą zawartość WKT we krwi, jednak różnice te nie były istotne statystycznie w porównaniu z krowami kontrolnymi [Heravi Moussavi i in. 2007]. Odmienne wyniki uzyskali Childs i in. [2008], którzy przy wzrastających dawkach oleju rybnego stwierdzili obniżenie stężenia WKT. W badaniach własnych wykazano, że podobny efekt miał chroniony olej rybny (doświadczenie II i III) oraz oleje niechronione (doświadczenie I i III). Wpływ na stężenie WKT w surowicy krwi mógł wynikać ze zwiększonej podaży EPA i DHA, co może prowadzić do ich włączania do błon fosfolipidowych, wpływając na redukcję przepuszczania WKT [Lovegrove i in. 1997].

Zastosowanie chronionego oleju palmowego nie wpłynęło istotnie na poziom glukozy, cholesterolu i HDL, LDL [Petit i in. 2004]. Odmienne wpłynęło odnotowano po zastosowaniu soli Ca oleju rybnego od 5. do 50. dnia po porodzie, gdyż stwierdzono wzrost ($P \leq 0,05$) stężenia glukozy i insuliny we krwi, bez istotnego wpływu na wydajność mleka, bilans energii oraz koncentrację WKT, BHB i mocznika [Heravi Moussavi i in. 2007a]. Wzrost stężenia WKT może mieć hamujący wpływ na sekrecję insuliny [Moallem i in. 2007], nie zostało to potwierdzone w badaniach własnych (doświadczenie I).

Zastosowanie oleju rybnego wraz z olejem słonecznikowym powoduje wzrost stężenia kwasu masłowego w płynie żwaczowym, co może mieć stymulujący wpływ na ilość bakterii *Butyrivibrio* spp. [Palmquist, Griinari 2006]. Dodatkowo olej rybny prowadzi do wzrostu

produkcji w żwaczu propionianów, podstawowego substratu w procesie glukoneogenezy wątrobowej [Fievez i in. 2003]. Również w badaniach własnych olej chroniony powodował wzrost stężenia glukozy, co w większym stopniu może wskazywać na utrzymanie homeostazy glukozy. Olej niechroniony efekt ten wywołał w I doświadczeniu, w doświadczeniu III spowodował obniżenie ($P \leq 0,01$) stężenia glukozy. Heravi Moussavi i in. [2007a] wskazują, że zastosowanie mączki rybnej lub chronionego oleju rybnego może zwiększać absorpcję aminokwasów i ich dostępność do syntezy białka mleka, jak również dostępność glukogennych aminokwasów. W innych badaniach nie stwierdzono wpływu wzrastających dawek oleju rybnego na koncentrację glukozy we krwi [Childs i in. 2008].

Wykorzystane w poszczególnych doświadczeniach oleje rybne miały zróżnicowany wpływ na kształtowanie się stężenia kwasu β -hydroksymasłowego (BHB) w surowicy krwi krów. W doświadczeniu I zastosowany olej niechroniony śledziowo-szprotowy spowodował niższą zawartość BHB w porównaniu z krowami kontrolnymi, natomiast w grupie otrzymującej niechroniony olej z wątroby dorsza stężenie BHB było wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. We wszystkich doświadczeniach wartość graniczna wynosząca $1400 \mu\text{mol/l}$ nie została przekroczona [Quiroz-Rocha i in. 2010]. Wzrost stężenia BHB we krwi krów występuje przy wzroście WKT, jednak sytuacji takiej w badaniach własnych nie odnotowano. W innych badaniach stosując olej rybny nie stwierdzono jego wpływu na koncentrację BHB [Heravi Moussavi i in. 2007a, Childs i in. 2008]. Również podając olej otoczony lub sole Ca długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w okresie przejściowym nie stwierdzono różnic pomiędzy koncentracją BHB we krwi krów grup doświadczalnych a kontrolną, mimo niższej zawartości BHB u grup otrzymujących dodatki tłuszczowe [Castañeda-Gutiérrez i in. 2009]. W badaniach tych stwierdzono korzystniejszy bilans energii u krów otrzymujących wymienione dodatki tłuszczowe. Zastosowany w doświadczeniu III mikrokapsułkowany olej rybny poprawił bilans energii, natomiast olej niechroniony nie miał takiego wpływu.

Wykorzystane w badaniach własnych różne rodzaje oleju rybnego przyczyniły się do wyższej wartości stężenia triglicerydów w surowicy krwi krów grup doświadczalnych niż kontrolnych. Wyraźniejszy wpływ na kształtowanie się tego parametru stwierdzono w przypadku podawania krowom oleju niechronionego, co zostało udowodnione statystycznie w doświadczeniu III. Na brak wpływu różnych dawek oleju rybnego na stężenie triglicerydów, przy wzroście stężenia cholesterolu we krwi, wskazują Childs i in. [2008]. Można zasugerować tezę, że suplementacja dawek pokarmowych PUFA n-3 ma pozytywny wpływ na syntezę cholesterolu. Jest to istotne pod względem rozrodu, gdyż prekursorem do syntezy progesteronu jest m.in. cholesterol. Wzrost podaży w diecie krów PUFA n-3 wiązał się z wyższym stężeniem cholesterolu we krwi [Robinson i in. 2002]. W badaniach własnych odnotowano podobne tendencje, natomiast Petit i in. [2004] są zdania, że zastosowanie olejów roślinnych nie ma wpływu na stężenie cholesterolu.

W doświadczeniu I i II aktywność γ -glutamylotransferazy (GGT) była niższa w grupach otrzymujących olej rybny, natomiast w doświadczeniu III olej niechroniony przyczynił się do wzrostu aktywności GGT. Zmianom tym towarzyszył wzrost ($P \leq 0,05$) stężenia bilirubiny całkowitej. Wartości prawidłowe nie zostały jednak przekroczone [Winnicka 2008]. W badaniach Heravi Moussavi i in. [2007a] mimo niższej aktywności AST we krwi krów otrzymujących chroniony olej rybny nie stwierdzono różnic statystycznych. Różne-

go rodzaju dodatki paszowe mogą modyfikować aktywność enzymów wątrobowych. Podawana krowom sylimaryna wraz z kiszonką z ostropestu plamistego istotnie obniżyły stężenie triglicerydów we krwi, korzystnie wpływając na aktywność niektórych enzymów, AST i GGT [Grabowicz i in. 2004].

Kwasy tłuszczowe mogą hamować wzrost i metabolizm komórkowy mikroorganizmów w żwaczu, zmniejszając syntezę białka mikroorganizmów. Dlatego ważne są nie tylko ilość, ale także rodzaj i forma podawanego krowom tłuszczu. Ujemny wpływ tłuszczu na fermentację żwaczową można ograniczyć poprzez ochronę. Najbardziej popularną metodą ochrony kwasów tłuszczowych jest produkcja mydeł wapniowych. Ze względu na cenę jedynie badawczo stosowano mikrokapsułki [Caroprese i in. 2009], podobnie jak w badaniach własnych (doświadczenie III). W praktyce ekonomiczne uzasadnienie ma stosowanie oleju niechronionego lub mydeł wapniowych kwasów tłuszczowych.

Wprowadzane wraz z dietą wielonienasycone kwasy tłuszczowe i ich produkty biouwodowania powstające w żwaczu są silnymi inhibitorami syntezy krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym jako efekt hamujący na aktywność acetylo-CoA karboksylazy [Bauman, Griinari 2003]. Stosując w żywieniu krów olej rybny, stwierdzono obniżenie koncentracji w mleku nasyconych kwasów krótkołańcuchowych z C:4 do C:14 [Donovan i in. 2000, Whitlock i in. 2006]. W badaniach AbuGhazaleh i in. [2009] redukcja tych kwasów wyniosła maksymalnie 19% po wprowadzeniu do diety krów alg morskich lub oleju rybnego. Stosując olej rybny do dawki TMR krów albo dodając go do wody pitnej, Osborne i in. [2008] stwierdzili liniowe obniżenie się zawartości kwasów z C:4 do C:14 w okresie doświadczenia. Zastosowane w badaniach własnych: chroniony olej rybny z łososia lub wątroby dorsza oraz niechroniony olej z wątroby dorsza spowodowały istotne obniżenie ($P \leq 0,01$) zawartości w tłuszczu mleka krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, wpływu takiego nie odnotowano, podając niechroniony olej śledziowo-szprotowy (doświadczenie I).

Głównym źródłem zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka jest endogenna synteza w gruczole mlekowym [Piperova i in. 2002, Mosley i in. 2006]. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe EPA i DHA znajdujące się w oleju rybnym hamują redukcję *trans*-C18:1 do 18:0 podczas uwodornienia kwasów tłuszczowych zawartych w podstawowej diecie krów i prowadzą do kumulacji *trans*-10 C18:1 w treści żwacza [Loor i in. 2005b]. W przemianach tych również powstają pewne ilości *trans*-11 C18:1, prekursora zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka [Shingfield i in. 2003]. Zawartość *trans*-11 C18:1 jest wyższa w mleku niż we krwi [Osborne i in. 2008], co wskazuje na udział w estryfikacji innych kwasów tłuszczowych. Zawartość CLA w mleku krów może wynikać z różnic indywidualnych w przepływie żwaczowym TVA oraz aktywności Δ^9 -desaturazy w gruczole mlekowym [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007].

