

УДК 577.11

UDC 577.11

ВОЗДЕЙСТВИЕ СЕМЯН ХЛОПЧАТНИКА И СЫРЫХ СОЕВЫХ БОБОВ НА ИЗОМЕРЫ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ И СОСТАВ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МОЛОКЕ ОВЕЦ**THE EFFECT OF COTTONSEED AND SOYBEAN SUPPLEMENTATION ON CLA ISOMERS AND OTHER UNSATURATED FATTY ACIDS COMPOSITION IN SHEEP MILK**

Мармарян Гаяне Юрьевна
к.б.н., доцент, gmarmaryan@gmail.com
Национальный аграрный университет Армении,
Ереван, Армения

Marmaryan Gayane Yurevna
Dr.Sc.(biol.), PhD, gmarmaryan@gmail.com
National Agrarian University of Armenia, Yerevan,
Armenia

Целью данного исследования было изучить влияние добавок к рациону овцематок различных концентраций цельных семян хлопчатника (СХ) и сырых соевых бобов (ССБ) на профиль жирных кислот и содержание конъюгированной линолевой кислоты овец. Полученные результаты свидетельствуют, что для повышения уровня цис-9, транс-11 изомера линолевой кислоты в молоке при обоих рационах предпочтительно применение второй концентрации (28% при СХ и 20% при ССБ). В содержании транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 изомеров в обоих случаях никаких изменений не регистрировалось.

The objective of the present study was to investigate the supplementation effect of different treatments of whole cottonseed and full fat soybean on the diet of dairy ewes and the milk fatty acid profile and conjugated linoleic acid (CLA) content. The results indicate for both diets it is most suitable to use the second treatment in order to increase the level of cis-9,trans-11 CLA isomer in milk. In the level of trans-10,cis-12 and cis-9, cis-11 no changes were observed in neither of the diets.

Ключевые слова: КОНЪЮГИРОВАННАЯ ЛИНОЛЕВАЯ КИСЛОТА, СЫРЫЕ СОЕВЫЕ БОБЫ, ЦЕЛЬНЫЕ СЕМЕНА ХЛОПЧАТНИКА.

Key words: CONJUGATED LINOLEIC ACID, FULL FAT SOYBEAN, WHOLE COTTONSEED.

Аннотация:

Установлено, что конъюгированная линолевая кислота обладает многими полезными свойствами. Возрастающий интерес к повышению содержания линолевой кислоты в молоке и других пищевых продуктах объясняется её потенциальными противоопухолевыми, противодиабетическими, противоатерогенными, иммуномодуляторными и липотропными функциями на экспериментальных моделях животных. Конъюгированная линолевая кислота (цис-9, транс-11 С 18:2), которая в естественном виде находится в пищевых продуктах, полученных от жвачных, относится к смеси позиционных и геометрических изомеров линолевой кислоты с двумя конъюгированными двойными связями в разных положениях цепи жирных кислот. Целью данного исследования было изучить влияние добавок к рациону овцематок различных концентраций цельных семян хлопчатника (СХ) и сырых соевых бобов (ССБ) на профиль жирных кислот и содержание конъюгированной линолевой кислоты овец. Образцы молока брали пять раз в течение 2.5 месяцев лактационного периода. Полученные результаты свидетельствуют, что для повышения уровня цис-9, транс-11 изомера линолевой кислоты в молоке при обоих рационах предпочтительно применение второй концентрации (28% при СХ и 20% при ССБ). В

содержании транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 изомеров в обеих случаях никаких изменений не регистрировалось. С целью повышения уровня цис-9, транс-11 изомера линолевой кислоты в молоке овец, возможно понадобятся дополнительные исследования, с использованием больших концентраций добавок.

Введение

Молоко и молочные продукты, играют существенную роль в питании человека. Рацион жвачных содержит относительно малое количество липидов. Исследования, проведенные на животных позволили установить, что добавление липидов в рацион влияет на концентрацию и состав жирных кислот в рубце [17].

