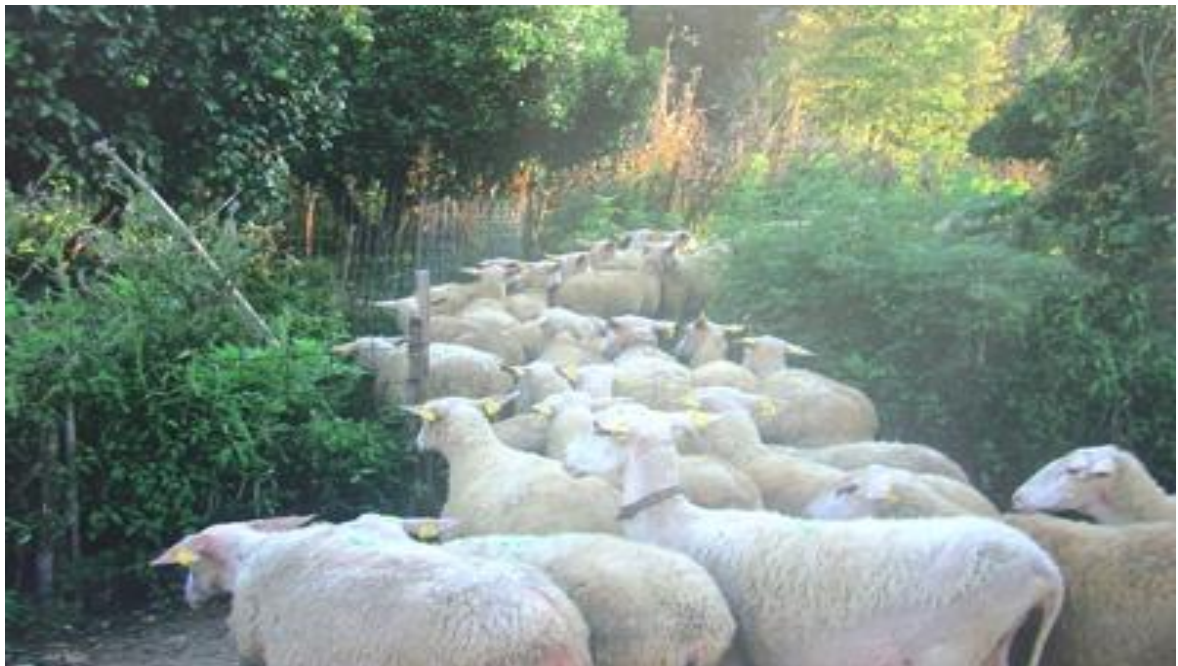


ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΙΤΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΥΠΕΡΣΙΤΙΣΜΟΥ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ
ΟΞΕΩΝ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟ ΟΡΜΟΝΙΚΟ
ΠΡΟΦΙΛ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ

ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ Γ. ΠΑΠΑΕΥΣΤΑΘΙΟΥ



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΙΤΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΥΠΕΡΣΙΤΙΣΜΟΥ ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ
ΟΞΕΩΝ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟ ΟΡΜΟΝΙΚΟ
ΠΡΟΦΙΛ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ

ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ Γ. ΠΑΠΑΕΥΣΤΑΘΙΟΥ

Εξεταστική Επιτροπή:

Ζέρβας Γ. Καθηγητής

Φεγγερός Κ. Καθηγητής

Χαδιώ-Μάντζαρη Σ. Αν. Καθηγήτρια

Αθήνα, Οκτώβριος 2011

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή του εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως & Διατροφής κ.Ζέρβα Γεώργιο για την επιστημονική καθοδήγηση και την άριστη συνεργασία επί σειρά ετών. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην λέκτορα του ιδίου εργαστηρίου κ.Τσιπλάκου Ελένη για την βοήθεια της καθ'όλη την διάρκεια της πειραματικής μελέτης.

Επιπροσθέτως, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τους κ. Παπαδομιχελάκη Γεώργιο, κ.Μουντζούρη Κωνσταντίνο, κ.Ζωΐδη Ευάγγελο και τον κ.Πετρόπουλο Χρήστο για την σημαντική συμβολή τους σε διάφορες επεμβάσεις και διαδικαστικά θέματα που είχαν να κάνουν με την αποτελεσματική ολοκλήρωση της πειραματικής μελέτης.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συναδέλφους μου κ.Χρυσολούρη Χαρίκλεια και κ.Τζουβάνου Αλεξάνδρα που μοιραστήκαμε τις ίδιες αγωνίες και την ίδια κούραση κατά την διάρκεια της πειραματικής μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω το εργασιακό μου περιβάλλον για την στήριξη που μου παρείχε για την επίτευξη αυτού του στόχου μου.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την μεταπτυχιακή μου μελέτη στην οικογένεια μου και τους φίλους μου που με την ηθική τους υποστήριξη με βοήθησαν σημαντικά. Κυρίως όμως, θα ήθελα από τα βάθη της καρδιάς μου να ευχαριστήσω τους συναδέλφους και φίλους μου κ.Πουλοπούλου Ιωάννα , διδάκτορα του ΓΠΑ και τον κ.Τσοπελάκο Αριστείδη, υποψήφιο διδάκτορα του ΓΠΑ, για την αμέριστη συμπαράστασή τους και την έμπρακτη βοήθεια τους.

Σας ευχαριστώ όλους θερμά....

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	10
1.1 Επίδραση της διατροφής στη συγκέντρωση του λίπους του γάλακτος	11
1.2 Ρόλος και σύνθεση των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος	13
1.3 Ρόλος του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στη διατροφή των ζώων.....	16
1.4 Ορμόνες : Λεπτίνη - Ινσουλίνη	18
1.5. Ενεργότητα της Δ9 αφυδρογονάσης	20
2. Υλικά και Μέθοδοι	21
2. 1.Σκοπός του πειράματος	21
2.2 Πειραματικός σχεδιασμός	21
2.3.Πειραματικές περίοδοι.....	22
2.3.1 Προπειραματική περίοδος.....	22
2.3.2 Κύρια Πειραματική Περίοδο	23
2.4 Μέτρηση ύψους γαλακτοπαραγωγής και σωματικού βάρους των προβάτων	24
3. Αναλύσεις	25
3.1 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στις ζωοτροφές	25
3.1.1 Παραλαβή λίπους ζωοτροφών	25
3.2 Δειγματοληψία και αναλύσεις στο πλάσμα του αίματος των προβάτων για το προσδιορισμό των λιπαρών οξέων	25
3.2.1 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στο πλάσμα του αίματος των προβάτων	26
3.3. Δειγματοληψία και αναλύσεις στο πλάσμα του αίματος των προβάτων για το προσδιορισμό ορμονών (ινσουλίνης, λεπτίνης).....	26
3.3.1 Προσδιορισμός ορμονών (ινσουλίνης, λεπτίνης) στο πλάσμα του αίματος των προβάτων	27
3.4. Δειγματοληψία και αναλύσεις στο λίπος του γάλακτος των προβάτων για τον προσδιορισμό του προφίλ των λιπαρών οξέων	28
3.4.1 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος των προβάτων	28
3.4.2 Μεθυλεστεροποίηση του λίπους του γάλακτος των προβάτων.....	29
3.5. Ομαδοποιήσεις λιπαρών οξέων του γάλακτος,αθρωματικός δείκτης και έμμεσος προσδιορισμός της Δ-9 αφυδρογονάσης.....	29
4. Στατιστική ανάλυση.....	30

5. Αποτελέσματα.....	31
5.1. Σωματικό βάρος προβάτων	31
5.2. Ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος.....	32
5.3. Χημική σύσταση γάλακτος	34
5.3.1 Λίπος	34
5.3.2 Λακτόζη.....	35
5.3.3 Πρωτεΐνη	37
5.3.4 Ολικά στερεά.....	38
5.3.5 Ολικά στερεά άνευ λίπους.....	40
5.4. Λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των προβάτων	42
5.5 Λιπαρά οξέα του αίματος του γάλακτος των προβάτων	49
5.6. Ινσουλίνη - Λεπτίνη	52
6. Συζήτηση	53
Βιβλιογραφία.....	59

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του επιπέδου διατροφής (υπό – και υπερ - σιτισμού) στη χημική σύσταση του γάλακτος των προβάτων, στο προφίλ των λιπαρών οξέων (ΛΟ) του πλάσματος του αίματος και του λίπους του γάλακτος των προβάτων, καθώς και στη συγκέντρωση των ορμονών λεπτίνης και ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος των προβάτων. Για τη μελέτη των παραπάνω παραμέτρων διεξήχθη πείραμα με 24 γαλακτοπαραγωγά πρόβατα φυλής Άρτας ηλικίας 3 ετών, 3 μήνες μετά τον τοκετό. Τα πρόβατα χωρίστηκαν σε 3 ισοδύναμες ομάδες με βάση το σωματικό τους βάρος και το ύψος της γαλακτοπαραγωγής τους. Η ομάδα Α (υποσιτισμός) κάλυπτε το 70 % των αναγκών των ζώων σε ενέργεια και ολικές αζωτούχες ουσίες, η ομάδα Β (μάρτυρας) το 100 % των αναγκών και η ομάδα Γ (υπερσιτισμός) το 130 % των αναγκών τους σε ενέργεια και ολικές αζωτούχες ουσίες. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης χορηγήθηκε το ίδιο σιτηρέσιο και στις 3 ομάδες, αλλά σε διαφορετική ποσότητα στην κάθε ομάδα ώστε να καλύπτεται το 70, 100 και 130% των αναγκών αντίστοιχα. Σε εβδομαδιαία περίπου βάση πραγματοποιήθηκαν ζυγίσεις των ζώων και γαλακτομετρήσεις, βάσει των οποίων γινόταν σταδιακή προσαρμογή της χορηγούμενης ποσότητας τροφής στα προσφερθέντα ποσοστά. Ο σανός μηδικής και το μίγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών, που αποτελούσαν το σιτηρέσιο, ήταν σε αναλογία 50/50 και προέρχονταν από την ίδια παρτίδα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου.

Από την ανάλυση των δειγμάτων και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι στο λίπος του γάλακτος των προβάτων που υποσιτίζονταν παρουσιάστηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα λιπαρά οξέα C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, VA, LA, LNA σε σχέση με το λίπος του γάλακτος των προβάτων της ομάδας του μάρτυρα και του υπερσιτισμού, ενώ το C_{18:0} ΛΟ προσδιορίστηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο λίπος του γάλακτος των προβάτων που διατρέφονταν με χαμηλότερο επίπεδο διατροφής σε σχέση με τις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού. Επίσης, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων (MA) και των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MONA) στα ζώα που υποσιτίζονταν σε σχέση με αυτά που υπερσιτίζονταν. Αντίθετα, τα μικρής (MIA) και μεσαίας αλύσου (MEA) λιπαρά οξέα παρουσιάστηκαν

σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα ζώα που υποσιτίζονταν, σε σχέση με τα ζώα του μάρτυρα και αυτά που υπερσιτίζονταν.

Στο πλάσμα του αίματος των προβάτων τα λιπαρά οξέα οξέα $C_{18:0}$ και $C_{18:1}$ παρουσίασαν στατιστικώς υψηλότερες συγκεντρώσεις στην ομάδα του υποσιτισμού, ενώ τα λιπαρά οξέα $C_{18:2n6c}$ και $C_{18:3n6}$ χαμηλότερες στην ίδια ομάδα ζώων σε σχέση με τις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού.

Σχετικά με τη λεπτίνη και την ινσουλίνη προσδιορίστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στην ομάδα του υπερσιτισμού σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα και του υπερσιτισμού και στις δύο περιπτώσεις.

Συμπερασματικά, το επίπεδο διατροφής (υπο- και υπερ- σιτισμός) επηρεάζει το σωματικό βάρος των προβάτων, τη μέση παραγόμενη ποσότητα και χημική σύσταση του γάλακτος των προβάτων, το προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος και του πλάσματος του αίματος, καθώς και τη συγκέντρωση της ινσουλίνης και της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος των προβάτων. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση του $C_{18:0}$ λιπαρού οξέος θα μπορούσε να αποτελέσει έναν καλό δείκτη του επιπέδου διατροφής των προβάτων.

SUMMARY

The aim of the present study was to determine the effect of feeding level (under - and over nutrition) on sheep's milk chemical composition, (LO) the fatty acids profile in blood plasma and in the fat of sheep's milk, as well as in the concentration of hormones leptin and insulin in the blood plasma. To study the above mentioned parameters an experiment with 24 lactating, Arta breed, 3-year-old, 3-month post partum, ewes was carried out. The sheep were divided into 3 equivalent groups in terms of body weight (BW) and milk yield. Group A (malnutrition) covered 70% of animal's requirements for energy and crude protein, group B (control) covered 100% of their daily needs and group C (overfeeding) 130% of their requirements. During the experimental study all groups were fed the same ration, but in different quantities so that they covered 70, 100 and 130% of the needs respectively. Every week the ration of the three groups were adjusted according to their requirements based on the changes recorded on their BW and milk yield. The ration consisted of alfalfa hay and concentrates with a forage/ concentrate ratio = 50/50 from the same lot during the experimental period.

The analysis of the fatty acid profile of sheep's milk showed that at the underfed animals the concentrations of fatty acids C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, VA, LA, LNA were lower than the control group and the overfeeding group, while the C_{18:0} FA was determined in higher concentrations in the overfeeding group than in control and overfeeding groups. Higher concentration of long chain fatty acids (LCFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) were observed to the underfed sheep compared to the overfed animals. On the contrary, small (SCFA) and medium (MCFA) chain fatty acids were determined in lower concentrations in the underfed sheep than in the control and overfed ones.

In the blood plasma, the fatty acids C_{18:0} and C_{18:1} were determined statistically significant higher concentrations in the group of malnutrition, while the fatty acids C_{18:2n6c} and C_{18:3n6} were lower at the same group of animals than in the control and at the overfeeding group.

Regarding leptin and insulin higher concentrations of both hormones determined at the overfeeding group of animals compared to the control and overfeeding group in both cases.

In conclusion, the level of diet (under and over feeding) influences the body weight of the sheeps, milk yield and chemical composition of the sheep's milk, the profile of fatty acids in the milk and in the blood plasma, as well as the concentration of insulin and leptin. Moreover, the significant increase of C_{18:0} fatty acid in the milk fat of the underfed animals could possibly be a good indicator of the feeding level.

1. Εισαγωγή

Ο στόχος της Κοινής Αγροτικής Πολιτικής της Ευρωπαϊκής Ένωσης τη δεκαετία του 1970 ήταν η αύξηση της παραγωγής ζωικών προϊόντων (γάλα, κρέας, αυγά) με ταυτόχρονη αύξηση της παραγωγικότητας των ζώων που επετεύχθη με τη συνδυασμένη προσπάθεια της Γενετικής Βελτίωσης και της Διατροφής. Έτσι, στις δεκαετίες που ακολούθησαν παρατηρήθηκε η μέγιστη έκπτυξη του παραγωγικού δυναμικού των ζώων με την καλύτερη δυνατή μετατρεψιμότητα της τροφής, με αποτέλεσμα τα κτηνοτροφικά προϊόντα να είναι χαμηλού κόστους και προσιτά στον καταναλωτή.

Οι εκτρεφόμενες φυλές αιγοπροβάτων παλαιότερα ήταν αποκλειστικά εγχώριες, λιτοδίαιτες, ανθεκτικές, υψηλής προσαρμοστικότητας, μικρού σωματικού βάρους και χαμηλής παραγωγικότητας (χαμηλή πολυδυμία, μικρή γαλακτοπαραγωγή, χαμηλός ρυθμός ανάπτυξης). Η χαμηλή παραγωγικότητα των ζώων αυτών δεν οφειλόταν μόνο στο περιορισμένο γενετικό δυναμικό της φυλής αλλά και στην ελλιπή και μη ισόρροπη διατροφή τους, συνέπεια της οποίας ήταν η εκδήλωση μεταβολικών νόσων στα ενήλικα και η υψηλή θνησιμότητα στα νεογνά. Την εποχή εκείνη η διατροφή των ζώων ήταν καθαρά εμπειρική και στηριζόταν κυρίως στην βοσκή, η οποία κάλυπτε το μεγαλύτερο ποσοστό των αναγκών τους σε ενέργεια και θρεπτικά συστατικά, ενώ το υπόλοιπο καλυπτόταν από δημητριακούς καρπούς, σπέρματα ψυχανθών και υπολείμματα καλλιεργειών. Η οικονομική δυσχέρεια των κτηνοτρόφων σε συνδυασμό με το χαμηλό τους μορφωτικό επίπεδο, αλλά και οι περιορισμένες επιστημονικές γνώσεις όσον αφορά στην διατροφή των ζώων, δεν επέτρεπαν την επαρκή και ισόρροπη διατροφή τους. Έτσι λοιπόν τα ζώα όχι μόνο δεν είχαν τη δυνατότητα να εκπτύξουν το παραγωγικό τους δυναμικό (πολυδυμία, γαλακτοπαραγωγή, ρυθμός ανάπτυξης νεογνών), αλλά ο κατά περιόδους υποσιτισμός προκαλούσε βλάβες στην υγεία τους, λόγω της πενίας των θρεπτικών συστατικών καθώς και της μειωμένης λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού.