Aktywność Δ^9 -desaturazy służy do oszacowania zależności pomiędzy nienasyconymi produktami a ich nasyconymi prekursorami. Peterson i in [2002] sugerują, że stosunek 14:1/14:0 jest przypuszczalnie najlepszym wskaźnikiem oceniającym aktywność Δ^9 -desaturazy w gruczole mlekowym. Brak różnic w aktywności Δ^9 -desaturazy lub hamowanie jej aktywności mogą wynikać z wpływu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zawartych w diecie [Chilliard i in. 2003]. W badaniach własnych, w doświadczeniu I i II nie odnotowano wpływu zastosowanych olejów na wartość tego wskaźnika. W doświadczeniu III wy-

niki były zróżnicowane. Na wartość tego wskaźnika pewny wpływ ma również faza laktacji. Do 16. tygodnia laktacji wzrastają zawartość *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka, jak i szacowana aktywność Δ^9 -desaturazy [Kay i in. 2005]. Wartość indeksu desaturazy liczona dla C18:2 *cis*-9, *trans*-11/C18:1 *trans*-11 była istotnie wyższa ($P \leq 0,01$) po zastosowaniu oleju lnianego niż rybnego [Caroprese i in. 2010]. Olej niechroniony (śledziowo-szprotowy lub z wątroby dorsza) również powodował wzrost wartości tego wskaźnika, co nie było jednak potwierdzone statystycznie. Zastosowanie różnych olejów roślinnych w żywieniu małych przeżuwaczy (owce, kozy) wskazuje, że niezależnie od źródeł LA podobna ilość *cis*-9, *trans*-11 CLA powstaje podczas syntezy endogennej w gruczole mlekowym, nie mając istotnego wpływu na aktywność desaturazy Δ^9 -desaturazy [Szumacher-Strabel 2005].

Stosowany w żywieniu krów olej rybny powodował wyraźne zmiany profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, szczególnie ważnych z punktu żywienia człowieka kwasów, takich jak CLA, EPA i DHA. W szeregu badań po zastosowaniu oleju rybnego stwierdzono bardzo wyraźny wzrost koncentracji CLA w tłuszczu mleka [Donovan i in. 2000, AbuGhazaleh i in. 2003, 2007a]. W badaniach Castañeda-Gutiérrez i in. [2007] wysokie dawki oleju rybnego w postaci mydeł wapniowych nie spowodowały tak istotnego wzrostu CLA w tłuszczu mleka (1,04 g/100 g kwasów tłuszczowych) jak infuzja dożwaczowa (6,05 g/100 g kwasów tłuszczowych). Zastosowana w tych badaniach infuzja do trawieńca oleju rybnego wiązała się jedynie z zawartością w mleku CLA na poziomie 0,49 g/100 g kwasów tłuszczowych. Jednocześnie mydła Ca oleju rybnego nie spowodowały tak wyraźnego wzrostu koncentracji w mleku TVA (1,54 i 2,22 g/100 g kwasów tłuszczowych) jak infuzja dożwaczowa oleju rybnego, aż 18,33 g/100 g kwasów tłuszczowych [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Jest to swego rodzaju fenomen oleju rybnego, gdyż stosowany w postaci niechronionej powoduje wzrost zawartości w treści żywca kwasu wakcenenowego, który następnie jest substratem do syntezy CLA w reakcjach enzymatycznych w gruczole mlekowym [Griinari i in. 2000]. Donovan i in. [2000] stwierdzili, że dodatek 2% oleju rybnego był najefektywniejszy, gdyż powodował wzrost *cis*-9, *trans*-11 CLA i kwasu wakcenenowego, odpowiednio o 360 i 430%. Zbliżone wyniki uzyskano w innych badaniach po zastosowaniu oleju rybnego na nośniku mineralnym [Kupczyński i in. 2011].

W badaniach własnych wyższą zawartość TVA i CLA stwierdzono, gdy wykorzystywano olej rybny niechroniony (doświadczenie I) w porównaniu z olejem chronionym (doświadczenie II). W doświadczeniu III zawartość TVA była nieco wyższa po podaniu oleju chronionego. Jednak we wszystkich eksperymentach uzyskano wysoką zawartość CLA w tłuszczu mleka, odpowiednio 1,89 g/100 g tłuszczu (doświadczenie I), 1,78 g/100 g tłuszczu (doświadczenie II) i 1,98 g/100 g tłuszczu (olej niechroniony) oraz 1,94 g/100 g tłuszczu (olej chroniony) w doświadczeniu III. Badania wykazały, że stosowanie oleju rybnego w żywieniu krów jest skuteczną metodą wzbogacania mleka w prozdrowotne dla człowieka kwasy tłuszczowe.

Ze względu na koncentrację kwasu linolowego i linolenowego efektywnym zabiegiem okazało się również zastosowanie kombinacji oleju rybnego z olejami roślinnymi, zawierającymi duże ilości tych kwasów [Abu-Ghazaleh i in. 2002, 2003, Whitlock i in. 2002]. Podawanie krowom oleju rybnego wraz ze zwiększoną ilością kwasu linolowego (olej ze słonecznika) prowadzi do wyraźnego wzrostu zawartości *cis*-9, *trans*-11 CLA w mleku [Abu-Gazaleh i in. 2003, Shingfielda i in. 2006]. W innych badaniach Caroprese i in.

[2010] stwierdzono o 100% wyższą zawartość CLA po podaniu oleju lnianego i o 67% po zastosowaniu oleju rybnego. Wykorzystując w żywieniu owiec dodatki tłuszczowe, zanotowano najwyższą zawartość *cis-9*, *trans-11* CLA w tłuszczu mleka po zastosowaniu oleju słonecznikowego podawanego wraz z olejem rybnym, następnie słonecznikowego, rybnego, przy najniższej zawartości w grupie kontrolnej, odpowiednio 2,83, 2,31, 1,66 i 0,64 g/100 g kwasów tłuszczowych [Toral i in. 2010]. Jednak w badaniach tych najwyższą zawartość kwasów n-3 stwierdzono przy suplementacji oleju rybnego (0,38%), a następnie oleju słonecznikowego wraz z olejem rybnym (0,29%).

Dynamika zmian zawartości CLA w miarę upływu czasu używania oleju rybnego jest zróżnicowana, jednak nawet długoterminowe jego stosowanie prowadzi do wyższej zawartości CLA niż przy standardowym żywieniu. Po 5 dniach podawania krowom oleju rybnego i oleju słonecznikowego odnotowano wzrost *cis-9*, *trans-11* CLA do 5,37 g/100 g kwasów tłuszczowych, a 15. dnia nastąpiło jego obniżenie do 2,35 g/100 g kwasów tłuszczowych [Shingfield i in. 2006]. Podobnie obniżenie koncentracji CLA w mleku nastąpiło po 14 dniach stosowania oleju rybnego z soją ekstrudowaną [Whitlock i in. 2002]. W badaniach AbuGhazaleh i in. [2004] obniżenie zawartości CLA w mleku zaobserwowano dopiero po 21 dniach podawania krowom oleju rybnego.

Zawarte w paszy wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) są intensywnie metabolizowane przez mikroflorę żwacza. Zmniejszenie biouwodorowania FUFU n-3 ma na celu zwiększenie podaży pozażwaczowej kwasów z rodziny n-3. Jedną z metod jest zastosowanie soli wapniowych oleju rybnego [Mattos i in. 2004, Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Transfer EPA i DHA do tłuszczu mleka wynosi odpowiednio 21,27 i 18,9% przy wlewkach oleju rybnego do trawieńca, 3,08 i 4,36% przy podawaniu soli Ca oleju rybnego (wysokie dawki) oraz 1,86 i 3,30% przy infuzji dożwaczowej oleju rybnego [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. Zbliżone wyniki uzyskano, stosując olej niechroniony, transfer EPA wyniósł 2,6, a DHA 4,1% [Chilliard et al. 2001]. W badaniach *in vitro* mikrokrystalizowany olej rybny z olejem lnianym (inert fat) w 90–95% nie był metabolizowany przez drobnoustroje żwacza w ciągu 36 godzin inkubacji [Carriquiry i in. 2008]. Zawartość w mleku EPA i DHA nie musi bezwzględnie odzwierciedlać ich dostępności, gdyż mogą one być transportowane i deponowane w innych tkankach ciała, takich jak wątroba, *endometrium*, tkanka tłuszczowa [Bilby i in. 2006].

Transfer EPA i DHA z dawki pokarmowej do mleka jest względnie niski, jednak istnieją możliwości uzyskania większej zawartości tych kwasów w tłuszczu mleka krów niż przy standardowym żywieniu. Ominięcie żwacza (infuzja do trawieńca) dało w efekcie zawartość DHA w tłuszczu mleka wynoszącą 0,63 g/100 g kwasów tłuszczowych, natomiast podawanie soli Ca oleju rybnego tylko 0,14 g/100 g kwasów tłuszczowych [Castañeda-Gutiérrez i in. 2007]. W innych badaniach stwierdzono po zastosowaniu niechronionego oleju rybnego 0,43–0,45 g DHA/100 g kwasów tłuszczowych [Mattos i in. 2004, Kupczyński i in. 2011]. Wzrost zawartości EPA i DHA w tłuszczu mleka odnotowano także, stosując chroniony olej rybny w połączeniu z olejem palmowym, jednak zmiany te nie były tak spektakularne [Juchem i in. 2008]. Badania Caroprese i in. [2010] wskazują, że spożycie oleju rybnego prowadzi do wyższej zawartości kwasów n-3 w mleku krów niż olej lniany. Zawartość DHA wyniosła 0,12 g/100 g kwasów tłuszczowych po podaniu oleju rybnego, natomiast lnianego zaledwie 0,001 g/100 g kwasów tłuszczowych.