Установлено, что состав жирных кислот (ЖК), входящих в состав пищи может влиять на обмен веществ и здоровье человека [8,19]. Пищевые жиры жвачных особенно богаты насыщенными ЖК благодаря экстенсивной микробной гидрогенизации диетических полиненасыщенных жирных кислот (ПННЖК) в рубце. Тем не менее, изомеризация и неполная гидрогенизация ПННЖК в рубце также способствуют образованию изомеров октадеценовых, октадекадиеновых и октадекатриеновых кислот [2], некоторые из которых наделены выраженными биологическими свойствами [14]. Такие изомеры линолевой кислоты, как например, C18:2 цис-9, транс 11 и C18:2 транс-10, цис-12 были широко изучены.

Установлено, что конъюгированная линолевая кислота обладает широким спектром полезных свойств [16]. Молоко, мясо и молочные продукты от жвачных являются основным источником линолевой кислоты в рационе человека. [12].

Конъюгированная линолевая кислота, которая в естественном виде находится в пищевых продуктах жвачных, относится к ряду позиционных и геометрических изомеров линолевой кислоты (цис-9, транс-12, C18:2) с двумя конъюгированными двойными связями в различных положениях цепи жирных кислот [11]. Конъюгированная линолевая кислота, находящаяся в молочном и мясном жире жвачных, происходит из двух источников. Первый - биогидрогенизация линолевой кислоты посредством *Butyrivibrio fibrisolvens*. Второй источник - синтезируемая тканями животных из транс-11 C18:1 (TVA) и других промежуточных метаболитов в процессе биогидрогенизации, с участием Δ^9 десатуразы [20].

C 18:2 цис-9, транс-11 изомер линолевой кислоты, который в незначительных количествах вырабатывается в рубце, и в основном присутствует в тканях или секретуруется в молоко, вырабатывается эндогенным путём посредством Δ^9 десатурации вакценовой кислоты [15]. Вакценовая кислота (C18:1 транс-11) также вырабатывается посредством биогидрогенизации ПННЖК, а её образование может быть значимым при специфических условиях кормления [2].

Было установлено, что цис-9, транс-11, являющийся основным изомером линолевой кислоты, предотвращает и замедляет образование определённых видов опухолей, диабета, атеросклероза, ожирения, роста костей. Было также выявлено, что вакценовая кислота действует одинаково эффективно при подавлении предопухолевых поражений в молочных железах крыс, рака толстой кишки и молочной железы человека посредством цис-9, транс-11 C18:2 изомера.

Полезные воздействия транс-11 C18:1 TVA и цис-9, транс-11 C 18:2 в основном проявлялись у животных и *in vitro* в клеточных культурах [3]. Таким образом, возрастающий интерес к повышению содержания конъюгированной линолевой кислоты в молоке и мясе жвачных объясняется вышеуказанными функциями. Существует множество факторов, влияющих на уровень линолевой кислоты в продуктах, полученных от жвачных, однако доминирующим является фактор рациона.

Восполнение рациона животных растительными кормами (соевые бобы, семена хлопчатника, подсолнух, кукуруза) [5,18,1], пастбищным кормлением [4], и уменьшение количества концентрированных кормов способствует увеличению выработки рубцом линолевой кислоты и ее выделению в молочный жир.

Таким образом, целью данного исследования явилось изучение, воздействия различных концентраций семян хлопчатника и сырых соевых бобов в рационе овец на жирнокислотный состав молока и концентрацию изомеров линолевой кислоты.

Материал и методы исследований

Под опытом находились 48 голов овцематок типа Боутсико, разводимых в овцеводческой ферме села Власти, расположенной на 170 км. к юго-западу от города Салоники (Греция). Животные были подразделены на 2 группы по 24 головы, а каждая группа в свою очередь на 3 подгруппы (по 8 голов). Первые подгруппы овцематок обеих групп – это контрольные животные, а две – подопытные. В рацион овец первой группы помимо пастбищного кормления добавляли 14 (вторая подгруппа) и 28% (третья подгруппа) семян хлопчатника (СХ), а во вторую – 10 и 20% сырых соевых бобов (ССБ) соответственно (рацион приводится в табл. 1 и 2).

Пробы молока брали пять раз (раз в две недели) в течение 2,5 месяцев лактационного периода (апрель-июнь).