Είναι γενικά παραδεκτό ότι η βελτίωση της ελληνικής κτηνοτροφίας καθώς και η ανάπτυξή της σε επιχειρηματικό πλέον επίπεδο ξεκίνησε μετά τον τελευταίο παγκόσμιο πόλεμο. Η αιγοπροβατοτροφία σήμερα αποτελεί το

σημαντικότερο κομμάτι της κτηνοτροφικής παραγωγής στην Ελλάδα. Αν και ο αριθμός των εκτρεφόμενων ζώων παραμένει σχετικά σταθερός, η παραγόμενη ποσότητα γάλακτος έχει τουλάχιστον διπλασιαστεί. Το σύστημα εκτροφής των αιγοπροβάτων γίνεται όλο και εντατικότερο, με τη βοσκή να καλύπτει το 30-40 % των μέσων ετήσιων ενεργειακών αναγκών των ζώων, ενώ το υπόλοιπο καλύπτεται με συμπληρωματική διατροφή από συμπυκνωμένες και συγκομισθείσες χονδροειδείς ζωοτροφές, εξασφαλίζοντας ένα ισόρροπο και ορθολογικό σιτηρέσιο.

Αποτέλεσμα όλων αυτών ήταν η ανάπτυξη των **ΕΝΤΑΤΙΚΩΝ** συστημάτων εκτροφής γαλακτοπαραγωγών αιγοπροβάτων, που είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της παραγόμενης ποσότητας και ποιότητας του γάλακτος και τη σημαντική βελτίωση των συνθηκών διαχείρισης των ζώων. Αποτέλεσμα της αυξημένης παραγωγικότητας είναι η μείωση του κόστους παραγωγής (άρα και η τιμή διάθεσης των κτηνοτροφικών προϊόντων) όπου σε συνδυασμό με τη βελτίωση του βιοτικού επιπέδου των καταναλωτών προκάλεσε αύξηση της καταναλισκόμενης ποσότητας γάλακτος. Το γεγονός αυτό έχει θετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου εξαιτίας της κατανάλωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχονται στο λίπος του γάλακτος.

1.1 Επίδραση της διατροφής στη συγκέντρωση του λίπους του γάλακτος

Λόγω του αυξημένου ενδιαφέροντος των καταναλωτών για την ποιότητα των αγαθών που καταναλώνουν, έχει δοθεί μεγάλη έμφαση σε χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την ασφάλεια των τροφίμων, την υγιεινή και τη θρεπτική αξία τους.

Ειδικά τα τελευταία χρόνια ο ρόλος του γάλακτος στη διατροφή του ανθρώπου είναι ιδιαίτερα σημαντικός παρέχοντας στους καταναλωτές χρήσιμα θρεπτικά συστατικά. Έτσι οι απαιτήσεις και οι προτιμήσεις των καταναλωτών διαφοροποιούνται ανάλογα με τις ανάγκες τους, στα εξής :

- Να είναι χαμηλής λιποπεριεκτικότητας,
- Να έχει την επιθυμητή αναλογία λιπαρών οξέων, δηλαδή λιγότερα κορεσμένα, λιγότερα trans και περισσότερα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα,
- Να έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε ω-3 λιπαρά οξέα και λινελαϊκό οξύ (CLA) και
- Να είναι εμπλουτισμένο με φυσικές αντιοξειδωτικές ουσίες από φυτικά εκχυλίσματα.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η διατροφή παίζει σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων των μηρυκαστικών όπως μελετήθηκε, με ιδιαίτερη έμφαση σε βοοειδή (Jensen, 2002), αίγες (Chilliard et al. 2003) πρόβατα (Bocquier and Caja 2001). Ειδικά η διατροφική διαχείριση των βοσκοτόπων φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το προφίλ των Λ.Ο. των προϊόντων που έχουν συνδεθεί με αυτά (Martin et al. 1999, Tsiplakou and Zervas 2008). Η βοσκή είναι πλούσια σε λινολενικό οξύ (C_{18:ω3}, cis-9,cis-12,cis-15), ενώ η διαφορετική βοτανική της σύνθεσης ή το διαφορετικό βλαστικό στάδιο του φυτού, επηρεάζει την αναλογία των Λ.Ο του λίπους του γάλακτος. Για παράδειγμα χωρίς την άνοιξη (νεαρό βλαστικό στάδιο) η βοσκή περιέχει λινολενικό οξύ σε ποσοστό πάνω από 40 % των ολικών λιπαρών οξέων, ενώ στο τέλος της άνοιξης (ώριμο βλαστικό στάδιο) το λινολενικό οξύ μειώνεται σημαντικά. Βέβαια, οι μεταβολές του προφίλ των λιπαρών οξέων της βοσκής δεν μπορούν να εξηγήσουν απόλυτα τις μεταβολές που παρατηρούνται στη συγκέντρωση των Λ.Ο. του λίπους του γάλακτος.

Έχει βρεθεί ότι βοσκή με χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατοδιαλυτούς υδατάνθρακες και υψηλή συγκέντρωση σε ολικές λιπαρές ουσίες και ολικές Ν-ούχες ουσίες, επηρέασε θετικότερα τη σύσταση του λίπους του γάλακτος, όσον αφορά την αναλογία των Λ.Ο που σκοπό έχει τη βελτίωση της υγείας του καταναλωτή. Σχετικά με την προσθήκη ελαίων σε προστατευμένη μορφή, παρατηρήθηκε μείωση των κορεσμένων Λ.Ο, αύξηση των trans μονοακόρεστων Λ.Ο και των πολυακόρεστων ΛΟ, χωρίς να διαφέρει ουσιαστικά η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος. Σήμερα, υπάρχει η δυνατότητα τροποποίησης της εκατοστιαίας (%) αναλογίας των ΛΟ του

λίπους του γάλακτος, προς την εκάστοτε επιθυμητή κατεύθυνση, με ρύθμιση της ποιοτικής και ποσοτικής συμμετοχής ελαίων, σε προστατευμένη πάντοτε μορφή, στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών ζώων.

Πρέπει όμως να τονιστεί ότι η υπερβολική αύξηση των πολυακόρεστων ΛΟ μέσω του σιτηρεσίου μπορεί να έχει και αρνητικές επιπτώσεις τόσο στην ποιότητα του γάλακτος όσο και στην υγεία του ζώου (οξειδωτικό stress). Γι' αυτό άλλωστε προτιμώνται τα προστατευμένα λίπη και μάλιστα αυτά που είναι πλούσια σε C₁₈, C₂₀ και C₂₂ πολυακόρεστα ΛΟ. Ένας άλλος τρόπος βελτίωσης της % αναλογίας των ΛΟ είναι η μείωση του ποσοστού των αθηρογόνων ΛΟ, μυριστικού (C_{14:0}) και παλμιτικού (C_{18:0}), με ειδικά πρόσθετα στο σιτηρέσιο(π.χ με έλαιο χαμηλής περιεκτικότητας σε παλμιτικό, όπως είναι το ηλιέλαιο ή το κραμβέλαιο).

Ειδικότερα, επιδιώκεται η αύξηση των ω-3 ΛΟ ώστε ο λόγος (ω-6)/(ω-3) < 4:1 στο διαιτολόγιο του ανθρώπου, δεδομένου ότι τα ω-3 συμβάλλουν στην πρόληψη του διαβήτη, της υπέρτασης, των καρδιαγγειακών παθήσεων, της αρθρίτιδας, των διαφόρων μορφών καρκίνου κ.α (Sidhu, 2003). Η μείωση του λόγου (ω-6)/(ω-3) στο λίπος του γάλακτος μπορεί να επιτευχθεί με χορήγηση ιχθυελαίου, λινελαίου, φυκών κ.α στα γαλακτοπαραγωγά μηρυκαστικά ζώα, μέσω του σιτηρεσίου τους. Έτσι, τα παραγόμενα προϊόντα (γάλα, κρέας) είναι εμπλουτισμένα σε ω-3 ΛΟ ή ο λόγος (ω-6)/(ω-3) είναι σαφώς ευνοϊκότερος για την υγεία του καταναλωτή.

1.2 Ρόλος και σύνθεση των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος

Το λίπος αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες χαρακτηρισμού της ποιότητας και της θρεπτικής αξίας του γάλακτος(Chilliard et al. 2003) . Αποτελείται κατά 98% από τριγλυκερίδια και κατά το υπόλοιπο 2% από φωσφολιπίδια, μικρά ποσά χοληστερόλης, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα (Raynal-Ljutovac et al. 2008). Οι κατηγορίες των λιπαρών οξέων διακρίνονται σε μικρής, μεσαίας και μακράς αλύσου. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων μικρής και μεσαίας αλύσου, που αποτελούν το 40- 50% των συνολικών λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος, πραγματοποιείται αποκλειστικά ενδογενώς (de novo) στο μαστικό αδένα από το οξικό και το β- υδροξυβουτυρικό οξύ τα οποία παράγονται στη

μεγάλη κοιλία από τη ζύμωση των υδατανθράκων (Chilliard et al. 2003). Όσον αφορά στα μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα έχει αναφερθεί ότι μόνο η μισή ποσότητα του C16:0 μπορεί να προέρχεται από την τροφή. Τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (\geq C18:0) προέρχονται από το πλάσμα του αίματος στο οποίο απελευθερώνονται με τη δράση του ενζύμου της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (Barber et al. 1997) από τα τριγλυκερίδια (τα οποία μπορεί να βρίσκονται είτε με τη μορφή των χυλομικρών είτε ως χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες). Σε αντίθεση με τα μικρής και μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα (FA), τα μηρυκαστικά συνθέτουν μικρό ποσοστό μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (π.χ C₁₈) που είναι επιθυμητά στο γάλα. Τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα προέρχονται κυρίως από την πέψη των λιπιδίων της τροφής και πιθανόν από καταβολισμό σωματικού λίπους (κυρίως στην αρχή της γαλακτικής περιόδου). Επιπρόσθετα, μπορεί να αφυδρογονώνονται αλλά όχι να επιμηκύνονται στα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένου. Κατά συνέπεια, τα μεγάλης αλύσου λιπαρά οξέα (FA) πρέπει να λαμβάνονται από την τροφή για να εκκριθούν στο γάλα. Το 75-90% του λινελαϊκού, και 85-95% του λινολενικού, βιοϋδρογονώνονται στο στομάχι (Kalscheur et al. 1997, Lock and Garnsworthy 2002, Looor et al. 2005).

Αν και η εκατοστιαία αναλογία των ΛΟ στο γάλα αποτελεί για τους ερευνητές «μετακινούμενο στόχο», εντούτοις καταβάλλεται προσπάθεια τροποποίησης της προς την εκάστοτε επιθυμητή κατεύθυνση με σκοπό την:

- Αύξηση της συμμετοχής της βοσκής στο σιτηρέσιο των γαλακτοπαραγωγών ζώων
- Επιλογή της πλέον κατάλληλης σχέσης ΧΖ:ΣΖ
- Προσθήκη λιπών και ελαίων, σε προστατευμένη κυρίως μορφή, στα σιτηρέσια των γαλακτοπαραγωγών ζώων

Μια από τις κύριες πηγές λιπαρών οξέων για τα μηρυκαστικά αποτελεί η χλόη, στην οποία το λινολενικό οξύ υπερισχύει ενώ αντίθετα ο αραβόσιτος περιέχει κυρίως λινελαϊκό οξύ. Τα συστατικά των συμπυκνωμένων τροφών που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι βασισμένα σε υποπροϊόντα φυτών και είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος. Υπάρχουν μερικά ειδικά προϊόντα τροφών των μηρυκαστικών μέσα στα οποία τα λιπαρά οξέα προστατεύονται

από την παρέμβαση της βιοϋδρογόνωσης στο στομάχι (Itabashi and Baevre 2001). Μια δημοφιλής πηγή φυτικού λιπαρού οξέος σε τέτοια προϊόντα είναι το φοινικέλαιο που είναι πλούσιο σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Επίσης, τα τελευταία χρόνια είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη η χρήση ελαιούχων σπέρματων στην διατροφή των ζώων τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Τα περισσότερα ελαιούχα σπέρματα, υπερισχύουν σε λινελαϊκό οξύ, το οποίο είναι το σημαντικότερο από τα PUFA, ενώ ο λιναρόσπορος περιέχει κυρίως α-λινολενικό οξύ. Στη διατροφή των μηρυκαστικών εκτός από τις τροφές που αναφέρθηκαν ήδη θα μπορούσαν επίσης να χορηγηθούν συμπληρώματα τροφών με ιχθυέλαια, που περιέχουν κυρίως λιπαρά οξέα με 20 ή 22 άτομα άνθρακα, αλλά αυτό μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς τη γεύση του γάλακτος, και αυτό κάνει τα φυτά, και ειδικά τη χορτονομή, την πιο βιώσιμη περιβαλλοντικά πηγή πρόσληψης απαραίτητων λιπαρών οξέων (Dewhurst et al. 2003). Ωστόσο στη μεγάλη κοιλία αφενός τα πολυακόρεστα ΛΟ υφίστανται βιοϋδρογόνωση από τα βακτήρια, αφετέρου πλεονάζουν τα trans ΛΟ τα οποία αυξάνουν την αθηρογόνο LDL (κακή χοληστερόλη) και μειώνουν την HDL (καλή χοληστερόλη).

Από διαιτητικής πλευράς η μείωση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος συνεπάγεται αυξημένη συγκέντρωση του CLA (επιθυμητό) στο λίπος του γάλακτος. Πρόσφατα, η έρευνα επικεντρώθηκε στο συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA). Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για το CLA αποδίδεται σε πιθανά οφέλη για την υγεία του ανθρώπου, ως αντικαρκινικός, αντιθηρωματικός και αντιδιαβητικός παράγοντας (Ip et al. 1999), Martin, 1998, (Pariza et al. 2000). Τα προϊόντα διατροφής που προέρχονται από τα μηρυκαστικά είναι η πλουσιότερη πηγή CLA για τον άνθρωπο, με το γάλα να έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση από το κρέας. Μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν τη συγκέντρωση αυτή, φαίνεται ότι η διατροφή των ζώων είναι η πιο σημαντική (Khanal and Olson 2004).

Προηγούμενη έρευνα έδειξε ότι οι διαιτητικοί παράγοντες, όπως η φύση των ζωοτροφών, συμπεριλαμβανομένων των βοσκοτόπων, και τα συμπληρώματα των σιτηρεσίων με προστατευόμενα ή μη φυτικά έλαια ή ιχθυέλαια μπορούν ουσιαστικά να αυξήσουν την περιεκτικότητα του CLA στο γάλα των μηρυκαστικών (Chouinard et al. 2001). Σε σύγκριση με τα μικτά

σιτηρέσια, οι διατροφές στους βοσκοτόπους έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ακόρεστων ΛΟ μακράς αλυσίδας και CLA στο γάλα (Kelly et al. 1998). Μια ουσιαστική αύξηση του λίπους του γάλακτος σε CLA στα βοοειδή γαλακτοπαραγωγής παρατηρήθηκε κατά την έξοδο τους στους βοσκοτόπους με μια σειρά πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν (Dhiman et al. 1999, Stockdale et al. 2003, Stockdale et al. 2003, Kay et al. 2004). Ιδιαίτερα, οι Dhiman et al. (1999) παρατήρησαν θετική επίδραση της βοσκής στο περιεχόμενο του CLA του γάλακτος. Φαίνεται έτσι από τα παραπάνω ότι η διατροφή θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν το προφίλ των λιπαρών οξέων στο γάλα των μηρυκαστικών ζώων (Chilliard et al. 2007, Sanz Sampelayo et al. 2007).

1.3 Ρόλος του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στη διατροφή των ζώων

Η προσαρμογή των ζώων σε διαφορετικά επίπεδα διατροφής είναι ένα ισχυρό εργαλείο που οι κτηνοτρόφοι σε πολλές περιοχές του κόσμου έχουν εκμεταλλευτεί με προφανή πλεονεκτήματα (Chilliard et al. 2000). Ένα ζώο έχει τη δυνατότητα να αποθηκεύει θρεπτικά συστατικά (κυρίως λίπη) σε περιόδους κατά τις οποίες η διαθεσιμότητα των ζωοτροφών είναι υψηλή, π.χ. την άνοιξη στο βόρειο ημισφαίριο, και να τα χρησιμοποιεί για την αντιμετώπιση των παραγωγικών του αναγκών, όταν οι τροφές στους βοσκότοπους στους οποίους διατρέφεται είναι περιορισμένες, είναι μια συνήθης και οικονομική στρατηγική. Η σωματική κατάσταση (Body Condition Score - BCS) είναι αναμφισβήτητα ο καλύτερος πρακτικός δείκτης για την αξιολόγηση και τον έλεγχο αυτών των μηχανισμών της διαχείρισης των σωματικών αποθεμάτων (Ortavant et al. 1988, Pollott et al. 1994). Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω γνώση του τρόπου μεταβολισμού αυτών των αποθεμάτων καθώς και του ποσοστού χρησιμοποίησής τους με σκοπό τη βελτιστοποίηση των συστημάτων διατροφής. Άλλοι πιο ακριβείς δείκτες, όπως οι μεταβολίτες του αίματος, θα μπορούσαν επίσης να είναι πολύ χρήσιμοι για την πρόβλεψη και την αποφυγή μεταβολικών ελλείψεων που θα μπορούσαν να έχουν σοβαρές συνέπειες στην υγεία του ζώου (Payne 1987, Kida et al. 2002, Caldeira et al. 2007).

Σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτή επιτελεί το ενδοκρινικό σύστημα ρυθμίζοντας το μεταβολισμό με διαδικασίες που έχουν ως απώτερο στόχο την διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού. Αυτές οι διαδικασίες περιλαμβάνουν την αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφόρων ορμονών, συμπεριλαμβανομένης της αυξητικής ορμόνης (GH), της ινσουλίνης, της ινσουλίνης-ως αυξητικού παράγοντα (IGFs) και της λεπτίνης (Sosa et al. 2009).

Η αυξητική ορμόνη (GH) που εκκρίνεται από την υπόφυση είναι ένας σημαντικός παράγοντας, που ρυθμίζει τη γλυκονεογένεση, τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης, την λιπόλυση και την λιπογένεση. Για να επιτευχθεί αυτό, η αυξητική ορμόνη συνδέεται με ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων (Sosa et al. 2009).

Στα βοοειδή (*Bos taurus*) και στα πρόβατα (*Ovis aries*), οι υψηλότερες συγκεντρώσεις GHR βρίσκονται στο ήπαρ, όπου η πρόδρομη ουσία της GH είναι η ηπατοεξαρτώμενη ουσία GHR1A. Αντίθετα, οι άλλες παραλλαγές των τύπων (GHR1B και στα πρόβατα και στις αγελάδες και 1C στις αγελάδες) εκφράζονται κυρίως σε εξω-ηπατικούς ιστούς (Sosa et al. 2009).

Εκτός από τις άμεσες δράσεις του, πολλές από τις τοπικές σωματογονιδιακές επιπτώσεις της GH ρυθμίζονται από τις IGFs. Πράγματι, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η πρόσδεση της GH στην GHR είναι το κύριο ερέθισμα για την ηπατική σύνθεση της IGF-I αν και σε άλλους ιστούς (όπως η μήτρα), η έκφραση της IGF-I είναι ανεξάρτητη από τη GH. (Ketelslegers et al. 1995) . Στο λιπώδη ιστό, η GH αυξάνει την λιπόλυση, μειώνει τη σύνθεση λιπαρών οξέων και μειώνει την ινσουλίνη ρυθμίζοντας παράγοντες, όπως τη μεταφορά της γλυκόζης και τη λιπογένεση (Sosa et al. 2009).

Αντίστοιχα, ο λιπώδης ιστός εκκρίνει τη λεπτίνη και στα μηρυκαστικά η ποσότητα που εκκρίνεται αντανακλά απευθείας την μάζα του λιπώδους ιστού. Έτσι η ορμόνη αυτή σκοπό έχει την ενεργοποίηση των αποθεμάτων λίπους του σώματος μέσω του κεντρικού νευρικού συστήματος, το οποίο δρα με τέτοιο τρόπο ώστε να μειώσει την όρεξη και να αυξήσει την κατανάλωση ενέργειας, διατηρώντας έτσι την ποσότητα του λίπους σε ένα σταθερό ποσοστό (Sosa et al. 2009).

Ωστόσο, σε καταστάσεις απόλυτου ή σχετικού θρεπτικού περιορισμού, η μεταβολική ισορροπία τίθεται σε κίνδυνο. Η προσαρμοστικότητα των μηρυκαστικών σε περιόδους διατροφικών περιορισμών εξαρτάται από την ικανότητα άμεσης ανταπόκρισης των ενδοκρινικών και μεταβολικών τους μηχανισμών για τη διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού (Sosa et al. 2009).

Σε αντίθεση με την άμεση θετική συσχέτιση μεταξύ της GH και της IGF-I, υπό φυσιολογικές συνθήκες, κατά τη διάρκεια του υποσιτισμού ο άξονας GH-IGF-I αποσυνδέεται από το ήπαρ, με επακόλουθο τη μείωση των συγκεντρώσεων IGF-I, παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις GH. Πιστεύεται ότι αυτή η αποσύνδεση οφείλεται στην αντίδραση μείωσης της GH λόγω της μειωμένης συγκέντρωσης της GHR στο ήπαρ κατά τη διάρκεια του υποσιτισμού, κυρίως ως αποτέλεσμα του περιορισμού της έκφρασης των GHR-1A mRNA. (Sosa et al. 2009).

1.4 Ορμόνες : Λεπτίνη - Ινσουλίνη

Η λεπτίνη ανακαλύφθηκε πριν από περίπου 15 χρόνια στα τρωκτικά και φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ομοιοστασίας του οργανισμού τους (ρύθμιση της όρεξης, κατανάλωση ενέργειας, κατανομή των θρεπτικών συστατικών στους ιστούς, ρύθμιση της σύστασης του σώματος). Επιπλέον, ρυθμίζει την έκκριση ορμονών από τους ενδοκρινείς αδένες που επηρεάζουν λειτουργίες του οργανισμού όπως η αναπαραγωγή, το ανοσοποιητικό και το ουροποιητικό σύστημα, την αγγειογένεση, την διαφοροποίηση των κυτάρων κ.α (Kershaw EE and Flier JS. 2004).

Στα μηρυκαστικά, η ορμόνη λεπτίνη είναι πρωτεΐνη που εκκρίνεται σχεδόν αποκλειστικά από το λευκό λιπώδη ιστό (White Adipose Tissue - WAT) (Liefers et al. 2003, Ingvarsen and Boisclair 2001). Ωστόσο ανιχνεύεται και στο μαστικό αδέν, στη μεγάλη κοιλία, στον εχίνο, και το δωδεκαδάκτυλο. Η λεπτίνη δρα κυρίως στις απομονωμένες περιοχές του εγκεφάλου, όπου χρησιμεύει ως ένα σήμα κορεσμού του οργανισμού (Ahima and Flier 2000), (Farooqi et al. 2002). Επιπλέον, το γονίδιο της λεπτίνης εκφράζεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις στον πλακούντα, στο μαστικό αδέν, στους μύες του

στομάχου, στον καφέ λιπώδη ιστό κ.α στα τρωκτικά και στον άνθρωπο. (Margetic et al.2002)

Η λεπτίνη στο πλάσμα μειώνεται ραγδαία κατά τη διάρκεια περιόδων υποσιτισμού (Ahima et al. 2000, Block et al. 2003). Αυτή η παρατήρηση οδήγησε τους Flier και Ahima (2000) να υποστηρίξουν ότι ένας δεύτερος ρόλος που μπορεί να έχει η λεπτίνη είναι η ρύθμιση νευροενδοκρινικών μηχανισμών που ευθύνονται για τη σταθεροποίηση της ενέργειας (Elmqvist et al. 1998; Zabolotny et al. 2002). Σύμφωνα με αυτή τη θεώρηση, χαμηλές συγκεντρώσεις λεπτίνης λόγω της εξάντλησης των αποθεμάτων λίπους ή θρεπτικής ανεπάρκειας, προωθεί την εξοικονόμηση ενέργειας κατά την αναπαραγωγή (Ahima and Flier 2000; Fantuzzi and Faggioni 2000). Η ρύθμιση και ο ρόλος της λεπτίνης στο πλάσμα έχουν μελετηθεί κυρίως σε ενήλικα ζώα, και σχεδόν πάντα στο πλαίσιο των ασθενειών όπως η παχυσαρκία ή ο διαβήτης (Ahima and Flier 2000), (Ingvartsen and Boisclair 2001).

Όπως διαπιστώνεται και από τους Chilliard et al (2005) η λεπτίνη θα μπορούσε να αποτελέσει τη σύνδεση ανάμεσα στις διατροφικές συνήθειες και τη ρύθμιση των φυσιολογικών λειτουργιών του ζώου υποδηλώνοντας έτσι τις ανάγκες των ζώων σε θρεπτικά συστατικά. Ειδικά σε περιόδους της ζωής του ζώου όπως η ενηλικίωση ή η προγεννητική περίοδος η γνώση των επιπέδων της λεπτίνης μπορεί να αποτελέσει σημαντικό δείκτη ρύθμισης των αναγκών του ζώου. Επιπλέον κατανοώντας το μηχανισμό δράσης της και ρυθμίζοντας την συγκέντρωσή της πιθανόν αυτό να μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό εργαλείο για την καλύτερη διαχείριση του ζωικού κεφαλαίου και να την ευκολότερη προσαρμογή των αναγκών των ζώων ιδιαίτερα των μηρυκαστικών στο περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται.

Είναι γνωστό ότι η ινσουλίνη έχει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της ομοιοστασίας της γλυκόζης, την ρύθμιση της λιπογένεσης στο λιπώδη ιστό και την προώθηση της σύνθεσης των πρωτεϊνών στους μύες. Διαπιστώνεται λοιπόν, ότι η ινσουλίνη είναι πολύ σημαντική για τη ρύθμιση της ανάπτυξης και της σύστασης του σώματος των μηρυκαστικών. Έτσι μεταβολές στην συγκέντρωση της ινσουλίνης στον οργανισμό ζώου συνδέονται με την ανάπτυξη της παχυσαρκίας στα θηλαστικά, ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί για τον τρόπο δράσης της δεν είναι γνωστοί (Francis et al. 1996). Όπως αναφέρεται σε διάφορες μελέτες (Ingvartsen and Boisclair ,2001, Tsiplakou et

al 2011) υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της λεπτίνης και της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος των μηρυκαστικών.

1.5. Ενεργότητα της Δ9 αφυδρογονάσης

Το CLA του γάλακτος (c-9, t-11) στις αγελάδες (Griinari et al. 2000) συντίθεται με δυο τρόπους (i) στην μεγάλη κοιλία, ως ενδιάμεσο κατά τη διάρκεια της βιοϋδρογόνωσης του λινολεϊκού οξέος από αναερόβια βακτήρια και (ii) στο μαστικό αδένα από αφυδρογόνωση του βασενικού οξέος μέσω της Δ₉ Αφυδρογονάσης. Μια καλή αναλογία μεταξύ του βασενικού οξέος και του CLA στο λίπος του γάλακτος των αγελάδων προσδιορίστηκε από τους Kay et al. (2004) αγελάδων. Πρόσφατες αναφορές έδειξαν ότι η ενδογενής σύνθεση από το βασενικό οξύ είναι η κύρια πηγή του CLA στο λίπος του γάλακτος των θηλαζόντων αγελάδων (Griinari et al. 2000).

Υπάρχουν τέσσερα κύρια προϊόντα της δραστηριότητας της Δ9 Αφυδρογονάσης: C_{14:1} c-9, C_{16:1} c-9, C_{18:1} c-9, και του CLA τα οποία παράγονται από τα C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0} και C_{18:1} t-11, αντίστοιχα.

Ο καλύτερος δείκτης της Δ9 Αφυδρογονάσης είναι ο λόγος C_{14:1}/C_{14:0}, επειδή ολόκληρη η ποσότητα του C_{14:0} στο γάλα παράγεται από ενδογενή σύνθεση στο μαστικό αδένα. Οι Lock and Garnsworthy (2002) βρήκαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του CLA (c-9, t-11) στο αγελαδινό γάλα σχετίζεται με την αύξηση του λόγου C_{14:1}/C_{14:0}, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης αξιολόγησης της δραστηριότητας της Δ₉ Αφυδρογονάσης στον μαστικό αδένα. Συνολικά, στα πρόβατα που βόσκουν διαφορετικά ψυχανθή δεν βρέθηκε καμία σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του CLA στο γάλα και του λόγου C_{14:1}/C_{14:0}.

Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει την αναλογία C_{14:1}/C_{14:0} είναι το φαινολογικό στάδιο του φυτού. Δεδομένου ότι κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού από το βλαστικό προς το αναπαραγωγικό στάδιο υπάρχει μια αύξηση στην αναλογία αυτή. Αυτή η μεταβολή που παρατηρείται μπορεί να οφείλεται στα επίπεδα του λινολεϊκού και του λινολενικού οξέος της χορτονομής.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2. 1.Σκοπός του πειράματος

Όπως αναφέρθηκε και στη βιβλιογραφική ανασκόπηση η ύπαρξη στοιχείων όσον αφορά στην επίδραση του επιπέδου διατροφής στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος προβάτων είναι περιορισμένη. Με αφορμή την έλλειψη πειραματικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε πείραμα κατά τη διάρκεια των Ανοιξιάτικων μηνών, Μαρτίου- Απριλίου-Μαΐου, στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σύμφωνα με τα ισχύοντα για την ευζωία των πειραματόζων (Κανονισμός 86/609/EEC).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του επιπέδου διατροφής στο προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος των προβάτων. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η επίδραση του υποσιτισμού και του υπερσιτισμού, με αναφορά την ακριβή κάλυψη των αναγκών γαλακτοπαραγωγών προβάτων, στο προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος με ιδιαίτερη έμφαση στη συγκέντρωση του CLA καθώς και στο προφίλ των ορμονών που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος.

2.2 Πειραματικός σχεδιασμός

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 24 γαλακτοπαραγωγά πρόβατα φυλής Άρτας ηλικίας 3 ετών(3 μήνες μετά τον τοκετό) και μέσο σωματικό βάρος 59 (\pm 3 kg). Τα ζώα χωρίστηκαν σε 3 ισοδύναμες ομάδες (8 ζώων η κάθε μια) με βάση το μέσο σωματικό βάρος, τη μέση ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος και τη λιποπεριεκτικότητά του. Η ομάδα του μάρτυρα καλύφθηκε διατροφικά με σιτηρέσιο 100% των αναγκών του σε ενέργεια, αζωτούχες ουσίες και λοιπά θρεπτικά συστατικά, ενώ οι άλλες δυο ομάδες των επεμβάσεων διατράφηκαν με σιτηρέσια που κάλυπταν το 70% (υποσιτισμός) και το 130% (υπερσιτισμός) αντίστοιχα των αναγκών των ζώων. Η χρονική διάρκεια των διατροφικών επεμβάσεων ήταν 3 μήνες (Μάρτιος- Απρίλιος - Μάιος). Όλα τα ζώα αμέλγονταν δυο φορές την ημέρα (9:00πμ -17:00μμ) και τα σιτηρέσια χορηγούνταν στα ζώα με την μέθοδο της ομαδικής διατροφής. Ανά 10 ημέρες πραγματοποιούνταν ζυγίσεις των ζώων και γαλακτομετρήσεις (Milcoscan –

χημική ανάλυση γάλακτος) προκειμένου να γίνεται επαναπροσδιορισμός των αναγκών τους. Επιπλέον, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ελήφθησαν 2 φορές ατομικά δείγματα αίματος και γάλακτος για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων. Επίσης, ελήφθησαν 5 φορές ατομικά δείγματα αίματος για τον προσδιορισμό των ορμονών που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων. Τέλος, κατά την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκε ανάλυση Weende για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης των ζωοτροφών που χορηγήθηκαν (μίγμα συντήρησης, μίγμα γαλακτοπαραγωγής και μηδική). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης αυτής παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Χημική ανάλυση ζωοτροφών με τη μέθοδο Weende

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ WEEENDE		
Συστατικό	ΜΗΔΙΚΗ (%)	ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ (%)
ΞΟ	90,24	88,89
ΤΕΦΡΑ	6,49	6,04
ΑΟ	14,57	12,86
ΛΙΠΟΣ	1,37	3,16
ΙΟ	30,08	5,66
ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΟΥΣΙΑ	93,51	93,96
ΕΝΕΟ	42,75	16,61

Τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα ζώα βρίσκονταν σε κελιά 5,20 x 5,10 m.. σε σκεπασμένο χώρο με ανοίγματα για τον αερισμό του και ταΐστρες για τον εφοδιασμό των ζώων με τροφή.

2.3. Πειραματικές περιόδους

2.3.1 Προπειραματική περίοδος

Η προπειραματική περίοδος εκτείνεται χρονικά από τις 5 έως τις 28 Μαρτίου (20 ημέρες). Τα σιτηρέσια με τα οποία διατρέφονταν τα ζώα καταρτίζονταν σύμφωνα με τις ανάγκες συντήρησης και γαλακτοπαραγωγής των ζώων (Ζέρβας κ.α, 2004), λαμβάνοντας υπόψη κάθε φορά το μέσο σωματικό βάρος των ζώων, την παραγόμενη ποσότητα καθώς και την λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος. Στο χρονικό αυτό διάστημα χορηγήθηκαν τα παρακάτω σιτηρέσια (Πίνακας 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Σιτηρέσια προβάτων κατά τη διάρκεια της προπαραματικής περιόδου

ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 1 (09-03-2009 έως 17-03-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	2,8	4	5,2
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	1,3	1,9	2,45
ΜΙΓΜΑ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	1,3	1,8	2,4
ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 2 (18-03-2009 έως 29-03-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	3,5	5	6,5
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ & ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	3,5	5	6,5

Το σιτηρέσιο χορηγούνταν στα ζώα 2 φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας, σε συγκεκριμένες ώρες (9:00πμ – 17:00μμ). Τα υπολείμματα της τροφής μεταξύ των δυο γευμάτων ήταν αμελητέα. Τα ζώα βρίσκονταν σε στεγασμένο χώρο με αποτέλεσμα να μην καταγράφονται απώλειες από της επίδραση εξωτερικών παραγόντων (π.χ βροχή) κατά τη διάρκεια της λήψης του σιτηρεσίου. Το χρονικό αυτό διάστημα αποτέλεσε τη βάση για την επόμενη πειραματική κύρια περίοδο και την κατάρτιση ενός ισόρροπου σιτηρεσίου.