W badaniach własnych stwierdzono po zastosowaniu niechronionego oleju śledziowo-szprotowego niższą zawartość DHA (0,18 g/100 g tłuszczu) niż po użyciu oleju chronionego z łososia 0,22 g/100 g tłuszczu. Odwrotne zależności występowały w przypadku koncentracji EPA, wyższy poziom odnotowano po suplementacji oleju niechronionego (0,42 g/100 g kwasów tłuszczowych), a niższy chronionego (0,23 g/100 g kwasów tłuszczowych). W doświadczeniu III po zastosowaniu niechronionego oleju z wątroby dorsza zawartość EPA i DHA wyniosła 0,49 i 0,32 g/100 g tłuszczu, natomiast oleju chronionego 0,62 i 0,47 g/100 g tłuszczu. Zawartość DHA w tłuszczu mleka krów kontrolnych była bardzo niska lub poniżej progu detekcji ($<10^{-3}$). W innych badaniach przy żywieniu standardowymi dawkami TMR zawartość EPA wyniosła 0,01 g/100 g kwasów tłuszczowych, a DHA była poniżej progu wykrywalności [AbuGahazaleh i in. 2004]. Osborne i in. [2008] zaproponowali hipotezę mówiącą, że olej rybny podawany do wody pitnej może przechodzić przez żwacza by-pass, zwiększając zawartość w mleku kwasów n-3 PUFA. Jednak współczynnik transferu EPA, DPA i DHA nie różnił się istotnie pomiędzy grupą otrzymującą olej rybny do wody i do dawki TMR.

Stosowanie tłuszczu paszowego w dawkach pokarmowych krów ma zasadniczo zwiększać koncentrację energii. Deficyt energii występujący na początku laktacji zaburza przemiany węglowodanowo-lipidowe, ale również ma negatywny wpływ na gospodarkę hormonalną, głównie obniżając sekrecję LH [Hess i in. 2005] przyczyniając się do nieprawidłowego rozwoju pęcherzyków Graafa. W badaniach angielskich stwierdzono lepszą jakość oocytów u krów otrzymujących wyższą (800 w porównaniu z 200 g) ilość tłuszczu chronionego [Fouladi-Nashta i in. 2007]. Dzięki modyfikacji żywieniowej dawek pokarmowych krów wielonienasycone kwasy tłuszczowe (EPA i DHA) mogą być użyte do obniżenia syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ w *endometrium* podczas wczesnej ciąży. Kwasy te mogą mieć bezpośredni wpływ na kluczowe geny i ich białka, które regulują biochemiczne procesy oraz wpływają na przeżywalność zarodków [Childs i in. 2008].

W badaniach *in vitro* stwierdzono, że kwasy EPA i DHA hamowały sekrecję $\text{PGF}_{2\alpha}$ w hodowlach komórek *endometrium* (BEND) [Mattos i in. 2003]. Inne badania wskazują, że hamowanie biosyntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ przez kwasy n-3 również może zależeć od stosunku n-6:n-3 [Caldari-Torres i in. 2006]. Po zastosowaniu mączki rybnej lub oleju rybnego w żywieniu krów stwierdzono wzrost DHA i EPA w lipidach macicy [Mattos i in. 2004, Heravi Moussavi i in. 2007b] oraz redukcję syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ w *endometrium* [Mattos i in. 2004]. Nie stwierdzono natomiast wpływu na wystąpienie pierwszej rui i sekrecję $\text{PGF}_{2\alpha}$ po podaniu oksytocyny u krów otrzymujących w okresie okołoporodowym tłuszcz otoczony lub sole Ca długołańcuchowych kwasów n-6 [Castañeda-Gutiérrez i in. 2009].

Wzrastające dawki chronionego oleju rybnego prowadzą do liniowego wzrostu ($P \leq 0,05$) zawartości EPA i DHA w *endometrium* [Childs i in. 2008]. Jednak w badaniach Heravi Moussavi i in. [2007] stwierdzono, że suplementacja mączki rybnej albo chronionego oleju rybnego nie powodowała oczywistego wpływu na syntezę COX-2 lub $\text{PGF}_{2\alpha}$ w *endometrium*, jako odpowiedź na podanie oksytocyny. Podobnego zdania są Childs i in. [2008]. W badaniach własnych stężenie FGFM w surowicy krwi, będące odpowiedzią na podanie oksytocyny w 15. dniu synchronizowanego cyklu rujowego, nie różniło się pomiędzy grupami. W innych badaniach podanie oksytocyny w 17. dniu cyklu rujowego wiązało się z większym wzrostem stężenia PGFM w grupie krów otrzymujących kwasy n-6 w porów-

naniu z krowami kontrolnymi [Robinson i in. 2002]. Po zastosowaniu w żywieniu jałówek dużych ilości kwasów n-3 nie zauważono w *endometrium* wyraźnego wpływu na ekspresję genów kodujących receptor oksytocyny, fosfolipazę C, COX-1, COX-2, PGE-9-reduktazę [Coyne i in. 2008]. Autorzy ci wskazują jednak, że ekspresja genów odpowiedzialnych za syntezę prostaglandyn w *endometrium* może zależeć od dostarczanych wraz z dawką pokarmową kwasów PUFA n-3. Kwas linolowy może być przekształcany w procesach desaturacji i elongacji do kwasu arachidonowego i w ten sposób być prekursorem syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$ [Wathes i in. 2007]. Jednak kwas ten może również konkurencyjnie hamować aktywność Δ^6 -desaturazy i cyklooksygenazy [Cheng i in. 2001]. Zdolność do syntezy $\text{INF-}\tau$ zależy m.in. od wielkości ciała żółtego (CL). Wzrost ilości podawanego krowom chronionego oleju rybnego prowadził do wzrostu wielkości CL w 7. dniu synchronizowanego cyklu rujowego (kontrolna – 17,5 mm, wysoka zawartość oleju rybnego – 24,1 mm), nie mając wpływu na średnicę CL w 17.–18. dniu [Childs i in. 2008]. Wzrost podaży w diecie krów kwasu linołowego (LNA n-3) wiązał się z większą wielkością pęcherzyka dominującego [Robinson i in. 2002]. Dieta wzbogacona w kwasy n-3 lub n-6 nie miała jednak wyraźnego wpływu na cykl rujowy. W badaniach własnych 60 dni po porodzie pęcherzyki dominujące były większe ($P \leq 0,01$) u krów otrzymujących chroniony olej z wątroby dorsza niż kontrolnych.

Przedmiotem badań dotyczących wpływu na rozród bydła kwasów n-3 były także oleje roślinne. Ambrose i in. [2006] zastosowali w żywieniu krów 750 g/dobę/sztukę oleju lnianego (56,7% ALA C18:3n-3) lub oleju słonecznikowego (0,1% ALA) w postaci gniecionych nasion, począwszy od 55. dnia po porodzie do 32. po pierwszej inseminacji. Korzystniej kształtowały się wskaźniki rozrodu krów otrzymujących olej lniany. Podczas jajczkowania pęcherzyki były większe, jednak ich liczba, wielkość ciała żółtego i stężenie progesteronu nie wykazywały różnic. Odnotowano natomiast korzystny wpływ na wskaźniki płodności, skuteczność pierwszej inseminacji wyniosła 72,6% u krów otrzymujących olej lniany i zaledwie 47,5% u krów żywionych olejem słonecznikowym. W badaniach własnych wskaźniki płodności osiągnęły korzystniejsze wartości w grupach otrzymujących olej rybny (doświadczenie I i II) w porównaniu z krowami kontrolnymi, mimo to różnic statystycznych nie stwierdzono. Oprócz pozytywnych wyników badań Ambrose i in. [2006] istnieją też doniesienia, w których stwierdzono po zastosowaniu kwasu linolowego większą cyrkulację metabolitów $\text{PGF}_{2\alpha}$ oraz niższą skuteczność zapłodnień [Grant i in. 2005].

Stosując tłuszcze bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe (*cis*-9, *cis*-12 C18:2, *trans* C18:1) zanotowano większą skuteczność zapłodnienia i rozwój embrionów (większa liczba blastomerów) w porównaniu z krowami otrzymującymi olej palmowy [Cerri i in. 2009]. Podobnie korzystny wpływ na folikulogenezę miało zastosowanie w żywieniu krów kapsułkowanego oleju lnianego w ilości 3,8% suchej masy dawki pokarmowej [Zachut i in. 2010]. W badaniach tych stwierdzono większą liczbę pęcherzyków oraz liczbę i wielkość oocytów. Petit i in. [2004] wykorzystując różne dodatki tłuszczowe (roślinne), nie stwierdzili różnic w dynamice wzrostu pęcherzyków. Inne badania wskazują, że PUFA zawarte w chronionym tłuszczu roślinnym z dodatkiem kaolinu powodowały wyższe stężenie progesteronu we krwi oraz wyższy wskaźnik skuteczności zacieleń (51,2%) w porównaniu z grupą kontrolną (39,6%) [Lopes i in. 2009]. Stężenie progesteronu było dodatnio skorelowane ze skutecznością zapłodnień.