Овцематок доили приблизительно в 08:30 утра и в 18:30 вечера в доильных пунктах. Жирные кислоты молока определяли в комбинированных образцах утренних и вечерних удоев. Пробы до проведения анализа хранились при температуре 80 °С.

Данная серия исследований была проведена при содействии сотрудников департамента животноводства А.Т.Е.И и Университета им. Аристотеля (Салоники).

Таблица 1. СОСТАВ ПЕРВОГО РАЦИОНА (ЦЕЛЬНЫЕ СЕМЕНА ХЛОПЧАТНИКА – СХ)

	Рацион (энергетическое соотношение, %)		
	1 (контр.)	2	3
Семена хлопчатника (СХ)	-----	14,00	28,00
Пшеничная солома	10,00	10,00	10,00
Люцерновое сено	30,00	30,00	30,00
Зерно ячменя	10,00	10,00	10,00
Зерно кукурузы	37,70	29,20	20,70
Мука соевых бобов	11,00	5,50	-----
Витамины и минералы	1,00	1,00	1,00
Соль	0,30	0,30	0,30
Суммарное	100,00	100,00	100,00

Таблица 2. СОСТАВ ВТОРОГО РАЦИОНА (СЫРЫЕ СОЕВЫЕ БОБЫ - ССБ)

	Рацион (энергетическое соотношение, %)		
	1 (контр.)	2	3
Сырые соевые бобы	-----	10,00	20,00
Пшеничная солома	20,00	20,00	20,00
Люцерновое сено	20,00	20,00	20,00
Зерно ячменя	16,00	17,00	18,00
Зерно кукурузы	26,70	23,70	20,70
Мука соевых бобов	16,00	8,00	-----
Витамины и минералы	1,00	1,00	1,00
Соль	0,30	0,30	0,30
Суммарное	100,00	100,00	100,00

Жирнокислотный Состав Молока

Жирнокислотный состав молока овец определяли газовой хроматографией GC Analysis Hewlett Packard 5890 серии (Waldbronn, Germany), калибр колонок DB23, длиной 60м (Folsom, CA, USA). Используемый газ - гелий со скоростью потока 0,93мл/мин (50°C). Экстракцию жира из образцов молока (50µl) проводили метанол-хлороформом (2:1) по Фолчу [7] после добавления метилового эфира в качестве стандарта [9]. Статистическая обработка полученных экспериментальных данных проводилась с использованием компьютерной программы SPSS MIXED Analysis of SAS and REML [13].

Результаты и Обсуждения

В таблице 3 приводится состав ННЖК молока овцематок, которым в рацион в разных концентрациях добавляли цельные семена хлопчатника (СХ) и сырые соевые бобы.

Как видно из данных, в случае введения в рацион СХ наблюдается значительное понижение содержания следующих мононенасыщенных жирных кислот (МННЖК): 10:1; 14:1w9; 16:1 w7; 17:1w7; 18:1w7c кислот.

Что касается уровня 18:1 w 9t (P<0,005; P<0,002) и 18:1w9c(P<0,001; P<0,04) МННЖК, то здесь регистрируется достоверное повышение.

Следует отметить, что аналогичная динамика наблюдалась в случае добавления в рацион сырых соевых бобов. Содержание 18:1w9t и 18:1w9c МННЖК с увеличением концентрации ССБ в рационе достоверно повышается, а концентрация остальных МННЖК (кроме 17:1) понижается. Результаты эксперимента указывают на то, что уровень 18:2w6t и 18:2w6c кислот в случае первого рациона достоверно повышается (P<0,001; P<0,05 соответственно). И наоборот, с увеличением в рационе концентрации СХ уровень 18:3 w3 жирных кислот достоверно понижается (P<0,05). Что касается остальных ПННЖК, то при добавлении в рацион цельных СХ, достоверных изменений не регистрировалось.