2.3.2 Κύρια Πειραματική Περίοδο

Η περίοδος αυτή εκτείνεται χρονικά από τις 29 Μαρτίου έως τις 17 Μαΐου (78 ημέρες) και αποτελεί το κυρίως πείραμα. Όπως και στην προπαραματική έτσι και στην κύρια πειραματική περίοδο η τροφή χορηγούνταν 2 φορές την ημέρα και τα σιτηρέσια που καταρτίστηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3. Σιτηρέσια προβάτων κύριας πειραματικής περιόδου

ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 1(29-03-2009 έως 10-04-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	2,6	4,2	5,8
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	2,6	4,2	5,8

ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 2(10-04-2009 έως 27-04-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	2,15	3,75	5
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	2,15	3,75	5

ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 3(27-04-2009 έως 08-05-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	2	3,5	4,3
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	2	3,5	4,3

ΣΙΤΗΡΕΣΙΟ 4 (08-05-2009 έως 18-05-2009)			
	ΟΜΑΔΑ Α (70%)	ΟΜΑΔΑ Β (100%)	ΟΜΑΔΑ Γ (130 %)
ΜΗΔΙΚΗ	1,8	3,15	4,2
ΜΙΓΜΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	1,8	3,15	4,2

Το μίγμα συντήρησης περιείχε τα εξής συστατικά τροφής:

Καλαμπόκι (52%), πίτυρα σίτου (20%), κριθάρι (13,5%), βαμβακόπιτα (10%), μαρμαρόσκονη (2%), φωσφορικό διασβέστιο (1,50%), αλάτι (0,50%), πρόμιγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων (0,50%).

2.4 Μέτρηση ύψους γαλακτοπαραγωγής και σωματικού βάρους των προβάτων

Η μέτρηση του ύψους της γαλακτοπαραγωγής πραγματοποιούνταν καθημερινά, ενώ ανά 10 ημέρες γίνονταν προσδιορισμός της χημικής σύστασης του γάλακτος με τη χρήση της συσκευής Milkoscan. Η μέτρηση του σωματικού βάρους των προβάτων, πραγματοποιούνταν με τη χρήση ζυγού ακριβείας 0,1 kg πρωινές ώρες πριν την άμελξη και τη χορήγηση σιτηρεσίου στα ζώα.

3. Αναλύσεις

3.1 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στις ζωοτροφές

3.1.1 Παραλαβή λίπους ζωοτροφών

Για την παραλαβή του λίπους των ζωοτροφών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Sánchez-Machado (2002). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα πυροκατεχόλης, διαλύοντας 1 g ζωοτροφής σε 5 ml μεθανόλης. Το διάλυμα της πυροκατεχόλης διατηρήθηκε στους 4°C στο σκοτάδι και παρασκευαζόταν εκ νέου κάθε φορά που γινόταν ο προσδιορισμός του λίπους στην υπό ανάλυση ζωοτροφή. Στη συνέχεια, σε σωλήνα Falcon τοποθετήθηκε 1 g αλεσμένου δείγματος ζωοτροφής, 800 μl διαλύματος πυροκατεχόλης και 20 ml KOH (0.5 M σε μεθανόλη). Ο σωλήνας αναδεύονταν για 20 min και τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο στους 80°C για 15 min. Κατά την παραμονή του στο υδατόλουτρο ο σωλήνας ανακινείτο ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Έπειτα, ψύχονταν σε πάγο και το περιεχόμενό του για λόγους ασφαλείας μεταφερόταν σε άλλο δοκιμαστικό σωλήνα στον οποίο προσθέτονταν 4 ml απεσταγμένου νερού και 20 ml εξανίου. Ο σωλήνας ανακινήτο και ακολουθούσε φυγοκέντρηση στα 373 g για 2 min. Μετά τη φυγοκέντρηση παρατηρούνταν διαχωρισμός φάσεων. Έτσι, συλλέγονταν 15 ml από το υπερκείμενο και μεταφέρονταν σε ποτήρι ζέσεως. Στο υπόλοιπο περιεχόμενο του δοκιμαστικού σωλήνα προσθέτονταν 15 ml εξανίου και ο σωλήνας φυγοκεντρήθηκε εκ νέου στις ίδιες συνθήκες. Μετά τη φυγοκέντρηση συλλέγονταν 15 ml από το υπερκείμενο και τοποθετούνταν στο ίδιο ποτήρι ζέσεως. Το ποτήρι ζέσεως μεταφέρονταν σε κλίβανο στους 30 °C για εξάτμιση, για 20 ώρες. Για τη μεθυλεστεροποίηση του λίπους των ζωοτροφών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Kelly et al. (1998).

3.2 Δειγματοληψία και αναλύσεις στο πλάσμα του αίματος των προβάτων για το προσδιορισμό των λιπαρών οξέων

Στις 22 Απριλίου και 13 Μαΐου πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες αίματος από τη σφαγίτιδα φλέβα κάθε ζώου. Το αίμα συλλεγόταν σε φιαλίδια που περιείχαν ηπαρίνη (αντιπηκτικό) και στη συνέχεια τοποθετούνταν για φυγοκέντρηση (15 λεπτά, 3500 στροφές/λεπτό, θερμοκρασία 4°C) προκειμένου να διαχωριστεί το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα. Έπειτα με πιπέτα λαμβά-

νονταν το πλάσμα του αίματος το οποίο τοποθετούνταν σε μικρά φιαλίδια (erpendorf) και αποθηκεύονταν στη συνέχεια στους -80°C για μέχρι τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων.

3.2.1 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στο πλάσμα του αίματος των προβάτων

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων του πλάσματος του αίματος εφαρμόστηκε η μέθοδος των Bondia-Pons et al. (2004). Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου, σε πυρίμαχο δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 1 ml πλάσματος αίματος, 10ml εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (standard) και 2ml μεθυλικού νατρίου (0,5%w/v) τα οποία θερμαίνονται στους 100°C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, αφού ψύχονταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσθέτονταν 20 ml τριφθορικού βαρίου και θερμαίνονταν εκ νέου στους 100°C για 15 λεπτά. Έπειτα, αφού ψύχονταν ξανά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσθέτονταν 1 ml εξανίου και ακολουθούσε ανάμειξη για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, προσθέτονταν 2 ml κορεσμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και ακολουθούσε φυγοκέντρηση για 8 λεπτά στις 5000 στροφές. Μετά το τέλος της φυγοκέντρηση ακολουθούσε προσθήκη άνυδρου θειικού νατρίου και το υπερκείμενο χρησιμοποιούνταν για ανάλυση σε αέριο χρωματογράφο.

3.3. Δειγματοληψία και αναλύσεις στο πλάσμα του αίματος των προβάτων για το προσδιορισμό ορμονών (ινσουλίνης, λεπτίνης)

Πραγματοποιήθηκαν έξι δειγματοληψίες (9/4, 15/4, 22/4, 29/4, 6/5, 13/5) αίματος από τη σφαγίτιδα φλέβα κάθε ζώου για τον προσδιορισμό των ορμονών. Το αίμα συλλεγόταν σε φιαλίδια που περιείχαν αντιπηκτικό (EDTA) και στη συνέχεια τοποθετούνταν για φυγοκέντρηση (15'λεπτά, 3500 στροφές/λεπτό (rpm), θερμοκρασία 4°C) προκειμένου να διαχωριστεί το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα. Έπειτα με πιπέτα λαμβάνονταν το πλάσμα του αίματος το οποίο τοποθετούνταν σε μικρά φιαλίδια (erpendorf) και αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους για προσδιορισμό των ορμονών.

3.3.1 Προσδιορισμός ορμονών (ινσουλίνης, λεπτίνης) στο πλάσμα του αίματος των προβάτων

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ορμονών είναι η ραδιοανοσοδοκιμασία. Στην ραδιοανοσοδοκιμασία, μια σταθερή συγκέντρωση σημασμένου ανιχνευτή αντιγόνου, επωάζεται με μια σταθερά αραιωμένη συγκέντρωση του αντιορού έτσι ώστε η συγκέντρωση του αντιγόνου στη θέση δεσμεύσεως στο αντίσωμα να είναι περιορισμένη. Για παράδειγμα, μόνο το 50% της συγκέντρωσης του ολικού ανιχνευτή, μπορεί να δεσμευτεί από το αντίσωμα. Αν μη-σημασμένο αντιγόνο προστεθεί στο σύστημα, θα υπάρξει ανταγωνισμός μεταξύ σημασμένου ανιχνευτή και μη-σημασμένου αντιγόνου για τον περιορισμένο και σταθερό αριθμό των θέσεων προσδέσεως στο αντίσωμα. Έτσι, η ποσότητα του δεσμευμένου ανιχνευτή στο αντίσωμα θα μειώνεται όσο η συγκέντρωση του μη σημασμένου αντιγόνου θα αυξάνεται.

Η μέτρηση μπορεί να γίνει, μετά το διαχωρισμό δεσμευμένου αντισώματος από τους ελεύθερους ανιχνευτές και μετρώντας τον έναν ή τον άλλο ή και τα δύο κλάσματα. Μια πρότυπος καμπύλη δημιουργείται με την αύξηση των συγκεντρώσεων του πρότυπου μη-σημασμένου αντιγόνου και από αυτή τη καμπύλη, μπορεί να υπολογιστεί το ποσό του αντιγόνου σε άγνωστα δείγματα μπορεί να υπολογιστεί. Συμπερασματικά, οι τέσσερις βασικοί παράμετροι που χρειάζονται για την ραδιοανοσοδοκιμασία, είναι: α) να μετρηθεί ένας συγκεκριμένος αντιορός στο αντιγόνο, β) η διαθεσιμότητα μιας ραδιενεργού σημασμένης μορφής αντιγόνου, γ) μια μέθοδος μέσω της οποίας μπορεί να διαχωριστεί δεσμευμένος ανιχνευτής αντισώματος από μη δεσμευμένο ανιχνευτή και δ) ένα όργανο για τη μέτρηση της ραδιενέργειας. Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε σταθερή ποσότητα λεπτίνης και σταθερή ποσότητα ινσουλίνης σημασμένων με ^{125}I που ανταγωνιζόταν με τη λεπτίνη και την ινσουλίνη αντίστοιχα, των προς μέτρηση δειγμάτων για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων.

Για τη μέτρηση της λεπτίνης χρησιμοποιήθηκε το Multi-Species Leptin RIA KIT της Linco Research με ευαισθησία 1,0 ng/ml και διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) 3,1 % CV και διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 7,8 % CV.

Για τη μέτρηση της ινσουλίνης χρησιμοποιήθηκε το Rat Insulin RIA KIT της Linco Research το οποίο έχει 100% ειδικευση αντισώματος (specificity)

για την ινσουλίνη του προβάτου. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,1 ng/ml. Η διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) είναι 4,3% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 8,5% CV.

3.4. Δειγματοληψία και αναλύσεις στο λίπος του γάλακτος των προβάτων για τον προσδιορισμό του προφίλ των λιπαρών οξέων

Όλα τα ζώα αμέλγονταν δύο φορές την ημέρα με το χέρι (09:00πμ και 17:00μμ). Το γάλα από κάθε ομάδα συλλεγόταν καθημερινά και ζυγιζόταν σε ζυγό ακριβείας 0,1gr.

Ανά 10 μέρες ατομικά δείγματα γάλακτος λαμβάνονταν από τα ζώα, ακολουθώντας τους κανόνες δειγματοληψίας (ανάμειξη της πρωινής και της απογευματινής ποσότητας αμελχθέντος γάλακτος και λήψη δείγματος σε ποσοστό 5% της εκάστοτε αμελχθείσας ποσότητας). Κάθε ατομικό δείγμα γάλακτος αναλυόταν από το μηχάνημα Milcoscan 133 για προσδιορισμό της χημική σύσταση του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη, ολικά στερεά άνευ λίπους και ολικά στερεά).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν και δύο ατομικές δειγματοληψίες γάλακτος από τα ζώα (22-4-09 και 12-5-09), ώστε να γίνει προσδιορισμός των λιπαρών οξέων του γάλακτος.

3.4.1 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος των προβάτων

Για την παραλαβή του λίπους του γάλακτος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Jiang et al. (1996). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε δοκιμαστικό σωλήνα τύπου Falcon τοποθετήθηκαν 8,5 ml γάλακτος, 15 ml ισοπροπανόλης και 11,25 ml εξανίου τα οποία αναδεύτηκαν σε αναδευτήρα (vortex) για 3 min. Κατόπιν τοποθετήθηκαν για φυγοκέντρωση στις 4000 rpm (2520 g) για 5 min στους 5°C. Μετά τη φυγοκέντρωση παρατηρήθηκε διαχωρισμός δύο φάσεων. Στη συνέχεια παρελήφθησαν 10 ml από το υπερκείμενο και τοποθετήθηκαν σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα. Στο υπερκείμενο προστέθηκαν 11,25 ml εξανίου και μετά από ανάδευση (vortex) φυγοκεντρήθηκαν στις ίδιες συνθήκες. Συλλέχθηκαν εκ νέου 10 ml από το υπερκείμενο και ακολούθησε και νέα έκπλυση

με 11,25 ml εξανίου. Έπειτα, στις συλλεχθείσες υπερκείμενες φάσεις προστέθηκαν 7,5 ml διαλύματος θειικού νατρίου (Na₂SO₄) 0,47 M και επήλθε διαχωρισμός φάσεων. Συλλέχθηκαν 20 ml από το υπερκείμενο και τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως. Το ποτήρι ζέσεως μεταφέρθηκε σε κλίβανο στους 30°C για την παραλαβή του λίπους μετά την εξάτμιση του εξανίου (20 ώρες).

3.4.2 Μεθυλεστεροποίηση του λίπους του γάλακτος των προβάτων

Για τη μεθυλεστεροποίηση του λίπους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Kelly et al. (1998). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκαν 40 mg λίπους, 2 ml εξανίου και 40 ml οξικού μεθυλίου. Ακολούθησε ανάδευση (vortex). Στη συνέχεια προστέθηκαν 40 ml αντιδραστηρίου που παρασκευάστηκε με την εξής αναλογία: 1,75 ml μεθανόλης και 0,4 ml μεθυλικού νατρίου (sodium methylate) 5,4 M και το δείγμα αφέθηκε για επώαση για 10 min. Έπειτα προστέθηκαν 60 ml διαλύματος που παρασκευάστηκε διαλύοντας 1g οξαλικού οξέος σε 30 ml διαιθυλαιθέρα. Μετά από φυγοκέντρηση για 5 min στις 5000 (rpm) παρελήφθησαν 90 ml στα οποία προστέθηκαν 10 ml εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (standard) και τοποθετήθηκαν σε κατάλληλα φιαλίδια μέχρι την ανάλυσή στον αέριο χρωματογράφο.

Η ανάλυση των μεθυλεστέρων του λίπους του γάλακτος, του πλάσματος του αίματος και των ζωοτροφών έγιναν με τη χρήση αέριου χρωματογράφου της εταιρίας Perkin Elmer με στήλη Omegawax 320 (30m×0.32 mm, Supelco, Sigma-Adrich Co., USA). Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ρυθμίστηκε στους 220 °C. Ως αέριο μεταφοράς χρησιμοποιήθηκε το ήλιο. Κάθε λιπαρό οξύ ταυτοποιήθηκε και ποσοτικοποιήθηκε με πρότυπο μίγμα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων της Supelco, Sigma-Adrich Co., USA.

3.5. Ομαδοποιήσεις λιπαρών οξέων του γάλακτος, αθρωματικός δείκτης και έμμεσος προσδιορισμός της Δ-9 αφυδρογονάσης.

Οι ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του γάλακτος έγιναν ως εξής:

Μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (MIA) = C_{6:0}+C_{8:0}+C_{10:0}+C_{11:0}

Μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα (MEA)=C_{12:0}+C_{13:0}+C_{14:0}+C_{15:0}

Μακράς αλύσου λιπαρά οξέα

$$(MA)=C_{16:0}+C_{18:0}+C_{20:0}+C_{22:0}+C_{23:0}+C_{24:0}$$

Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

$$(ΠΟΛΑ)=CLA+C_{18:2n6c}+C_{18:2n6t}+C_{18:3n3c}+C_{18:3n6c}+C_{20:2}+C_{20:3n3c}+C_{20:3n6c}+C_{20:4} \\ + C_{20:5}+C_{22:2}$$

Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα

$$(MONA) = C_{14:1}+C_{15:1}+C_{16:1}+C_{17:1}+C_{18:1}+VA+C_{20:1}$$

Ακόρεστα λιπαρά οξέα (A)=ΠΟΛΑ+ΜΟΝΑ

Κορεσμένα/ Ακόρεστα (K/A) = (ΜΙΑ+ΜΕΑ+ΜΙΑ)/(ΠΟΛΑ+ΜΟΝΑ)

CLA= cis-9,trans-11 C_{18:2}

VA=trans-11 C_{18:2}

Ο αθηρωματικός δείκτης (ΑΔ) υπολογίστηκε ως $(C_{12:0}+4C_{14:0}+C_{16:0})/A$, όπως περιγράφεται από τους Ulbricht και Southgate (1991).