7. Podsumowanie

Można stwierdzić, że podawanie krowom oleju rybnego do dawek pokarmowych TMR w pierwszym okresie laktacji, zwłaszcza w postaci chronionej, przyczyniło się do większego pobrania suchej masy paszy. Olej chroniony stosowany w postaci mikrokapsułek poprawił jednocześnie bilans energii. Nie wykazano różnic statystycznych pomiędzy kondycją krów otrzymujących oleje rybne a kondycją krów kontrolnych. Krowy o bardzo wysokiej wydajności obniżały kondycję na początku laktacji, nawet przy wykorzystaniu suplementacji oleju chronionego. Odnotowano wyższą wydajność mleka u krów otrzymujących oleje chronione, jak również niechroniony olej śledziowo-szprotowy. Po zastosowaniu chronionego oleju z łososia stwierdzono wyraźny wzrost ($P \leq 0,01$) zawartości białka w mleku, zmiany te były mniej wyraźne po podaniu krowom chronionego oleju z wątroby dorsza. Oleje niechronione miały zróżnicowany wpływ na zawartość białka w mleku, olej z wątroby dorsza spowodował wzrost, natomiast olej śledziowo-szprotowy obniżenie jego udziału. Zwiększona podaż PUFA wraz z zastosowanym w żywieniu krów olejem rybnym może wiązać się ze spadkiem zawartości tłuszczu w mleku, wyraźniejszym przy wykorzystaniu oleju niechronionego.

Dodatek oleju rybnego do dawek pokarmowych krów wysoko wydajnych może mieć pozytywny wpływ na zachowanie homeostazy glukozy w szczycie laktacji. Zostało to potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$) u krów, którym podawano mikrokapsułkowany olej z wątroby dorsza. Stosowanie olejów rybnych spowodowało wzrost stężenia triglicerydów w surowicy krwi. Wyraźniejszy wpływ na kształtowanie się tego parametru odnotowano w przypadku podawania krowom oleju niechronionego ($P \leq 0,01$). Wprowadzona do dawek pokarmowych krów wraz z olejem rybnym zwiększona ilość PUFA prowadzi do wzrostu stężenia cholesterolu w surowicy krwi.

Stwierdzono, że ilość i rodzaj kwasów tłuszczowych docierających do tkanek gruczołu mlekowego ma wyraźny wpływ na profil kwasów tłuszczowych mleka. Zastosowane w badaniach różne oleje rybne spowodowały wzrost zawartości w tłuszczu mleka kwasów długołańcuchowych ($> C17$), przy obniżeniu się zawartości kwasów krótkołańcuchowych ($C4:0$ – $C12:0$). Jedyne olej śledziowo-szprotowy nie miał wpływu na zawartość kwasów krótkołańcuchowych.

Modyfikacja diety krów poprzez długoterminowe wprowadzenie oleju rybnego w istotny sposób spowodowała wzrost koncentracji kwasu wakcenenowego (TVA) i izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka. Wzrost koncentracji CLA w tłuszczu mleka we wszystkich eksperymentach był istotny ($P \leq 0,01$). Średnia koncentracja *cis*-9, *trans*-11 CLA

w tłuszczu mleka krów doświadczalnych wzrosła od 308% (chroniony olej z wątroby dorsza) do 349% (chroniony olej z łososia), w porównaniu z grupą kontrolną. Oleje niechronione powodowały wzrost poziomu tego izomeru w granicach 310–314%. Wartość indeksu Δ^9 -desaturazy szacowana dla poszczególnych kwasów była wyższa u grup doświadczalnych niż kontrolnych. Zastosowana suplementacja wpłynęła również na wzrost zawartości kwasów z rodziny n-3. Najwyższe zawartości EPA i DHA stwierdzono po zastosowaniu chronionego oleju z wątroby dorsza. Udowodniono korzystny wpływ podawanych krowom olejów rybnych na profil kwasów tłuszczowych w różnych warunkach środowiskowych i przy różnym składzie dawek pokarmowych TMR.

Wskaźniki rozrodu krów kształtowały się korzystniej w grupach otrzymujących poszczególne oleje rybne, jednak nie odnotowano różnic statystycznych. Chroniony olej rybny powodował wystąpienie większych ($P \leq 0,01$) pęcherzyków dominujących na jajnikach krów. Luteoliza ciała żółtego indukowana iniekcją oksytocyny u krów otrzymujących mikrokapsułki oleju rybnego z wątroby dorsza nie prowadziła do obniżenia stężenia we krwi metabolitu $\text{PGF}_{2\alpha}$ (13,14-dihydro 15-keto $\text{PGF}_{2\alpha}$).

8. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące uogólnienia i wnioski:

1. Dodatek różnych form oleju rybnego do dawki pokarmowej wysoko wydajnych krów powoduje większe pobranie suchej masy. Poprawę bilansu energii stwierdzono jednak tylko po zastosowaniu mikrokapsulek zawierających olej z wątroby dorsza.
2. Oleje rybne stosowane w ilości 1% suchej masy dawki pokarmowej prowadzą do wzrostu wydajności mleka, przy jednoczesnej zmianie jego składu chemicznego, jednak bez negatywnego wpływu na jakość technologiczną. Stwierdzono wzrost zawartości białka po podaniu krowom olejów chronionych, natomiast zawartość tłuszczu uległa obniżeniu, zwłaszcza przy suplementacji oleju niechronionego.
3. Wprowadzane wraz z dietą PUFA i ich produkty biouwodorowania powstające w zważu są inhibitorami syntezy krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka. We wszystkich doświadczeniach zaobserwowano wzrost zawartości w mleku długołańcuchowych kwasów tłuszczowych.
4. Wykazano pozytywny efekt zastosowania olejów rybnych (niechronionych i chronionych) w dawkach pokarmowych krów żywionych systemem TMR, co wskazuje na możliwość ich powszechnego wykorzystania. Uzyskano znaczący wzrost koncentracji kwasu wakcenenowego (TVA), izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA (wzrost ponad 3-krotny) oraz kwasów z rodziny n-3 (EPA i DHA) w tłuszczu mleka.
5. Zwiększona podaż PUFA prowadzi do poprawy homeostazy glukozy w szczycie laktacji, przy istotnym wzroście stężenia triglicerydów i cholesterolu we krwi.
6. Nie wykazano istotnego wpływu olejów rybnych na rozród krów, w tym sekrecję $\text{PGF}_{2\alpha}$, jednak wskaźniki płodności były wyraźnie korzystniejsze u krów otrzymujących rybne dodatki tłuszczowe.

9. Piśmiennictwo

- AbuGhazaleh A.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Whitlock L.A., 2002. Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *J. Dairy Sci.* 85, 624–631.
- AbuGhazaleh A.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Kalscheur K.F., 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* 86, 944–953.
- AbuGhazaleh A.A., Jenkins T.C., 2004. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci.* 87, 645–651.
- AbuGhazaleh A.A., Holmes L.D., 2007a. 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.* 90, 2897–2904.
- AbuGhazaleh A.A., Felton D.O., Ibrahim S.A., 2007b. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. *J. Dairy Sci.* 90, 4763–4769.
- AbuGhazaleh A.A., Potu R.B., Ibrahim S., 2009. The effect of substituting fish oil in dairy cow diets with docosahexaenoic acid-micro algae on milk composition and fatty acids profile. *J. Dairy Sci.* 92, 6156–6159.
- Albers R., van der Wielen R.P., Brink E.J., Hendriks H.F., Dorovska-Taran V.N., Mohede I.C., 2003. Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57, 595–603.
- Allen M.S., Bradford B.J., Harvatine K.J., 2005. The cow as a model to study food intake regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 25, 523–547.
- Ambrose D.J., Kastelic J.P., Corbett R., Pitney P.A., Petit H.V., Small J.A., Zalkovic P., 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in α -linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 89, 3066–3074.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Awaishah S.S., Haddadin M.S.Y., Robinson R.K., 2005. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. *Intern. Dairy J.* 15, 1184–1190.
- Bakuła T., Apoznański J., Obremski K., Iwaniuk Z., Gajęcki M., 2005. Skład chemiczny wybranych rybnych materiałów paszowych. *Med. Wet.* 61, 1061–1063.
- Bałaśińska B., Jank M., Kulasek G., 2010. Właściwości i rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt. *Życie Wet.* 85, 749–756.
- Ballou M.A., Gomes R.C., Juchem S.O., Depeters E.J., 2009. Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92, 657–669.