Таблица 3. ВЛИЯНИЕ РАЦИОНА НА УРОВЕНЬ ЖИРНЫХ МОЛОКА (Г/100 МЛ МОЛОКА)

ННЖК	Рацион					
	СХ			ССБ		
	1	2	3	1	2	3
10:1	0,028	0,017	0,009	0,032	0,022	0,021
14:1w9	0,018	0,011	0,008	0,021	0,016	0,016
16:1w7	0,063	0,045	0,043	0,074	0,056	0,057
18:1w9t	0,026	0,037	0,049	0,024	0,028	0,035
18:1w7t	0,031	0,028	0,019	0,039	0,03	0,028
18:1w9c	0,931	1,113	1,331	1,05	1,298	1,537
18:1w7c	0,027	0,022	0,027	0,027	0,021	0,024
18:2w6t	0,014	0,031	0,04	0,015	0,023	0,031
18:2w6c	0,131	0,154	0,204	0,139	0,148	0,209
18:3w6	0,005	0,004	0,004	0,006	0,004	0,005
18:3w3	0,022	0,017	0,017	0,021	0,023	0,03
цис-9,транс-11	0,037	0,032	0,053	0,023	0,023	0,053
транс-10,цис-12	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
цис-9,цис-11	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
18:04	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
20:3w6	0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
20:4w6	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
20:5w3	0,005	0,006	0,007	0,007	0,008	0,008
22:4w6	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
22:5w6	0,003	0,003	0,004	0,003	0,004	0,004
22:5w3	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
22:6w3	0,007	0,005	0,006	0,007	0,007	0,007
17:1	0,013	0,008	0,008	0,015	0,01	0,01

Продолжение таблицы 3

ННЖК	Рацион	
	СХ	ССБ
10:1	2**→3(P<0,001)	н/д
14:1w9	2→3**(P<0,02)	1→2 (P<0,03);1→3(P<0,02)
16:1w7	1*→2 (P<0,003);1→3(P<0,001)	1→2(P<0,04)

17:1	н/д	н/д
18:1ω9t	1→2 (P<0,05);2→3(P<0,02)	1→2(P<0,001)
18:1ω7t	2→3(P<0,02)	1→2(P<0,001)
18:1ω9C	1→3 (P<0,001);2→3(P<0,04)	1→2(P<0,003); 2→3(P<0,004)
18:1ω7C	1→2(P<0,04)	1→2(P<0,003)
18:2ω6t	2→3(P<0,001)	н/д
18:2ω6C	1→2(P<0,05)	н/д
18:3ω6	н/д	н/д
18:3ω3	1→2(P<0,05)	2→3(P<0,003)
цис-9,транс-11	2→3(P<0,03)	н/д

*доза 1; **доза 2; ***доза 3; н/д – не достоверно

По сравнению с первым рационом, при включении в рацион сырых соевых бобов достоверное увеличение регистрируется на уровне 18:3 ω3 жирных кислот. Относительно остальных кислот никаких изменений не отмечается.

Что же касается изомеров линолевой кислоты, то при добавлении в рацион овцематок СХ достоверно повышается только уровень доминирующего - цис-9, trans-11 изомера линолевой кислоты (P<0,03), в то время как в содержании двух других изомеров транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 сдвиги не регистрируются.

Анализируя полученные нами в течение всего периода экспериментов результаты (Таблица 4), можно отметить, что включение в рацион цельных семян хлопчатника способствует увеличению содержания МННЖК. Минимальная разница отмечалась в концентрации 10:1 и 17:1 кислот. Следует отметить достоверное повышение уровня 14:1ω9; 16:1ω7; 18:1ω7t и 18:1ω9c кислот в течение последних трёх недель исследования. Что касается 18:1ω9t кислоты, то ее уровень в течение второй недели исследования понижается, после чего следует достоверное повышение до четвертой недели и вновь понижение к пятой неделе исследований.

При включении в рацион подопытных животных ССБ уровень 10:1; 14:1; 16:1ω7t; 18:1ω7t; 18:1ω9c кислот постепенно повышается, в то время как в содержании 17:1 кислоты никаких сдвигов не отмечалось.

Несколько иная картина наблюдается в содержании 18:1ω7c кислоты. В период второй недели исследования её содержание достоверно понижается, затем в течение третьей и четвертой недель - повышается и уже к концу практически выравнивается с результатами первой недели исследования.