Ο προσδιορισμός της Δ-9 αφυδρογονάσης γίνεται έμμεσα, μέσω των λόγων των λιπαρών οξέων: C_{14:1}/C_{14:0}, C_{16:1}/C_{16:0}, C_{18:1}/C_{18:0} και cis-9, trans-11CLA/VA.

4. Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (\pm SEM) των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα, από τα σωματικά βάρη των προβάτων, του ύψους της γαλακτοπαραγωγής, της χημικής σύστασης του γάλακτος, το προφίλ των λιπαρών οξέων του πλάσματος του αίματος και του λίπους του γάλακτος των προβάτων καθώς και τα αποτελέσματα των ορμονών αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το γραμμικό μοντέλο (GLM) των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures) της ανάλυσης διασποράς (ANOVA). Στόχος ήταν η μελέτη των επιδράσεων της διατροφής (70%, 100%, 130%) και των ημερών δειγματοληψίας, καθώς και η αλληλεπίδραση της διατροφής με τις ημέρες δειγματοληψίας στα λιπαρά οξέα γάλακτος και αίματος προβάτων. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοσης 17.0.

5. Αποτελέσματα

5.1. Σωματικό βάρος προβάτων

Στον πίνακα 1.1 καθώς και στο διάγραμμα Δ1 παρουσιάζεται η εξέλιξη του σωματικού βάρους των προβάτων κατά την διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος. Το μέσο σωματικό βάρος αυτών κατά τη διάρκεια του πειράματος δεν παρουσίασε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p > 0.05$).

Πίνακας 1.1 Μέσο σωματικό βάρος (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			p
	70%	100%	130%	
1	59.13 \pm 4.430	58.38 \pm 4.326	59.63 \pm 3.937	>0.05
2	53.75 \pm 4.300	58.63 \pm 4.736	63.50 \pm 4.547	>0.05
3	52.50 \pm 4.330	59.25 \pm 4.927	63.63 \pm 4.524	>0.05
4	52.00 \pm 4.476	60.25 \pm 4.693	63.63 \pm 4.743	>0.05
5	51.75 \pm 4.593	60.50 \pm 4.778	68.57 \pm 4.530	>0.05
6	51.00 \pm 4.488	56.29 \pm 3.183	69.57 \pm 4.530	>0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα των σωματικών βαρών σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πιν.1.2) δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Πίνακας 1.2 Μέσο σωματικό βάρος (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΣΩΜΑΤΙΚΟ ΒΑΡΟΣ
1	59.04 \pm 2.613
2	59.28 \pm 2.674
3	59.15 \pm 2.674
4	59.34 \pm 2.674
5	60.93 \pm 2.734
6	61.14 \pm 2.734

Μεταξύ όμως των διατροφικών επεμβάσεων το σωματικό βάρος των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας του υποσιτισμού και του υπερσιτισμού.(Πίνακας 1.3)

Πίνακας 1.3 Μέσο σωματικό βάρος (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΣΩΜΑΤΙΚΟ ΒΑΡΟΣ
70%	55.02 ^a \pm 1.954
100%	59.67 ^{ab} \pm 1.847
130%	64.75 ^b \pm 1.891

Επιπροσθέτως, δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση.

5.2. Ημερήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος

Στον πίνακα 2.1 καθώς και στο διάγραμμα Δ.2 παρουσιάζεται η εξέλιξη της διορθωμένης γαλακτοπαραγωγής των προβάτων κατά την διάρκεια του πειράματος. Η διορθωμένη γαλακτοπαραγωγή κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης δεν παρουσίασε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά, εκτός από την τελευταία δειγματοληψία όπου ανάμεσα στην ομάδα του υποσιτισμού και στην ομάδα του υπερσιτισμού υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0.05$).

Πίνακας 2.1 Μέση παραγόμενη ποσότητα γάλακτος (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			<i>p</i>
	70%	100%	130%	
1	1.05 \pm 0.144	1.03 \pm 0.175	0.91 \pm 0.215	>0.05
2	0.83 \pm 0.146	1.08 \pm 0.180	1.24 \pm 0.224	>0.05
3	0.57 \pm 0.074	0.84 \pm 0.157	0.99 \pm 0.193	>0.05
4	0.59 \pm 0.123	0.80 \pm 0.125	1.04 \pm 0.186	>0.05
5	0.43 \pm 0.077	0.69 \pm 0.153	0.98 \pm 0.188	>0.05
6	0.33 ^a \pm 0.070	0.50 ^{ab} \pm 0.065	0.72 ^b \pm 0.141	<0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της διορθωμένης γαλακτοπαραγωγής σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πιν.2.2) παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δειγματοληψίες 1^η και 5^η, 1^η και 6^η καθώς και στην 2^η με την 5^η και 6^η, στην 3^η με την 6^η και στην 4^η με την 6^η δειγματοληψία.

Πίνακας 2.2 Μέση διορθωμένη γαλακτοπαραγωγή (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διορθωμένη Γαλακτοπαραγωγή
1	0.10 ^c \pm 0.089
2	1.05 ^c \pm 0.091
3	0.80 ^{bc} \pm 0.091
4	0.81 ^{bc} \pm 0.091
5	0.70 ^{ab} \pm 0.091
6	0.52 ^a \pm 0.096

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η διορθωμένη γαλακτοπαραγωγή των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας του υποσιτισμού με τον μάρτυρα καθώς και μεταξύ του υποσιτισμού με τον υπερσιτισμό. (Πίνακας 2.3)

Πίνακας 2.3 Διορθωμένη γαλακτοπαραγωγή (kg) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	Διορθωμένη Γαλακτοπαραγωγή
70%	0.63 ^a \pm 0.067
100%	0.82 ^b \pm 0.063
130%	0.98 ^b \pm 0.065

Επιπροσθέτως, δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση.

5.3. Χημική σύσταση γάλακτος

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζεται η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος, λακτόζη, πρωτεΐνη, ολικά στερεά και ολικά στερεά άνευ λίπους, έτσι όπως μετρήθηκε κατά την διάρκεια του πειράματος.

5.3.1 Λίπος

Στον πίνακα 3.1.1 παρουσιάζεται η εξέλιξη του λίπους του γάλακτος των προβάτων. Κατά την πρώτη δειγματοληψία δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στο λίπος του γάλακτος ανάμεσα στην ομάδα του υποσιτισμού σε σχέση τόσο με την ομάδα του μάρτυρα, όσο και την ομάδα του υπερσιτισμού. Κατά τη δεύτερη και την τρίτη δειγματοληψία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του υποσιτισμού και του μάρτυρα καθώς και στις ομάδες του υποσιτισμού και του υπερσιτισμού στις τρεις διατροφικές επεμβάσεις. Κατά τις υπόλοιπες τρεις δειγματοληψίες δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στις τιμές του λίπους του γάλακτος ανάμεσα στις τρεις διατροφικές επεμβάσεις.

Πίνακας 3.1.1 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος (%)(\pm SEM)¹ στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις σε σχέση με την ημερομηνία δειγματοληψίας.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			p
	70%	100%	130%	
1	7.47 \pm 0.282	7.10 \pm 0.281	7.155 \pm 0.418	>0,05
2	8.50 ^b \pm 0.267	6.88 ^a \pm 0.188	6.88 ^a \pm 0.232	0.0001
3	8.79 ^b \pm 0.291	7.88 ^a \pm 0.281	7.30 ^a \pm 0.191	<0,05
4	8.10 \pm 0.409	8.08 \pm 0.359	7.27 \pm 0.357	>0.05
5	8.52 \pm 0.366	8.15 \pm 0.290	7.53 \pm 0.197	>0.05
6	8.09 \pm 0.384	8.40 \pm 0.199	7.41 \pm 0.286	>0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P \leq 0,05).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της μέσης περιεκτικότητας σε λίπος (%) σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.1.2) παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις : 1^η και 3^η, 1^η και 4^η, 1^η και 5^η καθώς και 1^η και 6^η, 2^η και 3^η, 2^η και 5^η και 2^η και 6^η δειγματοληψία.

Πίνακας 3.1.2 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΛΙΠΟΣ
1	7.24 ^a \pm 0.169
2	7.42 ^{ab} \pm 0.173
3	7.99 ^c \pm 0.173
4	7.82 ^{bc} \pm 0.173
5	8.07 ^c \pm 0.173
6	7.97 ^c \pm 0.177

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος (%) των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών διατροφικών επεμβάσεων (υποσιτισμός, μάρτυρας, υπερσιτισμός) .(Πίνακας 3.1.3).

Πίνακας 3.1. 3 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΛΙΠΟΣ
70%	8.25 ^c \pm 0.127
100%	7.75 ^b \pm 0.120
130%	7.26 ^a \pm 0.121

Τέλος , δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση όσον αφορά στην μέση περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος.

5.3.2 Λακτόζη

Στον πίνακα 3.2.1 παρουσιάζεται η εξέλιξη της λακτόζης στο γάλα των προβάτων. Η λακτόζη στο γάλα των προβάτων παραμένει σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις, χωρίς στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Ο υποσιτισμός παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές λακτόζης σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα, αλλά και του υπερσιτισμού.

Πίνακας 3.2.1 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη (%)(±SEM)¹ στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			ρ
	70%	100%	130%	
1	4.88 ± 0.095	4.88 ± 0.158	4.76 ± 0.226	>0.05
2	4.67 ± 0.131	4.84 ± 0.154	4.95 ± 0.159	>0.05
3	4.59 ± 0.128	4.62 ± 0.242	4.87 ± 0.265	>0.05
4	4.64 ± 0.163	4.64 ± 0.174	5.01 ± 0.184	>0.05
5	4.73 ± 0.199	4.73 ± 0.169	5.18 ± 0.195	>0.05
6	4.29 ± 0.2670	4.45 ± 0.161	4.77 ± 0.236	>0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της λακτόζης σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.2.2) δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δειγματοληψίες.

Πίνακας 3.2.2 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη (%) (±SEM)¹ των προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΛΑΚΤΟΖΗ
1	4.77 ± 0.110
2	4.82 ± 0.113
3	4.69 ± 0.113
4	4.76 ± 0.113
5	4.88 ± 0.113
6	4.50 ± 0.115

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη (%) των προβάτων δεν παρουσίασε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών διατροφικών επεμβάσεων (υποσιτισμός, μάρτυρας, υπερσιτισμός) .(Πίνακας 3.2.3)

Πίνακας 3.2.3 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΛΑΚΤΟΖΗ
70%	4.63 \pm 0.083
100%	4.69 \pm 0.078
130%	4.89 \pm 0.079

Τέλος, δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση.

5.3.3 Πρωτεΐνη

Στον πίνακα 3.3.1 παρουσιάζεται η εξέλιξη της πρωτεΐνης στο γάλα των προβάτων. Η πρωτεΐνη στο γάλα των προβάτων παραμένει σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του κυρίως πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Μόνο κατά τη διάρκεια της 5^{ης} και της 6^{ης} δειγματοληψίας παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και του υποσιτισμού, όπως και ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και του υπερσιτισμού με σημαντικά μειωμένες τιμές κατά την επέμβαση του υποσιτισμού και του υπερσιτισμού.

Πίνακας 3.3.1 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη (%)(\pm SEM)¹ στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			<i>p</i>
	70%	100%	130%	
1	6.53 \pm 0.295	6.40 \pm 0.205	6.72 \pm 0.205	>0.05
2	6.52 \pm 0.344	6.47 \pm 0.194	5.98 \pm 0.175	>0.05
3	6.49 \pm 0.337	6.63 \pm 0.305	6.11 \pm 0.145	>0.05
4	6.27 \pm 0.334	6.75 \pm 0.370	6.01 \pm 0.130	>0.05
5	6.15 ^a \pm 0.249	6.99 ^b \pm 0.286	6.06 ^a \pm 0.148	<0.05
6	6.19 ^a \pm 0.191	7.07 ^b \pm 0.270	6.17 ^a \pm 0.210	<0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της πρωτεΐνης σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.3.2) δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δειγματοληψίες.

Πίνακας 3.3.2 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη (%) (\pm SEM)¹ των προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΠΡΩΤΕΪΝΗ
1	6.55 \pm 0.148
2	6.32 \pm 0.152
3	6.41 \pm 0.152
4	6.34 \pm 0.152
5	6.40 \pm 0.152
6	6.47 \pm 0.155

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη (%) των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του υποσιτισμού και του μάρτυρα καθώς και ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και του υπερσιτισμού.(Πίνακας 3.3.3).

Πίνακας 3.3.3 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΠΡΩΤΕΪΝΗ
70%	6.36 ^a \pm 0.111
100%	6.72 ^b \pm 0.105
130%	6.18 ^a \pm 0.106

Τέλος, δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση.

5.3.4 Ολικά στερεά

Στον πίνακα 3.4.1 παρουσιάζεται η εξέλιξη των ολικών στερεών του γάλακτος των προβάτων. Τα ολικά στερεά στο γάλα των προβάτων παραμένουν σχεδόν σταθερά κατά τη διάρκεια του πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Πίνακας 3.4.1 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά (%) (\pm SEM)¹ στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις

Αριθμός δειγματοληψίας	Διατροφική επέμβαση			ρ
	70%	100%	130%	
1	19.67 \pm 0.502	19.18 \pm 0.321	19.22 \pm 0.641	>0.05
2	20.49 \pm 0.461	18.99 \pm 0.215	18.62 \pm 0.371	>0.05
3	11.87 \pm 0.256	12.05 \pm 0.156	11.78 \pm 0.280	>0.05
4	11.71 \pm 0.223	12.28 \pm 0.228	11.82 \pm 0.232	>0.05
5	20.21 \pm 0.453	20.67 \pm 0.407	19.57 \pm 0.425	>0.05
6	19.39 \pm 0.547	20.71 \pm 0.291	19.15 \pm 0.574	>0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P \leq 0,05$).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα των ολικών στερεών του γάλακτος σε σχέση με τις δειγματοληψίες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.4.2) παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην 1^η και την 3^η, στην 1^η και την 4^η δειγματοληψία, καθώς και ανάμεσα στην 2^η και την 3^η και στην 2^η και την 4^η δειγματοληψία. Επίσης, διαφορές παρουσιάστηκαν μεταξύ 3^{ης} και 5^{ης}, 3^{ης} και 6^{ης} καθώς και μεταξύ 4^{ης} και 5^{ης}, 4^{ης} και 6^{ης} δειγματοληψίας.

Πίνακας 3.4.2 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά (%) (\pm SEM)¹ των προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ
1	19.36 ^b \pm 0.219
2	19.36 ^b \pm 0.224
3	11.90 ^a \pm 0.224
4	11.94 ^a \pm 0.224
5	20.15 ^b \pm 0.224
6	19.75 ^b \pm 0.229

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά (%) των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και του υπερσιτισμού. (Πίνακας 3.4.3).

Πίνακας 3.4. 3 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ
70%	17.22 ^{ab} \pm 0.164
100%	17.31 ^b \pm 0.155
130%	16.69 ^a \pm 0.157

Τέλος, μεταξύ των δειγματοληψιών ανά διατροφική επέμβαση παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p=0,0434$).

5.3.5 Ολικά στερεά άνευ λίπους

Στον πίνακα 3.5.1 παρουσιάζεται η εξέλιξη των ολικών στερεών άνευ λίπους του γάλακτος των προβάτων. Τα ολικά στερεά άνευ λίπους στο γάλα των προβάτων παραμένουν σχεδόν σταθερά κατά τη διάρκεια του πειράματος και στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις. Εκτός από την 5^η και την 6^η δειγματοληψία όπου παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και την ομάδα του υποσιτισμού .

Πίνακας 3.5.1 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά άνευ λίπους(%)(\pm SEM)¹ στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική επέμβαση				
Αριθμός δειγματοληψίας	70%	100%	130%	<i>p</i>
1	12.21 \pm 0.234	12.08 \pm 0.0974	12.06 \pm 0.281	>0.05
2	11.99 \pm 0.285	12.11 \pm 0.098	11.74 \pm 0.202	>0.05
3	20.67 \pm 0.441	19.92 \pm 0.338	19.09 \pm 0.415	>0.05
4	19.82 \pm 0.479	20.36 \pm 0.440	19.09 \pm 0.511	>0.05
5	11.68 ^a \pm 0.191	12.52 ^b \pm 0.170	12.07 ^{ab} \pm 0.263	<0.05
6	11.29 ^a \pm 0.199	12.31 ^b \pm 0.192	11.74 ^{ab} \pm 0.331	<0.05

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P\leq 0,05$).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα των ολικών στερεών άνευ λίπους του γάλακτος σε σχέση με τις δειγματοληψίες ,όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.5.2) παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην 1^η και την 3^η , στην 1^η και την 4^η δειγματοληψία, καθώς και

ανάμεσα στην 2^η και την 3^η και στην 2^η και την 4^η δειγματοληψία. Επίσης, διαφορές παρουσιάστηκαν μεταξύ 3^{ης} και 5^{ης}, 3^{ης} και 6^{ης} καθώς και μεταξύ 4^{ης} και 5^{ης}, 4^{ης} και 6^{ης} δειγματοληψίας.