- Bargo F., Delahoy J.E., Baumgard L.H., Muller L.D., 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 226–240.
- Barłowska J., Litwińczuk Z., 2009. Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. *Med. Wet.* 65, 171–174.
- Bauman D.E., Baumgard L.H., Corl B.A., Griinari J.M., 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* Available at: www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf.
- Bauman D.E., Griinari J.M., 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23, 203–227.
- Bauman D.E., Perfield II J.W., Harvatine K.J., Baumgard L.H., 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *J. Nutr.* 138, 403–409.
- Baumgard L.H., Corl B.A., Dwyer D.A., Sæbø A., Bauman D.E., 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.* 278, 179–184.
- Beam S.W., Butler W.R., 1998. Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81, 121–131.
- Belury M.A., 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22, 505–531.
- Belury M.A., 2002. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. *J. Nutr.* 132, 2995–2998.
- Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G., 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* 17, 789–810.
- Bilby T.R., Jenkins T., Staples C.R., Thatcher W.W., 2006. Pregnancy, bST, and n-3 fatty acids in lactating dairy cows: III. Fatty acid distribution. *J. Dairy Sci.* 89, 3386–3399.
- Błasińska B., Jank M., Kulasek G., 2010. Właściwości i rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt. *Życie Wet.* 85, 749–756.
- Bobe G., Lindberg G.L., Freeman A.E., Beitz D.C., 2007. Composition of milk protein and milk fatty acids is stable for cows differing in genetic merit for milk production. *J. Dairy Sci.* 90, 3955–3960.
- Boeckaert C., Fievez V., Van Hecke D., Verstraete W., Boon N., 2007. Changes in rumen biohydrogenation intermediates and ciliate protozoa diversity after algae supplementation to dairy cattle. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 767–777.
- Boeckaert K., Morgavi D.P., Jouany J.P., Maignien L., Boon N., Fievez V., 2009. Role of the protozoan *Isotricha prostoma*, liquid-, and solid-associated bacteria in rumen biohydrogenation of linoleic acid. *Animal*, 3, 961–971.
- Brownbill R. A., Petrosian M., Ilich J. Z., 2005. Association between Dietary Conjugated Linoleic Acid and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *J. Am. Coll. Nutr.* 24, 177–181.
- Burdge G.C., Lupoli B, Russell J.J., Kew S., Banerjee T., Shingfield K.J., Beever D.E., Grimbale R.F., Williams C.M., Yaqoob P., Calder P.C., 2004. Incorporation of *cis*-9, *trans*-11 or *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid into plasma and cellular lipids in healthy men. *J. Lipid Research.* 45, 736–741.
- Butler W.R., 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83, 211–218.
- Caldari-Torres C., Rodriguez-Sallaberry C., Greene E.S., Badinga L. 2006. Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin $F_{2\alpha}$ production by bovine endometrial cells. *J. Dairy Sci.* 89, 971–977.
- Caroprese M., Marzano A., Marino R., Gliatta G., Muscio A., Sevi A., 2010. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. *J. Dairy Sci.* 93, 2580–2588.

- Carriquiry M., Weber W.J., Sanders S.R., Baumgard L.H., Crooker B.A., 2008. In vitro biohydrogenation of protected dietary fats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141, 339–355.
- Castañeda-Gutiérrez E., de Veth M.J., Lock A.L., Dwyer D.A., Murphy K.D., Bauman D.E., 2007. Effect of supplementation with calcium salts of fish oil on n-3 fatty acids in milk fat. *J. Dairy Sci.* 90, 4149–4156.
- Castañeda-Gutiérrez E., Pelton S.H., Gilbert R.O., Butler W.R., 2009. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. *Anim. Reprod. Sci.* 112, 301–315.
- Cerri R.L.A., Juchem S.O., Chebel R.C., Rutigliano H.M., Bruno R.G.S., Galvão K.N., Thatcher W.W., Santos J.E.P., 2009. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 1520–1531.
- Cheng Z., Robinson R.S., Pushpakumara P.G.A., Mansbridge R.J., Wathes D.C., 2001. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. *J. Endocrinol.* 171, 463–473.
- Childs S., Hennessy A.A., Sreenan J.M., Wathes D.C., Cheng Z., Stanton C., Diskin M.G., Kenny D.A., 2008. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology*, 70, 595–611.
- Chilliard Y., Ferlay A., Doreau M., 2001. Effect of different types of forages, 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.* 70, 31–48.
- Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J., Lamberet G., 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 86, 1751–1770.
- Chilliard Y., Glasser F., Ferlay A., Bernard L., Rouel J., Doreau M., 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lip. Sci. Tech.* 109, 828–855.
- Chouinard P.Y., Corneau L., Butler W.R., Chilliard Y., Drackley J.K., Bauman D.E., 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84, 680–690.
- Corl B.A., Baumgard L.H., Griinari J.M., Delmonte P., Morehouse K.M., Yurawecz M., Bauman D.E., 2002. *Trans-7, cis-9* CLA is synthesized endogenously by Δ 9-desaturase in dairy cows. *Lipids* 37, 681–688.
- Corl B.A., Barbano D.M., Bauman D.E., Ip C., 2003. *Cis-9, trans-11* CLA derived endogenously from *trans-11* 18:1 reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 133, 2893–2900.
- Couvreux S., Hurtaud C., Lopez C., Delaby L., Peyraud J.L., 2006. The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. *J. Dairy Sci.* 89, 1956–1969.
- Coyne G.S., Kenny D.A., Childs S., Sreenan J.M., Waters S.M., 2008. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter the expression of genes involved in prostaglandin biosynthesis in the bovine uterus. *Theriogenol.* 70, 772–782.
- 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., 2007. 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.* 90, 3786–3801.
- Dhiman T.R., Satter L.D., Pariza M.W., Galli M.P., Albright K., Tolosa M.X., 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83, 1016–1027.
- Dobrzański Z., Bykowski P., Iwaniuk Z., Usydus Z., Górecka H., Trziszka T., 2002. Evaluation of the chemical composition of fish oil : a by-product from fish processing plants. *Bull. Sea Fish. Inst.* 155, 39–46.

- Dunne L.D., Disken M.G., Sreenan J.M., 2000. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 39–44.
- Dymnicka M., Koziarowski M., 2007. Wpływ żywienia krów na skład, wartość dietetyczną i funkcjonalną mleka. *Prace Kom. Nauk Roln. Leśn. Wet.* 8, 43–55.
- Enjalbert F., Videau Y., Nicot M.C., Troegeler-Meynadier A., 2008. Effects of induced subacute ruminal acidosis on milk fat content and milk fatty acid profile. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92, 284–291.
- Ens J.G., Ma D.W.L., Cole K.S., Field C.J., Clandinin M.T., 2001. An assessment of c9, t11 linoleic acid intake in a small group of young Canadians. *Nutr. Res.* 21, 955–960.
- Fałkowska-Podstawka M., Wrona Z., Krakowski L., 2002. Biologiczna rola interferonu tau. *Med. Wet.* 58, 568–571.
- Fievez V., Dohme F., Danneels M., Raes K., Demeyer D., 2003. Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation in vitro and in vivo. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104, 41–58.
- Flowers G., Ibrahim S.A., AbuGhazaleh A.A., 2008. Milk Fatty Acid Composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. *J. Dairy Sci.* 91, 722–730.
- Fritsche J., Fritsche S., Solomon M.B., Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Morehouse K. Ku Y., 2000. Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 667–672.
- Glasser F., Doreau M., Ferlay A., Chilliard Y., 2007. Estimation of milk fatty acid yield from milk fat data. *J. Dairy Sci.* 90, 2302–2304.
- Grabowicz M., Dorszewski P., Szterk P., Mikołajczak J., Piłat J., 2004. Wpływ kiszonki z całych roślin ostropestu plamistego na przemiany metaboliczne krów w okresie okołoporodowym. *Med. Wet.* 60, 759–762.
- Grajeta H., 2004. Żywność funkcjonalna w profilaktyce chorób układu krążenia. *Adv. Clin. Exp. Med.* 13, 503–510.
- Grant M.H.J., Alexander B.M., Hess B.W., Bottger J.D., Hixon D.L., Van Kirk E.A., Nett T.M., Moss G.E., 2005. Dietary supplementation with safflower seeds differing in fatty acid composition differentially influences serum concentrations of prostaglandin F metabolite in postpartum beef cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 721–727.
- Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V., Bauman D.E., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta 9-desaturase. *J. Nutr.* 130, 2285–2291.
- Grummer R.R., 2008. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *Vet. J.* 176, 10–20.
- Heravi Moussavi A.R., Gilbert R.O., Overton T.R., Bauman D.E., Butler W.R., 2007a. Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on milk yield and metabolic responses in early lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 136–144.
- Heravi Moussavi A.R., Gilbert R.O., Overton T.R., Bauman D.E., Butler W.R., 2007b. Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on ovarian and uterine responses in early lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 145–154.
- Herzallah S.M., Humeid M.A., Al-Ismail K.M., 2005. Effect of heating and processing methods of milk and dairy products on conjugated linoleic acid and trans fatty acid isomer content. *J. Dairy Sci.* 88, 1301–1310.
- Hess B.W., Lake S.L., Scholljegerdes E.J., Weston T.R., Nayigihugu V., Molle J.D.C., Moss G.E., 2005. Nutritional controls of beef cow reproduction. *J. Anim. Sci.*, 83, E. Suppl. 90–106.
- Hözer B., Kirmaci H.A., 2010. Functional milks and dairy beverages. *Int. J. Dairy Technol.* 63, 1–15.