Анализируя динамику колебаний изомеров линолевой кислоты, следует отметить, что при включении в рацион СХ, достоверно повышается только концентрация доминирующего цис-9, транс-11 изомера, в то время как уровень остальных транс-10; цис-12, цис-9; цис-11

изомеров практически не подвергается изменениям -ни при первом ни при втором рационах.

Представляет интерес колебание содержания цис-9, транс-11 изомера при включении в рацион сырых соевых бобов. Результаты исследований свидетельствуют, что в период второй недели эксперимента содержание этого изомера несколько понижается, в течении последующих - третьей и четвёртой недель - повышается, а к концу опять наблюдается понижение.

Таблица 4. СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МОЛОКА ОВЕЦ В ТЕЧЕНИИ 5 ПЕРИОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЦИОНА (Г/100МЛ МОЛОКА)

ННЖК	Недели									
	СХ					ССБ				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
10:1	0,018	0,018	0,017	0,018	0,019	0,021	0,021	0,028	0,029	0,025
14:1ω9	0,010	0,010	0,012	0,014	0,016	0,012	0,014	0,018	0,023	0,022
16:1ω7	0,045	0,044	0,046	0,059	0,059	0,047	0,051	0,064	0,079	0,071
17:1	0,010	0,008	0,008	0,012	0,012	0,010	0,009	0,010	0,014	0,014
18:1ω9t	0,039	0,033	0,034	0,044	0,036	0,030	0,025	0,027	0,033	0,030
18:1ω7t	0,043	0,046	0,052	0,058	0,058	0,032	0,027	0,029	0,033	0,036
18:1ω9C	1,108	0,946	0,996	1,348	1,227	1,250	1,084	1,271	1,596	1,273
18:1ω7C	0,026	0,020	0,022	0,029	0,030	0,023	0,020	0,024	0,028	0,024s
18:2ω6t	0,033	0,026	0,024	0,030	0,28	0,026	0,020	0,019	0,026	0,023
18:2ω6C	0,186	0,139	0,140	0,176	0,172	0,182	0,146	0,158	0,184	0,157
18:3ω6	0,004	0,004	0,014	0,004	0,005	0,004	0,003	0,004	0,007	0,006
18:3ω3	0,023	0,017	0,014	0,019	0,020	0,027	0,022	0,022	0,027	0,025
цис-9, транс-11)	0,040	0,030	0,038	0,049	0,048	0,037	0,028	0,043	0,055	0,027
транс-10,цис12)	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001
цис-9, цис-11)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
18:4	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002
20:3ω6	0,001	0,001	0,001	0,004	0,005	0,002	0,001	0,001	0,005	0,006
20:4ω6	0,003	0,002	0,003	0,004	0,005	0,003	0,002	0,003	0,005	0,006
20:5ω3	0,006	0,005	0,004	0,008	0,008	0,007	0,006	0,006	0,0011	0,009
22:4ω6	0,002	0,002	0,003	0,005	0,005	0,002	0,002	0,003	0,006	0,006
22:5ω6	0,002	0,002	0,003	0,003	0,004	0,003	0,004	0,004	0,006	0,006
22:5ω3	0,003	0,002	0,003	0,004	0,005	0,003	0,002	0,003	0,006	0,006
22:6ω3	0,007	0,005	0,005	0,007	0,007	0,007	0,005	0,005	0,009	0,008

Продолжение таблицы 4

ННЖК	Недели	
	СХ, достоверность	ССБ, достоверность
10:1	н/д	4→5 (P<0,004)
14:1ω9	3***→4****(P<0,04);3→5******(P<0,001)	1→2 (P<0,03)
16:1ω7	1*→4 (P<0,001);1→5(P<0,006) 2**→5 (P<0,002);3→4(P<0,003) 3→5 (P<0,01)	3→4 (P<0,002);4→5(P<0,04)
17:1	1→2 (P<0,01);1→3(P<0,01)	н/д
18:1ω9t	2→4 (P<0,001);4→5(P<0,01)	1→4 (P<0,02);3→4(P<0,001) 3→5 (P<0,02);4→5(P<0,04)
18:1ω7t	1→4 (P<0,001);1→5(P<0,002)	н/д
18:1ω9C	1→2 (P<0,01);1→4(P<0,005)	2→4 (P<0,002)