Πίνακας 3.5.2 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά άνευ λίπους (%) (\pm SEM)¹ των προβάτων σε σχέση με τις δειγματοληψίες.

Αριθμός δειγματοληψίας	ΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΑΝΕΥ ΛΙΠΟΥΣ
1	12.12 ^a \pm 0.176
2	11.94 ^a \pm 0.180
3	19.89 ^b \pm 0.180
4	19.76 ^b \pm 0.180
5	12.09 ^a \pm 0.180
6	11.78 ^a \pm 0.184

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων η μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά άνευ λίπους (%) των προβάτων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του μάρτυρα και του υπερσιτισμού (Πίνακας 3.5.3).

Πίνακας 3.5.3 Μέση περιεκτικότητα του γάλακτος σε ολικά στερεά άνευ λίπους (%) (\pm SEM)¹ προβάτων σε σχέση με τις διατροφικές επεμβάσεις.

Διατροφική Επέμβαση	ΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΑΝΕΥ ΛΙΠΟΥΣ
70%	14.61 ^{ab} \pm 0.131
100%	14.88 ^b \pm 0.124
130%	14.30 ^a \pm 0.126

Τέλος, δεν υπάρχει καμία στατιστικώς σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στις δειγματοληψίες ανά διατροφική επέμβαση.

Οι δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν για να ακολουθήσουν γαλακτομετρήσεις αντιστοιχούν στις εξής ημερομηνίες :

Δειγματοληψία	Ημερομηνία
1	04/3/2009
2	27/03/2009
3	08/04/2009
4	14/04/2009
5	23/04/2009
6	05/05/2009

Οι ζυγίσεις των ζώων πραγματοποιήθηκαν στις παρακάτω ημερομηνίες :

Δειγματοληψία	Ημερομηνία
1	03/03/2009
2	27/03/2009
3	08/04/2009
4	15/04/2009
5	23/04/2009
6	06/05/2009
7	15/05/2009

Οι μέσες συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων που προσδιορίστηκαν στην τροφή που κατανάλωσαν τα ζώα κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.6 Μέσες συγκεντρώσεις ΛΟ (% των ολικών λιπαρών οξέων) της τροφής που χορηγήθηκε κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης

ΛΟ	ΜΗΔΙΚΗ	ΣΖ
C _{14:0}	20,7 ± 0,44	0,2 ± 0,03
C _{16:0}	34,0 ± 0,31	16,2 ± 0,07
C _{18:0}	3,1 ± 0,10	1,90 ± 0,08
C _{18:1}	3,3 ± 0,12	0,37 ± 0,08
C _{18:2n6C}	15,0 ± 0,45	76,8 ± 0,19
C _{18:3n3}	21,5 ± 0,42	2,7 ± 0,08

5.4. Λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των προβάτων

Α) Τα επιμέρους λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις (70%, 100%, 130%) παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1

Υποσιτισμός σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:1}, C_{24:0} σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά για όλα τα παραπάνω Λ.Ο εκτός από τα C_{16:1}, C_{24:0}.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα 4.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{17:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:3n6}, VA, LA, LNA, CLA C_{20:0}, C_{20:3}, EPA σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: C_{4:0}, C_{15:0}, C_{17:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{20:0}, C_{20:3}.

Υπερσιτισμός σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{17:1}, C_{18:3n6}, C_{24:0} σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:1}.

Αντίθετα, τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{13:0}, C_{15:0}, C_{15:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, VA, LA, LNA, CLA C_{20:0} σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, VA, LA, LNA.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{15:1}, VA, LA, LNA σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά για όλα τα παραπάνω Λ.Ο εκτός από το: C_{15:1}.

Επιπρόσθετα, τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{14:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{17:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, CLA, C_{20:0}, C_{20:3}, EPA, C_{24:0}, C_{18:3n6} σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: C_{17:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{20:3}, C_{18:3n6}.

Μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγματοληψιών (28^η ημέρα/49^η ημέρα) στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στα *επιμέρους* Λ.Ο: C_{17:1}, C_{18:0}, C_{18:1} και C_{24:0}, τα οποία είχαν υψηλότερες τιμές στην 2^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η, εκτός από το C_{24:0} λιπαρό οξύ, το οποίο είχε χαμηλότερη τιμή στη 2^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η. (πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1. Μέση συγκέντρωση (\pm SEM)¹ λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο λίπος του γάλακτος προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές

ΠΡΟΒΑΤΑ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (Δ)			SEM	ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗ ΨΙΑΣ(Η)		SEM	ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ			
	Λ.Ο	70 %	100 %		130 %	28 ^H ημέρ α		49 ^H ημέρα	Δ	H	ΔxH
C _{4:0}		5.20 ^a	4.43 ^{bc}	4.78 ^{ac}	0.212	4.75	4.85	0.173	0.004	NS	NS
C _{6:0}		2.43 ^a	2.86 ^b	3.31 ^c	0.162	2.93	2.80	0.132	***	NS	NS
C _{8:0}		1.83 ^a	2.63 ^b	3.16 ^c	0.191	2.65	2.43	0.156	***	NS	NS
C _{10:0}		5.13 ^a	8.53 ^b	9.67 ^c	0.590	8.21	7.34	0.463	***	NS	NS
C _{11:0}		0.01 ^a	0.05 ^b	0.07 ^b	0.020	0.05	0.03	0.016	0.007	NS	NS
C _{12:0}		3.02 ^a	5.18 ^b	5.39 ^b	0.377	4.79	4.28	0.308	***	NS	NS
C _{13:0}		0.01	0.01	0.02	0.014	0.01	0.01	0.011	NS	NS	NS
C _{14:0}		10.98 ^a	13.64 ^b	12.45 ^c	0.475	12.46	12.26	0.388	***	NS	NS
C _{14:1}		0.32 ^a	0.49 ^b	0.29 ^a	0.066	0.38	0.36	0.054	0.008	NS	NS
C _{15:0}		1.10 ^a	0.95 ^{bc}	1.00 ^{ac}	0.075	0.97	1.07	0.061	NS	NS	NS
C _{15:1}		0.04	0.04	0.09	0.030	0.05	0.07	0.025	NS	NS	*
C _{16:0}		29.88	29.59	27.65	1.122	28.69	29.39	0.916	NS	NS	NS
C _{16:1}		1.49 ^{ab}	1.67 ^a	1.31 ^b	0.160	1.47	1.51	0.131	NS	NS	NS
C _{17:1}		0.29 ^a	0.23 ^b	0.21 ^b	0.130	0.22 ^a	0.26 ^b	0.018	0.008	*	NS
C _{18:0}		7.68 ^a	5.29 ^b	6.23 ^b	0.564	5.92 ^a	6.89 ^b	0.461	0.001	*	NS
C _{18:1}		18.75 ^a	13.17 ^b	13.19 ^b	0.959	13.95 ^a	16.12 ^b	0.783	***	0.09	NS
C _{18:1 trans-11} , VA		2.08 ^a	1.94 ^a	2.97 ^b	0.347	2.16	2.50	0.283	0.01	NS	NS
C _{18:2n6c} , LA		3.01 ^a	2.71 ^a	3.83 ^b	0.273	3.05	3.32	0.223	***	NS	NS
C _{18:3n6}		0.06 ^a	0.02 ^{ab}	0.01 ^b	0.022	0.02	0.04	0.018	NS	NS	NS
C _{18:3n3} , LNA		0.32 ^a	0.32 ^a	0.41 ^b	0.034	0.34	0.36	0.027	0.01	NS	NS
CLA _{c-9t-11}		0.89	0.78	0.87	0.086	0.80	0.89	0.070	NS	NS	NS
C _{20:0}		0.29 ^a	0.21 ^b	0.24 ^{ab}	0.034	0.22	0.27	0.028	NS	NS	NS
C _{20:3}		0.31 ^a	0.25 ^b	0.25 ^b	0.029	0.27	0.027	0.024	NS	NS	NS
EPA		0.05	0.01	0.01	0.024	0.02	0.03	0.019	NS	NS	NS
C _{24:0}		4.86	5.01	2.59	1.422	5.65 ^a	2.65 ^b	1.161	NS	*	NS

B) Οι συγκεντρώσεις των ομαδοποιημένων Λ.Ο_ (SC-SFA,MC-SFA,LC-SFA,SFA,PUFA,MUFA,S/U,AI) και οι τιμές του λόγου Κ/Α και του ΑΔ στο λίπος του γάλακτος των προβάτων στις 3 διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις, παρουσιάζονται στον πίνακα 4.2.

Υποσιτισμός σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.2 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: SC-SFA,MC-SFA,SFA,S/U,AI σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά για όλα τα παραπάνω ομαδοποιημένα Λ.Ο ($p > 0.05$).

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα 4.2 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: LC-SFA,PUFA,MUFA σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα MUFA ($p > 0.05$).

Υπερσιτισμός σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.2 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: MC-SFA,LC-SFA,SFA,S/U,AI σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα LC-SFA, AI. Αντίθετα, τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: SC-SFA,PUFA,MUFA σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: SC-SFA και PUFA.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.2 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα: SC-SFA,MC-SFA,SFA,PUFA,S/U,AI σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά για όλες τις παραπάνω ομαδοποιήσεις Λ.Ο εκτός από τα PUFA. Επιπρόσθετα, τα πρόβατα που

υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα: LC-SFA, MUFA σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά και για τα 2 παραπάνω ομαδοποιημένα Λ.Ο.

Όσον αφορά στα *ομαδοποιημένα* λιπαρά οξέα των προβάτων, παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μόνο στα SFA, MUFA, S/U, AI ανάμεσα στις δυο δειγματοληψίες. Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των τιμών από τον υποσιτισμό προς τον υπερσιτισμό, εκτός από τα MUFA όπου παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της τιμής (πίνακας 4.2).

Πίνακας 4.2. Μέση συγκέντρωση (\pm SEM)¹ των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο λίπος του γάλακτος προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΠΡΟΒΑΤΑ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ (Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
	70 %	100 %	130 %	SEM	28 ^H ΗΜΕΡΑ	49 ^H ΗΜΕΡΑ	SEM	Δ	Η	Δx Η
SC-SFA	14.58 ^a	18.50 ^b	20.98 ^c	0.972	18.58	17.45	0.794	***	NS	NS
MC-SFA	15.11 ^a	19.78 ^b	18.86 ^b	0.776	18.22	17.61	0.634	***	NS	NS
LC-SFA	42.71 ^a	40.10 ^a	36.71 ^b	1.332	40.47	39.20	1.088	***	NS	NS
SFA	72.39 ^a	78.38 ^b	76.54 ^b	1.283	77.28 ^a	24.27 ^b	1.048	***	0.007	NS
PUFA	4.64 ^{ab}	4.09 ^a	5.39 ^b	0.368	4.50	4.92	0.301	**	NS	NS
MUFA	22.96 ^a	17.53 ^b	18.08 ^b	0.991	18.23 ^a	20.82 ^b	0.810	***	0.003	NS
S/U	2.75 ^a	3.73 ^b	3.31 ^b	0.227	3.54 ^a	2.98 ^b	0.185	**	0.004	NS
AI	2.93 ^a	4.25 ^b	3.57 ^c	0.246	3.83 ^a	3.33 ^b	0.241	***	NS	NS

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P \leq 0,05).

Γ) Οι λόγοι της ενεργότητας της Δ⁹αφυδρογονάσης, C_{14:1}/C_{14:0} (d₁), C_{16:1}/C_{16:0} (d₂), C_{18:1}/C_{18:0} (d₃), CLA_{c-9t-11}/VA (d₄), στα πρόβατα κατά τις 3 διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3.

Η τάση που παρατηρήθηκε ανάμεσα από τον υποσιτισμό προς τον υπερσιτισμό είναι να μειώνονται οι λόγοι d₁, d₂, d₃, d₄. Στους λόγους d₃, d₄ δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά, γεγονός που δεν ισχύει για τους δυο επόμενους λόγους d₁, d₂. Επίσης θα πρέπει να σημειωθεί ότι και για τους τέσσερις λόγους παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού.

Τέλος, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στους λόγους της Δ⁹ αφυδρογονάσης ανάμεσα στις δυο δειγματοληψίες. (πίνακας 4.3).

Πίνακας 4.3. Οι μέσες τιμές (±SEM)¹ των λόγων της ενεργότητας της Δ⁹ αφυδρογονάσης στο γάλα των προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΠΡΟΒΑΤΑ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ(Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ(Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
	Λ.Ο	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η
C _{14:1} /C _{14:0} (d ₁)	0.028 ^{ab}	0.034 ^a	0.024 ^b	0.004	0.029	0.028	0.003	NS	NS	NS
C _{16:1} /C _{16:0} (d ₂)	0.049 ^{ab}	0.056 ^a	0.047 ^b	0.004	0.050	0.051	0.004	NS	NS	NS
C _{18:1} /C _{18:0} (d ₃)	2.496 ^a	2.584 ^a	2.165 ^b	0.153	2.424	2.406	0.125	*	NS	NS
CLA _{c-9t-11} /VA (d ₄)	0.451 ^a	0.414 ^a	0.309 ^b	0.033	0.399	0.384	0.027	***	NS	NS

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με το χρόνο δειγματοληψίας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές εκτός από το λιπαρό οξύ C_{15:1}.(πίνακες 4.1, 4.2, 4.3).

5.5 Λιπαρά οξέα του αίματος των προβάτων

Α) Τα *επιμέρους* λιπαρά οξέα στο αίμα των προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις (70%, 100%, 130%) παρουσιάζονται στον πίνακα 5.1

Υποσιτισμός σε σχέση με Ομάδα του Μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 5.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{16:0}, C_{18:3n6}, VA, LA, LNA, σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά για όλα τα παραπάνω λιπαρά οξέα εκτός από το VA.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πίνακα 5.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{6:0}, C_{15:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{20:3}, C_{24:0} και EPA, σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. Τα αποτελέσματα είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα λιπαρά οξέα που αναφέρονται παραπάνω εκτός από το λιπαρό οξύ C_{15:0}.

Υπερσιτισμός σε σχέση με Ομάδα του Μάρτυρα

Τα αποτελέσματα του πίνακα 5.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{14:0}, C_{15:0}, C_{17:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, VA, LNA, C_{20:3} σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο στα λιπαρά οξέα C_{18:0} και C_{18:1}.

Αντίθετα, τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{6:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, LA, C_{18:3n6}, EPA, C_{24:0} σε σχέση με τα πρόβατα που διατρέφονταν στο 100% των αναγκών τους, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για το: C_{6:0}.

Υποσιτισμός σε σχέση με Υπερσιτισμό

Τα αποτελέσματα του πίνακα 5.1 δείχνουν ότι τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, VA, LA, C_{18:3n6} , σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: C_{16:0}, LA, C_{18:3n6}.

Επιπρόσθετα, τα πρόβατα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα Λ.Ο: C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{15:0}, C_{17:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, LNA, C_{20:3}, EPA, C_{24:0} σε σχέση με τα πρόβατα που υπερσιτίζονταν, αλλά τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά μόνο για τα: C_{15:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{20:3} και C_{24:0}.

Β) Μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγματοληψιών (28^η ημέρα/49^η ημέρα) στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσίασαν μόνο τα Λ.Ο: C_{15:0}, C_{18:1} τα οποία είχαν υψηλότερη τιμή στην 2^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η. (πίνακας 5.1).

Γ) Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με το χρόνο δειγματοληψίας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα περισσότερα λιπαρά οξέα εκτός από τα C_{8:0} και C_{14:0}.(πίνακας 5.1).