- Ip C., Banni S., Angioni E., Carta G., McGinley J., Thompson H. J., Barbano D., Bauman D., 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129, 2135–2142.
- Jatoi A., 2005. Omega-3 fatty acid supplements for cancer-associated weight loss. *Nutr. Clin. Pract.* 20, 394–399.
- Jensen R.G., 2002. The composition of bovine milk lipids. *J. Dairy Sci.* 85, 295–350.
- Jenkins T.C., Wallace R.J., Moate P.J., Mosley E.E., 2008. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86, 397–412.
- Juchem S.O., Santos J.E.P., Cerri R.L.A., Chebel R.C., Galvão K.N., Bruno R., DePeters E.J., Scott T., Thatcher W.W., Luchini D., 2008. Effect of calcium salts of fish and palm oils on lactational performance of Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 140, 18–38.
- Kay J.K., Mackle T.R., Auldist M.J., Thomsan N.A., Bauman D.E., 2004. Endogenous synthesis of *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87, 369–378.
- Kay J.K., Weber W.J., Moore C.E., Bauman D.E., Hansen L.B., Chester-Jones H., Crooker B.A., Baumgard L.H., 2005. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88, 3886–3893.
- Kelly M.L., Berry J.R., Dwyer D.A., Griinari J.M., Chouinard P.Y., Van Amburgh M.E., Bauman D.E., 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128, 881–885.
- Kelsey J.A., Corl B.A., Collier R.J., Bauman D.E., 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 2588–2597.
- Kepler C.R., Tove S.V., 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. 3. Purification and properties of a linoleate delta-12-*cis*, delta-11-*trans*-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 242, 5686–5692.
- Khanal R.C., Dhiman T.R., 2004. Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid (CLA): A Review. *Pakistan J. Nutr.* 3, 72–81.
- Kitessa S.M., Gulati S.K., Simos G.C., Ashes J.R., Scott T.W., Fleck E., Wynn P.C., 2004. Supplementation of grazing dairy cows with rumen-protected tuna oil enriches milk fat with n-3 fatty acids without affecting milk production or sensory characteristics *British J. Nutr.* 91, 271–277.
- Kołacz R., Korniewicz A., Dobrzański Z., Bykowski P., Kołacz D., Korniewicz D., 2004. Effect of dietary fish and rapeseed oils on sensory and physicochemical characteristics of pig *M. longissimus dorsi* and fatty acid composition. *J. Anim. Feed Sci.* 13, 143–152.
- Kolanowski W., 2007. Długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 – znaczenie w obniżaniu ryzyka chorób cywilizacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* XL, 229–237.
- Kołczak T., 2007. Jakość wołowiny. *Prace Komisji Nauk Roln. Leśnych Wet.* 8, 85–102.
- Korniewicz A., Dobrzański Z., Kołacz R., Korniewicz D., Bykowski P., 2002. Effect of dietary fish oil on fattening performance of pigs. *Ann. Anim. Sci.* 2, 159–170.
- Kritchevsky D., 2000. Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *Br. J. Nutr.* 83, 459–465.
- Kritchevsky D., Tepper S.A., Wright S., Tso P., Czarnecki S.K., 2000. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Am. Coll. Nutr.* 19, 472–477.
- Krzyżewski J., Jóźwik A., Bagnicka E., Strzałkowska N., Horbańczyk J.O., 2011. Pozyskiwanie mleka krów o podwyższonej wartości odżywczej z wysoką zawartością składników biologicznie czynnych. *Mat. Konf. XIX Szkoła Zimowa Hodowców Bydła. Zakopane*, 34–50.
- Kuniyasu H., Yoshida K., Sasaki T., Sasahira T., Fujii K., Ohmori H., 2006. Conjugated linoleic acid inhibits peritoneal metastasis in human gastrointestinal cancer cells. *Int. J. Cancer.* 118, 571–576.

- Kupczyński R., Szoltysik M., Kuczaj M., Janeczek W., Chládek G., 2008. The content of fatty acids in milk fat of cows of different breeds. *Chem. Agricult.* 9, 37–51.
- Kupczyński R., Szoltysik M., Janeczek W., Chrzanowska J., Kinal S., Króliczewska B., 2011. The effect of unprotected fish oil addition to diets for dairy cows on milk yield, fatty acids content and serum metabolic profile. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 95, 512–522.
- Lawless F., Murphy J.J., Harrington D., Devery R., Stanton C., 1998. Elevation of *cis*-9, *trans*-11-*oc*-tadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.* 81, 3259–3267.
- Leatherhead Food International, 2006. Health-related and functional foods show year-on-year growth. *Food News*, 40.
- Lin Y.T., 2003. Influence of lactic cultures, linoleic acid and fructo-oligosaccharides on conjugated linoleic acid concentration in non-fat set yoghurt. *Australian J. Dairy Techno.* 58, 11–14.
- Lipowski A., Wasilewicz-Niedbalska W., Patkowska-Sokoła B., Opolski A., Bodkowski, R. Wietrzyk J., Pelczyńska M., Nasulewicz A., Gwardiak H., Kwiatkowski J., 2003. In vitro anti-cancer properties of natural vs synthetic conjugated linoleic acid. *Animal Sci. Papers Reports.* 21, 47–55.
- Lock A.L., Bauman D.E., 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids.* 39, 1197–1206.
- Lock A.L., Horne A.A.M., Bauman D.E., Salter A.M., 2005. Butter naturally enriched in conjugated linoleic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamsters. *J. Nutr.* 135, 1934–1939.
- Loor J.J., Ueda K., Ferlay A., Chilliard Y., Doreau M., 2004. Diurnal 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.* 87, 2468–2471.
- Loor J. J., Doreau M., Chardigny J.M., Ollier A., Sebedio J.L., Chilliard Y., 2005a. 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.* 119, 227–246.
- Loor J.J., Ferlay A., Ollier A., Ueda K., Doreau M., Chilliard Y., 2005b. High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter *trans* and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk. *J. Dairy Sci.* 88, 3986–3999.
- Lopes C.N., Scarpa A.B., Cappellozza B.I., Cooke R.F., 2009. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. *J. Anim. Sci.* 87, 3935–3943.
- Lovegrove J.A., Brooks C.N., Murphy M.C., Gould B.J., Williams C.M., 1997. Use of manufactured foods enriched with fish oils as a means of increasing long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid intake. *British J. Nutr.* 78, 223–236.
- Martin-Diana A.B, Janer C., Pelaez C., Requena T., 2004. Effect of milk fat replacement by polyunsaturated fatty acids on the microbiological, rheological and sensorial properties of fermented milks. *J. Sci. Food Agricult.* 84, 1599–1605.
- Martin-Diana A.B, Janer C., Pelaez C., Requena T., 2004. Effect of milk fat replacement by polyunsaturated fatty acids on the microbiological, rheological and sensorial properties of fermented milks. *J. Sci. Food Agricult.* 84, 1599–1605.
- Mattos R., Staples C.R., Williams J., Amorochó A., McGuire M.A., Thatcher W.W., 2002. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *J. Dairy Sci.* 85, 755–764.
- Mattos R.A., Guzeloglu L., Badinga C.R., Staples, Thatcher W.W., 2003. Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon- τ modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F_{2a} and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A2 in bovine endometrial cells. *Biol. Reprod.* 69, 780–787.

- Mattos R., Staples C.R., Arteche A., Wiltbank M.C., Diaz F.J., Jenkins T.C., Thatcher W.W., 2004. The effects of feeding Fish oil on uterine secretion of PGF_{2α}, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87, 921–932.
- McCann S.E., Ip C., Ip M.M., McGuire M.K., Muti P., Edge S.B., Trevisan M., Freudenheim J.L., 2004. Dietary intake of conjugated linoleic acids and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer, Western New York Exposures and Breast Cancer Study (WEB Study). *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13, 1480–1484.
- McGuire M.A., McGuire M.K., 2000. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* 1999, <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0938.pdf>.
- Mensink R.P., 2005. Metabolic and health effects of isomeric fatty acids. *Curr. Opin. Lipidol.* 16, 27–30.
- Mikołajczak J., Podkówka L., Podkówka Z., Staszak E., 2005. Effects of endophyte infection of grasses on the chemical composition, quality and stability of silage. *Folia Biol. (Kraków)* 53, Suppl. 67–72.
- Mir P.S., McAllister T.A., Scott S., Aalhus J., Baron V., McCartney D., Charmley E., Goonewardene L., Basarab J., Okine E., Weselake R.J., Mir Z., 2004. Conjugated linoleic acid-enriched beef production. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, Suppl. 1207–1211.
- Moate P.J., Chalupa W., Boston R. C., Lean I.J., 2007. Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 90, 4730–4739.
- Moate P.J., Chalupa W., Boston R.C., Lean I.J., 2008. Milk fatty acids II: Prediction of the production of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 91, 1175–1188.
- Moallem U., Katz M., Arieli A., Lehrer H., 2007. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 3846–3856.
- Mosley E.E., McGuire M.K., Williams J.E., McGuire M.A., 2006. *Cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid is synthesized from vaccenic acid in lactating women. *J. Nutr.* 136, 2297–2301.
- Mosley E.E., Powell G.L., Riley M.B., Jenkins T.C., 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to *trans* isomers in vitro. *J. Lipid Res.* 43, 290–296.
- Mosley E.E., Shafii B., Moate P.J., McGuire M.A., 2006. *Cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. *J. Nutr.* 136, 570–575.
- Nałęcz-Tarwacka T., Kuczyńska B., Grodzki H., Słószarz J., 2009. Wpływ wybranych czynników na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego w mleku krów. *Med. Wet.* 65, 326–329.
- Nałęcz-Tarwacka T., Grodzki H., Kuczyńska B., Zdziarski K., 2009. Wpływ dawki pokarmowej na zawartość składników frakcji tłuszczowej mleka krów. *Med. Wet.* 65, 487–491.
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Nugent A.P., Roche H.M., Noone E.J., Long A., Kelleher D.K., Gibney M.J., 2005. The effects of conjugated linoleic acid supplementation on immune function in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59, 742–750.
- Or-Rashid M.M., Odongo N.E., McBride B.W., 2007. Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. *J. Anim. Sci.* 85, 1228–1234.
- Or-Rashid M.M., Wright T.C., McBride B.W., 2009. Microbial fatty acid conversion within the rumen and the subsequent utilization of these fatty acids to improve the healthfulness of ruminant food products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 1033–1043.
- Osborne V.R., Radhakrishnan S., Odongo N.E., Hill A.R., McBride B. W., 2008. Effects of supplementing fish oil in the drinking water of dairy cows on production performance and milk fatty acid composition. *J. Anim. Sci.* 86, 720–729.