18:1ω7C	1→2 (P<0,001);1→3(P<0,02) 2→5 (P<0,005);3→4(P<0,03)	1→2 (P<0,01);2→3(P<0,004) 3→4 (P<0,002);4→5(P<0,003)
18:2ω6t	1→2 (P<0,009);1→3(P<0,001) 2→4 (P<0,02);3→4(P<0,003)	1→5 (P<0,001);4→5(P<0,009)
18:2ω6C	1→3 (P<0,001);2→4(P<0,005) 3→4(P<0,01)	1→3 (P<0,004);3→4(P<0,008) 4→5 (P<0,003)
18:3ω3	1→2 (P<0,01);1→4(P<0,04) 2→3 (P<0,02);3→5(P<0,003)	1→5 (P<0,002);2→4(P<0,001) 2→5 (P<0,002);3→5(P<0,006)
цис-9, транс-11	2→4 (P<0,01);2→5(P<0,02)	н/д
20:5ω3	1→4 (P<0,003);1→5(P<0,003)	н/д
22:6ω3	1→2 (P<0,003);1→3(P<0,003)	н/д

* 1-ая ; ** 2-ая ; *** 3-я ; **** 4-ая; ***** 5-ая недели исследований

Относительно ПННЖК следует отметить, что при добавлении в рацион цельных семян хлопчатника в содержании 18:3ω6; 18:4; 20:3ω6; 20:4ω6; 22:4ω6; 22:4ω6; 22:5ω6; 22:5ω3 жирных кислот никакой разницы не было выявлено. Что касается 18:2 ω6t, 18:2ω6c и 18:3ω3 кислот, то к пятой неделе исследования был отмечен определённый спад по сравнению с первой.

Что же касается 20:5ω3 и 22:6ω3 кислот, то их содержание понижается в течение второй и третьей недели исследований, далее достоверно повышается уровень 20:5ω3 кислоты (P<0,03), а 22:6ω3 кислота практически выравнивается с уровнем первой недели эксперимента.

При использовании второго рациона (Таблица 4) значительные изменения отмечаются только в содержании 18:2ω6t; 18:2ω6c и 18:3ω3 кислот; более того, их уровень слегка повышается к четвёртой неделе эксперимента, а затем следует дальнейшее понижение.

Анализируя данные таблицы 5, где приводятся результаты влияния рациона на уровень кислот в течение всего периода эксперимента, мы приходим к заключению, что в случае введения в рацион оцематок цельных семян хлопчатника, уровень 10:1; 14: ω9; 16:1 ω7 кислот с увеличением концентрации добавок в основном понижается. Что касается 17:1, то ее уровень в течение первых трёх недель подвергается спаду, а далее в течение четвёртой и пятой недели эксперимента слегка повышается. Уровень остальных мононенасыщенных кислот в молоке повышается параллельно увеличению концентрации добавок в рационе в течение всего периода исследований.

При введении в рацион сырых соевых бобов (Таблица 5) наблюдалась практически аналогичная первому рациону динамика, то есть увеличение концентраций ССБ в рационе, сопровождалось уменьшением

содержания 10:1, 14:1 w₉, кислот. Уровень 18:1 w₇t кислоты как и при первом рационе повышается в течение всех пяти недель исследования. Что касается 16:1w₇, то можно отметить, что с увеличением концентрации ССБ в рационе, уровень кислоты в течение первой и пятой недели эксперимента понижается, в то время как в остальные периоды исследований увеличение концентрации добавок сопровождалось повышением содержания вышеуказанных жирных кислот. Уровни 17:1 кислоты при повышении концентрации ССБ в рационе по сравнению с контролем понижается в период первых двух недель. Введение разных концентраций ССБ не сопровождается выраженными сдвигами, только лишь в течение последних трёх недель эксперимента содержание 17:1 кислоты повышается с увеличением концентрации ССБ в рационе.