Πίνακας 5.1 Μέση συγκέντρωση (\pm SEM)¹ λιπαρών οξέων (% των ολικών λιπαρών οξέων) στο αίμα προβάτων στις τρεις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις και στις δύο διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

ΠΡΟΒΑΤΑ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (Δ)				ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ (Η)			ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ		
	70%	100%	130%	SEM	28η ημέρα	49η ημέρα	SEM	Δ	Η	Δ (X) Η
C _{4:0}	0.39 ^a	0.16 ^{bc}	0.31 ^{ac}	0.097	0.24	0.33	0.079	NS	NS	NS
C _{6:0}	0.14 ^a	0.06 ^b	0.11 ^a	0.036	0.08	0.12	0.030	NS	NS	NS
C _{8:0}	0.03 ^a	0.02	0.01 ^{ac}	0.010	0.03 ^a	0.01 ^a	0.008	*	0.001	*
C _{14:0}	0.05	0.54	0.39	0.086	0.45	0.50	0.071	NS	NS	*
C _{15:0}	0.78 ^a	0.77 ^{ab}	0.60 ^b	0.088	0.63 ^a	0.81 ^b	0.072	NS	*	NS
C _{16:0}	17.45 ^a	19.43 ^b	19.57 ^b	0.601	18.88	18.75	0.491	0.001	NS	NS
C _{16:1}	0.53	0.76	3.15	2.091	2.22	0.74	1.707	NS	NS	NS
C _{17:0}	1.23	1.12	1.08	0.137	1.11	1.17	0.112	NS	NS	NS
C _{18:0}	25.89 ^a	23.93 ^b	21.93 ^c	0.679	23.69	24.14	0.554	***	NS	NS
C _{18:1}	14.98 ^a	13.57 ^b	12.19 ^c	0.525	13.06 ^a	14.09 ^b	0.429	***	*	NS
C _{18:1} <i>trans-11,VA</i>	2.01	2.17	2.14	0.275	2.05	2.16	0.225	NS	NS	NS
C _{18:2n6c, LA}	25.43 ^a	29.37 ^b	30.86 ^b	1.159	28.67	28.44	0.946	***	NS	NS
C _{18:3n6}	0.09 ^a	0.30 ^b	0.42 ^b	0.078	0.25	0.29	0.064	0.001	NS	NS
C _{18:3n3, LNA}	1.47	1.59	1.36	0.143	1.45	1.50	0.117	NS	NS	NS
C _{20:3}	7.2 ^a	5.5 ^b	5.2 ^b	0.321	6.06	5.93	0.262	***	NS	NS
EPA	0.38 ^a	0.15 ^b	0.17 ^{ab}	0.112	0.27	0.19	0.092	NS	NS	NS
C _{24:0}	1.30 ^a	0.41 ^b	0.44 ^b	0.222	0.67	0.77	0.181	***	NS	NS

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05).

5.6. Ινσουλίνη - Λεπτίνη

Τα αποτελέσματα της μέτρησης των συγκεντρώσεων των ορμονών ινσουλίνης – λεπτίνης όπως αυτά προέκυψαν από την πειραματική μελέτη παρουσιάζονται στον πίνακα 6.1

Λεπτίνη

Για τη λεπτίνη παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα του υποσιτισμού και του υπερσιτισμού με σημαντικά αυξημένη τιμή στην ομάδα του υπερσιτισμού (πίνακας 6.1).

Ινσουλίνη

Ομοίως για την ινσουλίνη, παρατηρήθηκε σημαντικά αυξημένη τιμή στην διατροφική επέμβαση του υπερσιτισμού σε σχέση με την ομάδα του υποσιτισμού (πίνακας 6.1).

Πίνακας 6.1 Μέσες συγκεντρώσεις λεπτίνης και ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος των προβάτων στις τρεις διατροφικές επεμβάσεις.

ΠΡΟΒΑΤΑ		
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	ΛΕΠΤΙΝΗ	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ
70%	1,34 ^a ± 0,325	0,62 ^a ± 0,261
100%	1,64 ^a ± 0,325	0,89 ^{ab} ± 0,261
130%	2,22 ^b ± 0,325	1,33 ^b ± 0,261

¹SEM = Τυπικό σφάλμα των μέσων

Μέσοι όροι με διαφορετικούς εκθέτες (a, b) σε κάθε στήλη διαφέρουν σημαντικά (P≤0,05).

6. Συζήτηση

Όπως έχει αναφερθεί και στην εισαγωγή η διατροφή αποτελεί βασικό παράγοντα στη διαμόρφωση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων των μηρυκαστικών. Ωστόσο, ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο παίζει το επίπεδο της διατροφής που όπως έχει αναφερθεί σε διάφορες μελέτες (Tsiplakou et al., Chilliard et al. 2000, Zervas 1998) επηρεάζει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των επιμέρους λιπαρών οξέων καθώς και τα επίπεδα των ορμονών όπως η λεπτίνη και η ινσουλίνη οι οποίες εμπλέκονται στις διαδικασίες ρύθμισης της μεταβολικής ομοιοστασίας του οργανισμού (Tsiplakou et al., 2011).

Στην παρούσα μελέτη διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των σωματικών βαρών στις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις με την ομάδα του υποσιτισμού να παρουσιάζει το μικρότερο σωματικό βάρος. Οι διαφορές αυτές μπορούν να αποδοθούν στο χαμηλότερο επίπεδο διατροφής το οποίο πιθανόν οδήγησε στον καταβολισμό του σωματικού λίπους προκειμένου να καλυφθούν οι ανάγκες των ζώων (Caldeira et al. 2007). Όσον αφορά στην διορθωμένη γαλακτοπαραγωγή αυτή παρουσιάζεται αυξημένη στην ομάδα του υπερσιτισμού και φαίνεται ότι επιβεβαιώνεται η αρνητική συσχέτιση του ύψους της γαλακτοπαραγωγής με τη συγκέντρωση του λίπους του γάλακτος (Morand-Fehr et al. 2007). Όπως αναφέρεται και από τους Morand – Fehr et al., (2007) το αυξημένο επίπεδο διατροφής συνεπάγεται αύξηση της γαλακτοπαραγωγής με ταυτόχρονη μείωση του λίπους του γάλακτος. Ωστόσο τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνητών, οι οποίοι διαπίστωσαν ότι το αυξημένο επίπεδο διατροφής είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη συγκέντρωση πρωτεΐνης στο γάλα έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όπου διαπιστώθηκε ότι τα ζώα που υποσιτίζονταν δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση της πρωτεΐνης στο γάλα σε σχέση με τα ζώα που υπερσιτίζονταν. Το γεγονός αυτό πιθανότατα να οφείλεται στο ότι η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στο γάλα διερευνήθηκε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (4 μήνες) από ότι έχει αναφερθεί έως τώρα στη βιβλιογραφία, περιορίζοντας με αυτό τον τρόπο της επίδραση του επιπέδου διατροφής στη συγκέντρωση της πρωτεΐνης.

Παρόλο που η ομάδα του υποσιτισμού παρουσίασε μικρότερη γαλακτοπαραγωγή και θα αναμενόταν ότι η έλλειψη θρεπτικών συστατικών θα είχε επίδραση στη σύνθεση του γάλακτος και κατά συνέπεια στη

συγκέντρωση της λακτόζης. Ωστόσο, η απουσία διαφορών ανάμεσα στις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις τόσο σε ότι αφορά στη συγκέντρωση της λακτόζης, όσο και των ολικών στερεών και των ολικών στερεών άνευ λίπους έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των Tsiplakou et al. (2011) οι οποίοι προσδιόρισαν χαμηλότερη συγκέντρωση λακτόζης σε αίγες που υποσιτίζονταν. Τα διαφορετικά αποτελέσματα που βρέθηκαν στη παρούσα μελέτη πιθανόν να μπορούν να αποδοθούν στο διαφορετικό είδος του ζώου.

Αν και η επίδραση του επιπέδου διατροφής στα χημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος έχει μελετηθεί εκτενώς η βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση του υποσιτισμού και υπερσιτισμού στο προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος των προβάτων είναι περιορισμένη. Τα αποτελέσματα όσον αφορά στη συγκέντρωση του C_{4:0}, το οποίο συντίθεται *de novo*, έδειξαν αριθμητικά υψηλότερη συγκέντρωση στον υποσιτισμό σε σχέση με το μάρτυρα και τον υπερσιτισμό το οποίο πιθανόν να μπορεί να αποδοθεί στο ενδεχόμενο ότι η καρβοξυλάση του ακέτυλο- CoA δεν αποτελεί τη μοναδική πρόδρομη ουσία για τη σύνθεση του C_{4:0} στο λίπος του γάλακτος (Palmquist et al. 1993). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν στατιστικώς σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις στα C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{11:0}, C_{12:0}, C_{14:0} στην ομάδα του υποσιτισμού σε σχέση με τις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού, ενώ στο C_{17:1} η ομάδα του υποσιτισμού παρουσιάζει στατιστικώς μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σχέση με τις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού. Τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Gomez- Cortes et al. (2011) οι οποίοι προσδιόρισαν μειωμένη συγκέντρωση κορεσμένων λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος προβάτων που είχαν χαμηλότερο επίπεδο διατροφής. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση των λιπαρών οξέων μακράς αλύσου το οποίο επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όπου το C_{18:0} προσδιορίστηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο λίπος του γάλακτος των προβάτων που διατρέφονταν σε χαμηλότερο επίπεδο διατροφής. Η αυξημένη συγκέντρωση των δύο αυτών ακόρεστων λιπαρών οξέων θα μπορούσε πιθανόν να αποδοθεί στη σύνθεσή τους στο μαστικό αδένα κατά την αφυδρογόνωση του στεατικού οξέος που προέρχεται από το πλάσμα του αίματος (Lock and Garnsworthy, 2003). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Tsiplakou and Zervas (2008), Νήτας και συν. (2009) και

Gomez – Cortez et al. (2011) οι οποίοι προσδιόρισαν αυξημένες συγκεντρώσεις C_{18:0} στο λίπος του γάλακτος των προβάτων στο σιτηρέσιο των οποίων είχαν προσθέσει ελαιούχα σπέρματα αποδίδοντας τα αποτελέσματα αυτά σε διαφορές που εντοπίζονται στο pH της μεγάλης κοιλίας, στη μορφή των λιπαρών οξέων που καταναλώνονται μέσω του σιτηρεσίου από τα ζώα, καθώς και στην αναλογία των μικροοργανισμών εντός της μεγάλης κοιλίας. Επίσης οι διαφορές που παρατηρούνται θα μπορούσαν να αποδοθούν στην ενεργοποίηση του λίπους από το λιπώδη ιστό των ζώων καθώς το C_{18:0} είναι το κύριο λιπαρό οξύ το οποίο απελευθερώνεται από το λιπώδη ιστό κατά τη διάρκεια της λιπόλυσης (Gillis et al. 2004, Kay et al. 2005). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έρχονται σε συμφωνία με τους Tsiplakou et al. (2011) οι οποίοι προσδιόρισαν αντίστοιχες συγκεντρώσεις στα παραπάνω λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος αιγών που υποσιτίζονταν. Αντίθετα οι (Stoop 2008) και (Stoop et al. 2009) προσδιόρισαν μικρότερες συγκεντρώσεις στο C_{18:0} στο λίπος του γάλακτος γαλακτοπαραγωγών αγελάδων στο πρώτο στάδιο της γαλακτοπαραγωγής που διατρέφονταν με αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας σε σχέση με τα ζώα της ομάδας του μάρτυρα.

Όσον αφορά στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) του λίπους του γάλακτος στην παρούσα μελέτη το C_{18:3n3} προσδιορίστηκε σε χαμηλότερη συγκέντρωση στα ζώα της ομάδας του υποσιτισμού σε σχέση με τα ζώα των ομάδων του μάρτυρα και του υπερσιτισμού μπορεί να αποδοθεί στην μειωμένη βιοϋδρογόνωσή του από τους μικροοργανισμούς στη μεγάλη κοιλία (Huang et al. 2008). Αντίθετα το EPA (C_{20:5}), το οποίο σύμφωνα με το (Raclot 2003) ανήκει στην ομάδα των λιπαρών οξέων που κινητοποιούνται περισσότερο προκειμένου να μεταφερθούν από το λιπώδη ιστό στο λίπος του γάλακτος του ζώου, παρουσιάστηκε αυξημένο στα ζώα της ομάδας του υποσιτισμού γεγονός που πιθανόν να μπορεί να αποδοθεί στην περιορισμένη βιοϋδρογόνωσή του από το μικροβιακό οικοσύστημα. Η ιδιαίτερη σημασία του ευρήματος αυτού επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές κυρίως σε ότι αφορά στην προστασία των καταναλωτών από καρδιαγγειακά νοσήματα καθώς είναι ευρέως διαδεδομένη η άμεση συσχέτιση της κατανάλωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και της προστασίας που παρέχουν έναντι

της δημιουργίας αθηρωματικών πλακών (Minihane 2007, Mensink et al. 2003).

Όπως αναφέρεται από διάφορους ερευνητές (Fellner et al., 1995, (Griinari et al. 2000), (Kelsey et al. 2003), Huang et al., 2008) το CLA αποτελεί προϊόν βιοϋδρογόνωσης είτε του C_{18:2} και του C_{18:3} στη μεγάλη κοιλία είτε συντίθεται ενδογενώς στο μαστικό αδένα ή στο λιπώδη ιστό. Στην παρούσα εργασία η αριθμητικά υψηλότερη συγκέντρωση CLA που παρατηρήθηκε στα ζώα της ομάδας του υποσιτισμού σε σχέση με τα ζώα των ομάδων του μάρτυρα και του υπερσιτισμού συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Tsiplakou et al. (2011) οι οποίοι βρήκαν αντίστοιχα αποτελέσματα σε αίγες και των (Jiang et al. 1996) σε αγελάδες, ενώ έρχεται σε αντίθεση με τη μειωμένη συγκέντρωση CLA που προσδιόρισαν οι Stanton et al. (1997) σε αγελάδες. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με την αυξημένη συγκέντρωση του C_{18:1} στα ζώα της ομάδας του υποσιτισμού μπορούν να αποδοθούν στο χαμηλότερο επίπεδο διατροφής καθώς όπως είναι γνωστό η διαθεσιμότητα των υποστρωμάτων για τη σύνθεση των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος επηρεάζεται από την κατανάλωση της τροφής και το pH της μεγάλης κοιλίας (Tsiplakou et al. 2011).

Η στατιστικώς σημαντικά αυξημένη συγκέντρωση των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων (LCFA) που παρατηρήθηκε στα ζώα που υποσιτίζονταν σε σχέση με αυτά του μάρτυρα και του υπερσιτισμού πιθανόν να οφείλονται στην περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε λιπαρά οξέα τα οποία μεταφέρονται στο μαστικό αδένα μέσω του πλάσματος του αίματος. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα των (Garnsworthy et al. 2006) και των (Van Knegsel et al. 2007) οι οποίοι βρήκαν ότι σε αγελάδες που υπερσιτίζονταν η συγκέντρωση των LCFA μειωνόταν.

Αντίθετα με τα LCFA το προφίλ των μεσαίας (MCFA) και μικρής αλύσου (SCFA) λιπαρών οξέων ήταν στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερα στα ζώα που διατρέφονταν με χαμηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο σε σχέση με τα ζώα που μάρτυρα και αυτά που υπερσιτίζονταν και συμφωνούν με τα αποτελέσματα των (Ekn s et al. 2006)) και Tsiplakou et al. (2011) και αυτά των Kay et al. (2004) σε αγελάδες. Τα παραπάνω αποτελέσματα πιθανόν να μπορούν να αποδοθούν στο γεγονός ότι όταν η διαθέσιμη από το σιτηρέσιο

ενέργεια μειώνεται προκαλεί μείωση της de novo σύνθεσης των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος (Palmquist et al. 1993).

Όσον αφορά στα λιπαρά οξέα του πλάσματος του αίματος των προβάτων το C_{18:1} παρουσιάστηκε στατιστικώς υψηλότερο στην ομάδα του υποσιτισμού, ενώ το C_{18:2n6c} και C_{18:3n6} προσδιορίστηκε χαμηλότερο στην ίδια ομάδα ζώων σε σχέση με τις ομάδες του μάρτυρα και του υπερσιτισμού. Η πιθανή εξήγηση για το παραπάνω αποτέλεσμα πιθανόν να μπορεί να αποδοθεί στο ότι τα παραπάνω λιπαρά οξέα προέρχονται από την τροφή και μεταφέρονται στο μαστικό αδένα μέσω του πλάσματος του αίματος. Αντίστοιχα αποτελέσματα προσδιορίστηκαν σε αίγες από τους Tsiplakou et al. (2011) και σε αγελάδες από τους Ponter et al. (2000) και σε πρόβατα από τους (Jackson and Winkler 1970, Brumby et al. 1975).

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ομοιοστασίας του οργανισμού των ζώων παίζουν οι ορμόνες λεπτίνη και ινσουλίνη. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν σε ότι αφορά στη συγκέντρωση της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος των προβάτων ότι τα ζώα που υποσιτίζονταν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μικρότερη συγκέντρωση λεπτίνης σε σχέση με τα ζώα που υπερσιτίζονταν. Όπως αναφέρεται και από άλλους ερευνητές (Block et al. 2001) η συγκέντρωση της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος έχει ανάλογη σχέση με το επίπεδο διατροφής καθώς παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα της ορμόνης αυτής σε αγελάδες που διατρέφονταν με σιτηρέσιο υψηλού ενεργειακού περιεχομένου. Επιπλέον έχει διαπιστωθεί θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της λεπτίνης και της ινσουλίνης όπως παρατηρείται και από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των (Zhang et al. 2006) οι οποίοι δεν παρατήρησαν διαφορές στα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος σε ζώα που διατρέφονταν με σιτηρέσια με διαφορετικό ενεργειακό περιεχόμενο.