- Overton T.R., Waldron M.R., 2004. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87, E suppl. 105–119.
- Palmquist D.L., Griinari J.M., 2006. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combinations of sunflower and fish oils in the diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 358–369.
- Parent J., Villeneuve C., Alexenko A.P., Ealy A.D., Fortier M.A., 2003. Influence of different isoforms of recombinant trophoblastic interferons on prostaglandin production in cultured bovine endometrial cells. *Biol. Reprod.* 68, 1035–1043.
- Pariza M.W., Hargraves W.A., 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogen.* 6, 591–593.
- Park H.S., Cho H.Y., Ha Y.L., Park J.H., 2004. Dietary conjugated linoleic acid increases the mRNA ratio of Bax/Bcl-2 in the colonic mucosa of rats. *J. Nutr. Biochem.* 15, 229–235.
- Park Y., Pariza M.W., 2001. The effects of dietary conjugated nonadecadienoic acid on body composition in mice. *Biochim. Biophys. Acta* 1533, 171–174.
- Park Y., McGuire M.K., Behr R., McGuire M.A., Evans M.A., Schulz T.D., 1999. High-fat dairy product consumption increases $\Delta 9c$, 11t-18:2 (rumenic acid) and total lipid concentrations of human milk. *Lipids* 34, 543–549.
- Park Y.W., Juárez M., Ramos M., Haenlein G.F.W., 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res.* 68, 88–113.
- Parodi P.W. 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.* 60, 1550–1553.
- Patkowska-Sokoła B., Wasilewicz-Niezbalska W., Bodkowski R., Różycki K., 2005. Tłuszcz mleczny jako źródło pozyskiwania bioaktywnych izomerów kwasu linolowego (CLA) i oleinowego (VA). *Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zoot.* T. 1, 193–201.
- Peterson D.G., Kelsey J.A., Bauman D.E., 2002. Analysis of variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 2164–2172.
- Petit H.V., Germiquet C., Lebel D., 2004. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3889–3898.
- Petridou A., Mougios V., Sagredos A., 2003. Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids* 38, 805–811.
- Pietinen P., Ascherio A., Korhonen P., Hartman A.M., Willett W.C., Albanes D., Virtamo J., 1997. Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. *Am. J. Epidemiol.* 145, 876–887.
- Pipero L.S., Sampugna J., Teter B.B., Kalscheur K.F., Yurawecz M.P., Ku Y., Morehouse K.M., Erdman R.A., 2002. Duodenal and milk *trans* octadecenoic 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.* 132, 1235–1241.
- Pipero L.S., Teter B.B., Bruckental I., Sampugna J., Mills S.E., 2000. 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.* 130, 2658–2674.
- Pisulewski P.M., 2000. Żywnościowe metody modyfikowania składu kwasów tłuszczowych w żywności pochodzenia zwierzęcego. *Przem. Spoż.* 10, 6–8.
- Prado F.C., Parada J.L., Pandey A., Soccol C.R., 2008. Trends in non-dairy beverages. *Food Res. Internat.* 41, 111–123.
- Quiroz-Rocha G.F., LeBlanc S.J., Duffield T.F., Jefferson B., Wood D., Leslie K.E., Jacobs R.M., 2010. Effect of sampling time relative to the first daily feeding on interpretation of serum fatty acid and β -hydroxybutyrate concentrations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93, 2030–2033.

- Raes K., de Smet S., Demeyer D., 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 113, 199–221.
- Reid G., Jass J., Sebulsky M.T., McCormick J.K., 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiol. Rev.* 16, 658–672.
- Ritzenthaler K.L., McGuire M.K., Falen R., Shultz T.D., Dasgupta N., McGuire M.A., 2001. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.* 131, 1548–1554.
- Roberfroid M.B., 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 1660–1664.
- Robinson R.S., Pushpakumara P.G.A., Cheng Z., Peters A.R., Abayasekara D.R.E., Wathes D.C., 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovaria and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124, 119–131.
- Rodriguez-Sallaberry C., Caldari-Torres C., Greene E.S., Badinga L., 2006. Conjugated linoleic acid reduced phorbol ester-induced prostaglandin $F_{2\alpha}$ production by bovine endometria cells. *J. Dairy Sci.* 89, 3826–3832.
- Sanders T.A.B., 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71, Suppl. 176–178.
- SAS, 2009. User's Guide. Version 9.0 Edition. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Scholljegerdes E. J., Lake S. L., Weston T. R., Rule D.C., Moss G.E., Nett T.M., Hess B.W., 2007. Fatty acid composition of plasma, medial basal hypothalamus, and uterine tissue in primiparous beef cows fed high-linoleate safflower seeds. *J. Anim. Sci.* 85, 1555–1564.
- Scientific Concepts of Functional Foods in Europe., 1999. Consensus Document. *Br. J. Nutr.* 81, 1–27.
- Senger P.L., 2003. Pathways to pregnancy and parturition. *Wyd. Current Conceptions.*
- Shingfield K., Ahvenjärvi S., Toivonen V., Ärölä A., Nurmela K.V.V., Huhtanen P., Griinari J., 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci.* 77, 165–179.
- Shingfield K.J., Reynolds C.K., Lupoli B., Toivonen V., Yurawecz M.P., Delmonte P., Griinari J.M., Grandison A.S., Beaver D.E., 2005. Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci.* 80, 225–238.
- Shingfield K.J., Reynolds C.K., Hervas G., Griinari J.M., Grandison A.S., Beaver D.E., 2006. 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.* 89, 714–732.
- Siebert B., Pitchford W., Kruk Z., Kuchel H., Deland M.B., Bottema C.K., 2003. Differences in delta9 desaturase activity between Jersey- and Limousin-sired cattle. *Lipids* 38, 539–543.
- Simopoulos A.P., Leaf A., Salem N., 1999. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metab.* 43, 127–130.
- Simopoulos A.P., 2008. The Importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* 233, 674–688.
- Skrzypek R., 1999. Wpływ tłuszczu zawartego w pokarmie na zdrowotność konsumenta, znaczenie tłuszczu mleka krowiego i wołowiny. *Fundacja Ratowania Fauny i Flory Karpat i Podkarpacia.* Kraków, 246–269.
- Stillwell W., Shaikh S.R., Zerouga M., Siddiqui R., Wassall S.R., 2005. Docosahexaenoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 559–579.

- Strzetelski J. red., 2009. IZ PIB-INRA. Normy żywienia przeżuwaczy. Wartość pokarmowa francuskich i krajowych pasz dla przeżuwaczy. Wyd. IZ PIB Kraków.
- Szumacher-Strabel M., 2005. Wpływ dodatku tłuszczów do dawek pokarmowych dla owiec kóz na zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w płynie żwaczowym i mleku, ze szczególnym uwzględnieniem izomerów sprzężonego kwasu linolowego. Roczn. AR w Poznaniu. Rozprawy Nauk. 365.
- Szulc T., Szarek J., Bulla J., 2011. Tajemnice mleka. Mat. Konf. XIX Szkoła Zimowa Hodowców Bydła. Zakopane, 17–28.
- Tanaka K., 2005. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Anim. Sci. J.* 76, 291–303.
- Tavani A., Franceschi S., Levi F., La Vecchia C., 2005. Fish, omega-3 polyunsaturated fat intake and cancer at selected sites. *World Rev. Nutr. Diet.* 94, 166–175.
- Theurer M. L., Block E., Sanchez W.K., McGuire M.A., 2009. Calcium salts of polyunsaturated fatty acids deliver more essential fatty acids to the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 92, 2051–2056.
- Toral P. G., Frutos P., Hervás G., Gómez-Cortés P., Juárez M., de la Fuente M.A., 2010. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 93, 1604–1615.
- Turpeinen A.M., Mutanen M., Aro A., Salminen I., Basu S., Palmquist D.L., Griinari J.M., 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 504–510.
- Usyduś Z., Bykowski P., Dobrzański Z., 2004. Variability of the composition of fish oil depending on fish species and extraction conditions. *Chem. Agric.* 5, 363–371.
- Usyduś Z., Polak-Juszczak L., Dobrzański Z., Malesa-Ciećwierz M., 2007. Study on the nutritive value of raw fish oils. *Pol. J. Food Nutri. Sci.* 57, 593–596.
- Voorrips L.E., Brants H.A.M., Kardinaal A.F.M., Hiddink G.J., van den Brandt P.A., Goldbohm R.A., 2002. Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands cohort study on diet and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 873–882.
- Wathes D.C., Abayasekara D.R.E., Aitken R.J., 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol. Reprod.* 77, 190–201.
- White S.L., Bertrand J.A., Wade M.R., Washburn S.P., Green J.T.Jr., Jenkins T.C., 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84, 2295–2301.
- Whitlock L.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Kalscheur K.F., Baer R.J., Ramaswamy N., Kasperson K.M., 2002. 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.* 85, 234–243.
- Whitlock L.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Kalscheur K.F., AbuGhazaleh A.A., 2003. Milk production and composition from cows fed high oil or conventional corn at two forage concentrations. *J. Dairy Sci.* 86, 2428–2437.
- Whitlock L.A., Schingoethe D.L., AbuGhazaleh A.A., Hippen A.R., Kalscheur K.F., 2006. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. *J. Dairy Sci.* 89, 3972–3980.
- Winnicka A., 2008. Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW. Warszawa.
- Xu S., Bolyston T.D., Glatz B.A., 2005. Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *J. Agricult. Food Chem.* 53, 9064–9072.

- Xu S., Boylston T.D., Glatz B.A., 2006. Effect of inoculation level of *Lactobacillus rhamnosus* and yogurt cultures on conjugated linoleic acid content and quality attributes of fermented milk products. *J. Food Sci.* 71, 275–280.
- Zachut M., Dekel I., Lehrer H., Arieli A., Arav A., Livshitz L., Yakoby S., Moallem U., 2010. 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.* 93, 529–545.
- Ziemiański S., 1997. Tłuszcze w żywieniu człowieka. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm.* XXIV, 35–47.
- Zymon M., Strzetelski J., Kowalczyk J., Osieglowski S., 2007. Wpływ olejów roślinnych i oleju rybnego na użytkowość mleczną krów i skład tłuszczu mleka. *Rocz. Nauk. Zoot.* 23, 69–72.

Influence of fish oil on fatty acids profile of milk, biochemical parameters of blood and productive coefficients in dairy cows

Summary

The aim of the study was as assessment of an influence of fish oils used in dairy cows diet in first period of lactation on production parameters, fatty acids content in milk fat, biochemical blood parameters, reproduction indices and $\text{PGF}_{2\alpha}$ secretion.

The study was conducted on 64 dairy cows of Polish Holstein-Friesian breed of black-white variety. Three experiments were conducted. Unprotected fish oils (herring-sprat, cod liver) and protected oils (salmon, cod liver) were used in particular experiments. Fish oils were added to TMR dose in amount of 1% dry matter for 8 weeks starting from 1st week of lactation. In all the experiments, blood samplings for biochemical analyses and milk samplings for analyses of composition and fatty acids profile were conducted before the beginning of the experiment (1st week of lactation) and after 4 and 8 weeks of fatty supplements administration to cows. Also cows condition using BCS method, milk field and individual feed intake were assessed, and in experiment III energy balance (EB) as well. In experiments I and II cows fertility was analysed basing on selected reproduction indices. In experiment III, 60 days *post partum* in cows from the control group and those receiving protected fish oil from cod liver, clinical examinations of reproduction organs and ultrasonographic examination of uterus and ovaries were conducted. Oestrus synchronization according to Ovsynch programme was conducted. At 15th day of the cycle each cows received *i.v.* 100 IU of oxytocin in order to induce $\text{PGF}_{2\alpha}$ secretion (yellow body luteolysis). The procedure used aimed at an assessment of an influence of EPA and DHA acids on reduction of $\text{PGF}_{2\alpha}$ secretion.

Supplementation of fish oil to TMR doses of cows at the first period of lactation, especially in a protected form, contributes to increased dry matter intake. Protected oil from cod liver improved concurrently energy balance. No clear influence of fatty supplements used on cows condition was observed. Higher yield of cows receiving protected oils, and also unprotected ones (herring-sprat oil) was noted. An increase in protein content in cows milk was observed after an application of protected fish oil, especially after salmon oil supplementation. Unprotected herring-sprat oil caused a decrease in that parameter content in milk. Application of fish oil in high-yielding cows feeding may be connected to decrease in fat content in milk, especially when used in an unprotected form.

Various fish oils supplemented to cows caused an increase in long-chain (> C17) fatty acids content in milk fat, with a decrease in short-chain (C4:0–C12:0) acids content. Only herring-sprat oil did not influence short-chain fatty acids content. It was observed that irrespectively on fish oil kind, it significantly ($P \leq 0.01$) influences an increase in TVA and *cis*-9, *trans*-11 CLA concentration in milk fat. Mean content of that isomer was 1.89 g/100 g of fat (unprotected herring-sprat oil), 1.78 g/100 g of fat (protected salmon oil), 1.98 g/100 g of fat (unprotected cod liver oil) and 1.94 g/100 g of fat (protected cod liver oil). Fish oils used influenced also a distinct increase in acids from n-3 family (EPA and DHA) in milk fat. The highest increase in EPA and DHA acids content was noted after an application of microcapsules containing cod liver oil, of 0.62 and 0.47 g/100 g of fat, respectively.

An application of fish oils caused an increase in triglycerides content in blood serum. Supplementation of a diet with PUFA n-3 positively affects cholesterol synthesis. Fish oil (especially protected one) may also influence positively maintenance of glucose homeostasis at a peak of cows lactation.

The values of reproduction indices of cows were more profitable in the groups receiving particular fish oils, however these was not confirmed statistically. No influence on protected fish oil supplementation on prostaglandins F_{2a} (PGFM) secretion during induced yellow body luteolysis (oxitacin injection) was noted.

Key words: dairy cows, fish oil, conjugated linoleic acid (CLA), metabolism, reproduction

Wpływ olejów rybnych na profil kwasów tłuszczowych w mleku, parametry biochemiczne krwi oraz wskaźniki produkcyjne krów mlecznych

Streszczenie

Celem badań była ocena wpływu olejów rybnych stosowanych w dawkach pokarmowych krów mlecznych w pierwszym okresie laktacji na parametry produkcyjne, zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka, parametry biochemiczne krwi, wskaźniki rozrodu oraz sekrecję $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Badania wykonano na 64 krowach mlecznych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Przeprowadzono 3 doświadczenia. W poszczególnych eksperymentach użyto olejów rybnych niechronionych (śledziowo-szprotowy, z wątroby dorsza) oraz olejów chronionych (z łososia, z wątroby dorsza). Oleje rybne dodawano do dawki TMR w ilości 1% suchej masy, począwszy od 1. tygodnia laktacji przez 8 tygodni. We wszystkich doświadczeniach pobrania krwi do badań biochemicznych i mleka do analiz składu i profilu kwasów tłuszczowych wykonano przed rozpoczęciem eksperymentu (1. tydzień laktacji) oraz po 4 i 8 tygodniach podawania krowom dodatków tłuszczowych. Oceniano również kondycję krów metodą BCS, wydajność mleka oraz indywidualne pobranie paszy, a w doświadczeniu III także bilans energii (EB). W doświadczeniu I i II przeanalizowano płodność krów na podstawie wybranych wskaźników rozrodu. W eksperymencie III 60 dni *post partum* u krów grupy kontrolnej i otrzymującej chroniony olej rybny z wątroby dorsza wykonano badania kliniczne narządów rodnych oraz ultrasonograficzne badanie macicy i jajników. Przeprowadzono synchronizację rui wg programu Ovsynch. W 15. dniu cyklu każdej krowie podano *i.v.* 100 IU oksytocyny w celu indukcji wyrzutu $\text{PGF}_{2\alpha}$ (luteoliza ciała żółtego). Zastosowana procedura służyła ocenie wpływu kwasów EPA i DHA na redukcję sekrecji $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Podawanie krowom oleju rybnego do dawek pokarmowych TMR w pierwszym okresie laktacji, zwłaszcza w postaci chronionej, przyczynia się do większego pobrania suchej masy. Olej chroniony z wątroby dorsza poprawiał jednocześnie bilans energii. Nie stwierdzono wyraźnego wpływu zastosowanych dodatków tłuszczowych na kondycję krów. Odnotowano wyższą wydajność krów otrzymujących oleje chronione, jak również niechronione (olej śledziowo-szprotowy). Stwierdzono wzrost zawartości białka w mleku krów po zastosowaniu chronionego oleju rybnego, zwłaszcza przy suplementacji oleju z łososia. Niechroniony olej śledziowo-szprotowy spowodował spadek zawartości tego parametru w mleku. Zastosowanie oleju rybnego w żywieniu krów wysoko wydajnych może wiązać się ze spadkiem zawartości tłuszczu w mleku, szczególnie przy zastosowaniu postaci niechronionej.

Stosowanie w żywieniu krów różnych olejów rybnych spowodowało wzrost zawartości w tłuszczu mleka kwasów długołańcuchowych ($> C17$), przy obniżeniu zawartości kwasów krótkołańcuchowych ($C4:0-C12:0$). Jedynie olej śledziowo-szprotowy nie miał wpływu na zawartość kwasów krótkołańcuchowych. Stwierdzono, że bez względu na rodzaj oleju rybnego wpływa on w istotny ($P \leq 0,01$) sposób na wzrost koncentracji TVA i *cis*-9, *trans*-11 CLA w tłuszczu mleka. Średnia zawartość tego izomeru wyniosła 1,89 g/100 g tłuszczu (niechroniony olej śledziowo-szprotowy), 1,78 g/100 g tłuszczu (chroniony olej z łososia), 1,98 g/100 g tłuszczu (niechroniony olej z wątroby dorsza) oraz 1,94 g/100 g tłuszczu (chroniony olej z wątroby dorsza). Zastosowane oleje rybne wpłynęły również na wyraźny wzrost zawartości w tłuszczu mleka kwasów z rodziny n-3 (EPA i DHA). Największy wzrost kwasów EPA i DHA stwierdzono po zastosowaniu mikrokapsulek oleju z wątroby dorsza, odpowiednio 0,62 i 0,47 g/100 g tłuszczu.

Stosowanie olejów rybnych spowodowało wzrost stężenia triglicerydów w surowicy krwi. Suplementacja dawek pokarmowych PUFA n-3 ma pozytywny wpływ na syntezę cholesterolu. Olej rybny (zwłaszcza chroniony) może mieć również korzystny wpływ na zachowanie homeostazy glukozy w szczycie laktacji krów.

Wartości wskaźników rozrodu krów kształtowały się korzystniej w grupach otrzymujących poszczególne oleje rybne, jednak nie potwierdzono tego statystycznie. Nie zano- towano wpływu suplementacji chronionego oleju rybnego na sekrecję prostaglandyn $F_{2\alpha}$ (PGFM) podczas indukowanej luteolizy ciała żółtego.

Słowa kluczowe: krowy mleczne, olej rybny, skoniugowany kwas linolowy (CLA), EPA, DHA, metabolizm, rozród