Σχετικά με τα αποτελέσματα της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος των προβάτων παρατηρήθηκαν αντίστοιχα αποτελέσματα με αυτά της λεπτίνης όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Όπως έχει αναφερθεί και στη βιβλιογραφία (Vi oles et al. 2005), (Caldeira et al. 2007) η θετική συσχέτιση που υπάρχει ανάμεσα στα επίπεδα της ινσουλίνης του πλάσματος του αίματος και του ενεργειακού περιεχομένου της τροφής αποτελεί δείκτη της

ενεργειακής κατάστασης του ζώου. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνονται και από άλλους ερευνητές (Vi oles et al. 2005), Zhang et al. 2005, (Llewellyn et al. 2007), (Todini 2007).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης σε ότι αφορά στην ενεργότητα της Δ9-αφυδρογονάσης έδειξαν ότι οι λόγοι $C_{18:1}/C_{18:0}$ και $CLA\ c-9t-11/VA$ ήταν υψηλότεροι στα ζώα της ομάδας του υποσιτισμού. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε πιθανόν να αποδοθεί στην υψηλότερη συγκέντρωση του λιπαρού οξέος $C_{18:0}$ στο πλάσμα του αίματος των προβάτων, το οποίο αποτελεί το καταλληλότερο υπόστρωμα για τη δράση της Δ9-αφυδρογονάσης στο μαστικό αδέν. Στο ίδιο συμπέρασμα όσον αφορά στο ρόλο του $C_{18:0}$ στην δράση της Δ9-αφυδρογονάσης στο μαστικό αδένά κατέληξαν και οι (Tsiplakou et al. 2009).

Βιβλιογραφία

- Ahima, R. S. and J. S. Flier (2000). "Leptin." Annual Review of Physiology **62**: 413.
- Ahima, R. S., C. B. Saper, et al. (2000). "Leptin Regulation of Neuroendocrine Systems* 1." Frontiers in Neuroendocrinology **21**(3): 263-307.
- Barber, M. C., R. A. Clegg, et al. (1997). "Lipid metabolism in the lactating mammary gland." Biochimica et Biophysica Acta **1347**(2-3): 101.
- Block, S., W. Butler, et al. (2001). "Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance." Journal of Endocrinology **171**(2): 339.
- Block, S., R. Rhoads, et al. (2003). "Demonstration of a Role for Insulin in the Regulation of Leptin in Lactating Dairy Cows1." Journal of dairy science **86**(11): 3508-3515.
- Bocquier, F. and G. Caja (2001). "Effects of nutrition on ewes' milk quality." INRA Prod. Anim **14**: 129-140.
- Caldeira, R., A. Belo, et al. (2007). "The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes." Small Ruminant Research **68**(3): 242-255.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, et al. (2000). "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." Livestock Production Science **70**(1-2): 31-48.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, et al. (2003). "A Review of Nutritional and Physiological Factors Affecting Goat Milk Lipid Synthesis and Lipolysis1." Journal of dairy science **86**(5): 1751-1770.
- Chilliard, Y., F. Glasser, et al. (2007). "Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat." European Journal of Lipid Science and Technology **109**(8): 828-855.
- Chouinard, P., L. Corneau, et al. (2001). "Effect of Dietary Lipid Source on Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk Fat1, 2." Journal of dairy science **84**(3): 680-690.
- Dewhurst, R. J., W. J. Fisher, et al. (2003). "Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate." Journal of dairy science **86**(8): 2598-2611.
- Dhiman, T., G. Anand, et al. (1999). "Conjugated Linoleic Acid Content of Milk from Cows Fed Different Diets1." Journal of dairy science **82**(10): 2146-2156.

- Elmqvist, J. K., C. Bjoerbaek, et al. (1998). "Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain." The Journal of comparative neurology **395**(4): 535-547.
- Fantuzzi, G. and R. Faggioni (2000). "Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis." Journal of Leukocyte Biology **68**(4): 437.
- Farooqi, I. S., G. Matarese, et al. (2002). "Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency." Journal of Clinical Investigation **110**(8): 1093-1104.
- Foster, D. and S. Nagatani (1999). "Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty." Biology of Reproduction **60**(2): 205.
- Francis, S. and R. Bickerstaffe (1996). "The insulin status of sheep with genetic differences in glucose clearance." Domestic Animal Endocrinology **13**(2): 171-184.
- Gomez- Cortes et al (2011) Effect of the supplementation of dairy sheep diet with incremental amounts of sunflower oil on animal performance and milk fatty acid profile.
- Ingvarsen, K. L. and Y. Boisclair (2001). "Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants." Domestic Animal Endocrinology **21**(4): 215-250.
- Ip, C., S. Banni, et al. (1999). "Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats." The Journal of nutrition **129**(12): 2135.
- Itabashi, H. and L. Baevre (2001). "Trends in milk composition: Results of a survey by IDF (questionnaire 1993/A): Influence of feed on major components of milk." Bulletin-International Dairy Federation(366): 9-14.
- Kalscheur, K., B. Teter, et al. (1997). "Effect of Dietary Forage Concentration and Buffer Addition on Duodenal Flow of Trans-C18: 1 Fatty Acids and Milk Fat Production in Dairy Cows [1] and [2]." Journal of dairy science **80**(9): 2104-2114.
- Kay, J., T. Mackle, et al. (2004). "Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture." Journal of dairy science **87**(2): 369-378.
- Kelly, M. L., J. R. Berry, et al. (1998). "Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows." The Journal of nutrition **128**(5): 881.
- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 2004.
- Khanal, R. and K. Olson (2004). "Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: a review." Pakistan Journal of Nutrition **3**(2): 82-98.

Kida, S., S. A. Josselyn, et al. (2002). "CREB required for the stability of new and reactivated fear memories." nature neuroscience **5**(4): 348-355.

Liefers, S., R. Veerkamp, et al. (2003). "Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows." Journal of dairy science **86**(3): 799-807.

Lock, A. and P. Garnsworthy (2002). "Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk." Animal Science-Glasgow **74**(1): 163-176.

Loor, J., A. Ferlay, et al. (2005). "High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter trans and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk." Journal of dairy science **88**(11): 3986-3999.

Martin, L., P. Rodriguez, et al. (1999). "Effect of protected fat supplementation to lactating goats on growth and fatty acid composition of perirenal fat in goat kids." Animal Science **68**.

Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral action and interactions. Int J Obes Relat Metab Disord 2002;26:1407–33.

Ortavant, R., F. Bocquier, et al. (1988). "Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod." Australian journal of biological sciences **41**(1): 69-86.

Pariza, M. W., Y. Park, et al. (2000). "Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation." Experimental Biology and Medicine **223**(1): 8.

Payne, P. I. (1987). "Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality." Annual Review of Plant Physiology **38**(1): 141-153.

Pollott, G., D. Guy, et al. (1994). "Genetic parameters of lamb carcass characteristics at three end-points: fat level, age and weight." Animal Production **58**(01): 65-75.

Raynal-Ljutovac, K., G. Lagriffoul, et al. (2008). "Composition of goat and sheep milk products: An update." Small Ruminant Research **79**(1): 57-72.

Saad, M. F., S. Damani, et al. (1997). "Sexual dimorphism in plasma leptin concentration." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **82**(2): 579.

Sanz Sampelayo, M., Y. Chilliard, et al. (2007). "Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk." Small Ruminant Research **68**(1-2): 42-63.

Sidhu, K. S. (2003). "Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil* 1." Regulatory Toxicology and Pharmacology **38**(3): 336-344.

Sosa, C., J. Abecia, et al. (2009). "Early pregnancy alters the metabolic responses to restricted nutrition in sheep." Domestic Animal Endocrinology **36**(1): 13-23.

Stockdale, C. R., G. P. Walker, et al. (2003). "Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk." The Journal of dairy research **70**(3): 267-76.

Tsiplakou, E. and G. Zervas (2008). "The effect of dietary inclusion of olive tree leaves and grape marc on the content of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in the milk of dairy sheep and goats." Journal of Dairy Research **75**(03): 270-278.

Zabolotny, J. M., K. K. Bence-Hanulec, et al. (2002). "PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo." Developmental Cell **2**(4): 489-495.

Νήτας και συν 2009, Επίδραση ακατέργαστου και αλεσμένου βαμβακόσπορου στη χημική σύσταση, στο προφίλ των λιπαρών οξέων και στο CLA πρόβειου γάλακτος.

Ahima, R. S. and J. S. Flier (2000). "Leptin." Annual Review of Physiology **62**: 413.

Ahima, R. S., C. B. Saper, et al. (2000). "Leptin Regulation of Neuroendocrine Systems* 1." Frontiers in Neuroendocrinology **21**(3): 263-307.

Barber, M. C., R. A. Clegg, et al. (1997). "Lipid metabolism in the lactating mammary gland." Biochimica et Biophysica Acta **1347**(2-3): 101.

Block, S., W. Butler, et al. (2001). "Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance." Journal of Endocrinology **171**(2): 339.

Block, S., R. Rhoads, et al. (2003). "Demonstration of a Role for Insulin in the Regulation of Leptin in Lactating Dairy Cows¹." Journal of dairy science **86**(11): 3508-3515.

Bocquier, F. and G. Caja (2001). "Effects of nutrition on ewes' milk quality." INRA Prod. Anim **14**: 129-140.

Brumby, P. E., M. Anderson, et al. (1975). "Lipid metabolism in the cow during starvation-induced ketosis." Biochemical Journal **146**(3): 609.

Caldeira, R., A. Belo, et al. (2007). "The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes." Small Ruminant Research **68**(3): 242-255.

Chilliard, Y., A. Ferlay, et al. (2000). "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." Livestock Production Science **70**(1-2): 31-48.

Chilliard, Y., A. Ferlay, et al. (2003). "A Review of Nutritional and Physiological Factors Affecting Goat Milk Lipid Synthesis and Lipolysis¹." Journal of dairy science **86**(5): 1751-1770.

- Chilliard, Y., F. Glasser, et al. (2007). "Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat." European Journal of Lipid Science and Technology **109**(8): 828-855.
- Chouinard, P., L. Corneau, et al. (2001). "Effect of Dietary Lipid Source on Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk Fat1, 2." Journal of dairy science **84**(3): 680-690.
- Dewhurst, R. J., W. J. Fisher, et al. (2003). "Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate." Journal of dairy science **86**(8): 2598-2611.
- Dhiman, T., G. Anand, et al. (1999). "Conjugated Linoleic Acid Content of Milk from Cows Fed Different Diets1." Journal of dairy science **82**(10): 2146-2156.
- Ekn s, M., K. Kolstad, et al. (2006). "Changes in body reserves and milk quality throughout lactation in dairy goats." Small Ruminant Research **63**(1-2): 1-11.
- Elmqvist, J. K., C. Bjoerbaek, et al. (1998). "Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain." The Journal of comparative neurology **395**(4): 535-547.
- Fantuzzi, G. and R. Faggioni (2000). "Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis." Journal of Leukocyte Biology **68**(4): 437.
- Farooqi, I. S., G. Matarese, et al. (2002). "Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency." Journal of Clinical Investigation **110**(8): 1093-1104.
- Garnsworthy, P., L. Masson, et al. (2006). "Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows." Journal of dairy science **89**(5): 1604-1612.
- Gillis, M., S. Duckett, et al. (2004). "Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or corn oil on fatty acid composition of adipose tissues in beef cattle." Journal of animal science **82**(5): 1419.
- Griinari, J., B. Corl, et al. (2000). "Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by DELTA9-desaturase." The Journal of nutrition **130**(9): 2285.
- Ingvartsen, K. L. and Y. Boisclair (2001). "Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants." Domestic Animal Endocrinology **21**(4): 215-250.
- Ip, C., S. Banni, et al. (1999). "Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats." The Journal of nutrition **129**(12): 2135.

Itabashi, H. and L. Baevre (2001). "Trends in milk composition: Results of a survey by IDF (questionnaire 1993/A): Influence of feed on major components of milk." Bulletin-International Dairy Federation(366): 9-14.

Jackson, H. and V. Winkler (1970). "Effects of starvation on the fatty acid composition of adipose tissue and plasma lipids of sheep." Journal of Nutrition **100**: 201-207.

Jiang, F., R. A. Kumar, et al. (1996). "Structural basis of RNA folding and recognition in an AMP-RNA aptamer complex."

Kalscheur, K., B. Teter, et al. (1997). "Effect of Dietary Forage Concentration and Buffer Addition on Duodenal Flow of Trans-C18: 1 Fatty Acids and Milk Fat Production in Dairy Cows [1] and [2]." Journal of dairy science **80**(9): 2104-2114.

Kay, J., T. Mackle, et al. (2004). "Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture." Journal of dairy science **87**(2): 369-378.

Kay, J., W. Weber, et al. (2005). "Effects of Week of Lactation and Genetic Selection for Milk Yield on Milk Fatty Acid Composition in Holstein Cows*." Journal of dairy science **88**(11): 3886-3893.

Kelly, M. L., J. R. Berry, et al. (1998). "Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows." The Journal of nutrition **128**(5): 881.

Kelsey, J., B. Corl, et al. (2003). "The Effect of Breed, Parity, and Stage of Lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat from Dairy Cows1." Journal of dairy science **86**(8): 2588-2597.

Ketelslegers, J. M., D. Maiter, et al. (1995). "Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I* 1." Metabolism **44**: 50-57.

Khanal, R. and K. Olson (2004). "Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: a review." Pakistan Journal of Nutrition **3**(2): 82-98.

Liefers, S., R. Veerkamp, et al. (2003). "Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows." Journal of dairy science **86**(3): 799-807.

Llewellyn, S., R. Fitzpatrick, et al. (2007). "Effect of negative energy balance on the insulin-like growth factor system in pre-recruitment ovarian follicles of post partum dairy cows." Reproduction **133**(3): 627.

Lock, A. and P. Garnsworthy (2002). "Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk." Animal Science-Glasgow **74**(1): 163-176.

Loor, J., A. Ferlay, et al. (2005). "High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter trans and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk." Journal of dairy science **88**(11): 3986-3999.

Martin, L., P. Rodriguez, et al. (1999). "Effect of protected fat supplementation to lactating goats on growth and fatty acid composition of perirenal fat in goat kids." Animal Science **68**.

Mensink, R. P., P. L. Zock, et al. (2003). "Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials." The American journal of clinical nutrition **77**(5): 1146.

Minihane, A. M. (2007). "Dietary fat composition and cardiovascular disease." Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods **3**(2): 13-22.

Morand-Fehr, P., V. Fedele, et al. (2007). "Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk." Small Ruminant Research **68**(1-2): 20-34.

Palmquist, D., A. Denise Beaulieu, et al. (1993). "Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition1." Journal of dairy science **76**(6): 1753-1771.

Pariza, M. W., Y. Park, et al. (2000). "Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation." Experimental Biology and Medicine **223**(1): 8.

Raclot, T. (2003). "Selective mobilization of fatty acids from adipose tissue triacylglycerols." Progress in lipid research **42**(4): 257-288.

Raynal-Ljutovac, K., G. Lagriffoul, et al. (2008). "Composition of goat and sheep milk products: An update." Small Ruminant Research **79**(1): 57-72.

Sanz Sampelayo, M., Y. Chilliard, et al. (2007). "Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk." Small Ruminant Research **68**(1-2): 42-63.

Sidhu, K. S. (2003). "Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil* 1." Regulatory Toxicology and Pharmacology **38**(3): 336-344.

Stockdale, C. R., G. P. Walker, et al. (2003). "Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk." Journal of Dairy Research **70**(3): 267-276.

Stoop, R. (2008). "Smart biomaterials for tissue engineering of cartilage." Injury **39**(1): 77-87.

Stoop, W., A. Schennink, et al. (2009). "Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. I. Quantitative trait loci for short-and medium-chain fatty acids." Journal of dairy science **92**(9): 4664-4675.

- Todini, L. (2007). "Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors." animal **1**(7): 997-1008.
- Tsiplakou, E., S. Chadio, et al. "The effect of long term under-and over-feeding on milk and plasma fatty acids profile and on insulin and leptin concentrations of goats." International Dairy Journal.
- Tsiplakou, E., E. Flemetakis, et al. (2009). "Sheep and goats differences in CLA and fatty acids milk fat content in relation with mRNA stearoyl-CoA desaturase and lipogenic genes expression in their mammary gland." Journal of Dairy Research **76**(04): 392-401.
- Tsiplakou, E. and G. Zervas (2008). "The effect of dietary inclusion of olive tree leaves and grape marc on the content of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in the milk of dairy sheep and goats." Journal of Dairy Research **75**(03): 270-278.
- Van Knegsel, A., H. Van den Brand, et al. (2007). "Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition." Journal of dairy science **90**(3): 1467-1476.
- Vi oles, C., M. Forsberg, et al. (2005). "Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones." Reproduction **129**(3): 299.
- Zabolotny, J. M., K. K. Bence-Hanulec, et al. (2002). "PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo." Developmental Cell **2**(4): 489-495.
- Zervas, G. (1998). "Quantifying and optimizing grazing regimes in Greek mountain systems." Journal of Applied ecology **35**(6): 983-986.
- Zhang, R., A. Mustafa, et al. (2006). "Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese." Small Ruminant Research **63**(3): 233-241.