Что касается изомеров линолевой кислоты (Таблица 5), то результаты эксперимента показывают, что при первом рационе в течение первых двух недель эксперимента уровень превалирующего цис-9, транс-11 изомера при концентрации 14% СХ по сравнению с контролем понижается. В течение остальных трёх недель эксперимента увеличение концентраций добавок в рационе сопровождается повышением уровня цис-9 транс-11 изомера линолевой кислоты. Аналогичная картина регистрируется и при введении в рацион ССБ.

В содержании остальных изомеров конъюгированной линолевой кислоты - транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 никаких изменений не регистрировалось ни при одном из рационов.

Анализируя воздействие рациона на уровень полиненасыщенных жирных кислот при разных концентрациях добавок (Таблица 5) можно отметить, что пополнение рациона как цельными семенами хлопчатника, так и сырыми соевыми бобами в зависимости от их концентраций не сопровождается никакими изменениями в содержании 18:4w₃; 20:3w₆; 20:4w₆; 22:4w₆; 22:5w₃; 22:5w₆; 22:6w₃ кислот.

При первом рационе очевидные изменения наблюдаются в содержании 18:2w₆t; 18:2w₆c; 18:3w₃ и 20:5w₃ кислот. По мере повышения концентраций добавок в рационе, содержание вышеуказанных жирных кислот повышается, и только количество 18:3w₆ кислоты – понижается. В течении третьей недели эксперимента никаких изменений не регистрировалось. Количество 20:5w₃ кислоты не подвергалось изменениям в период второй недели исследования.

В случае введения в рацион ССБ, количество 18:2w₆t; 18:2w₆c; 18:3w₃ кислот повышается параллельно увеличению концентрации добавок в рационе в течение всего периода эксперимента. Колебания 20:5w₃ кислоты не достоверные, а на третьей неделе эксперимента ее уровень остается неизменным. Что же касается 18:3w₆ кислоты, то в этом случае наблюдается обратный процесс - с увеличением в рационе концентраций ССБ содержание кислоты несколько понижается.

Таблица 5. УРОВЕНЬ ОТДЕЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МОЛОКЕ ОВЕЦ В ТЕЧЕНИИ 2,5 МЕСЯЦА ЛАКТАЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЦИОНА

ННЖК г/100мл молока	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		
	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
10:1	1	1	0,028	1	1	0,027
		2	0,016		2	0,019
		3	0,009		3	0,016
	2	1	0,027	2	1	0,027
		2	0,017		2	0,020
		3	0,009		3	0,017
	3	1	0,026	3	1	0,036
		2	0,017		2	0,022
		3	0,009		3	0,017
	4	1	0,030	4	1	0,036
		2	0,016		2	0,024
		3	0,009		3	0,025
	5	1	0,028	5	1	0,031
		2	0,018		2	0,025
		3	0,011		3	0,020
14:1w9	1	1	0,690	1	1	0,685
		2	0,540		2	0,577
		3	0,474		3	0,512
	2	1	0,657	2	1	0,626
		2	0,527		2	0,536
		3	0,411		3	0,489
	3	1	0,616	3	1	0,810
		2	0,533		2	0,591
		3	0,460		3	0,607
	4	1	0,808	4	1	0,849
		2	0,574		2	0,654
		3	0,499		3	0,703
	5	1	0,718	5	1	0,741
		2	0,572		2	0,625
		3	0,498		3	0,554
16:1w7	1	1	0,059	1	1	0,056
		2	0,037		2	0,045
		3	0,038		3	0,040
	2	1	0,054	2	1	0,059
		2	0,042		2	0,046
		3	0,035		3	0,048
	3	1	0,055	3	1	0,078
		2	0,043		2	0,054
		3	0,040		3	0,061
	4	1	0,078	4	1	0,092
		2	0,050		2	0,069
		3	0,050		3	0,077
	5	1	0,072	5	1	0,084
		2	0,053		2	0,068
		3	0,052		3	0,061
17:1w7	1	1	0,014	1	1	0,027
		2	0,009		2	0,024
		3	0,008		3	0,025
	2	1	0,010	2	1	0,023
		2	0,008		2	0,021
		3	0,006		3	0,022
	3	1	0,010	3	1	0,028
		2	0,007		2	0,021
		3	0,007		3	0,023
	4	1	0,015	4	1	0,031
		2	0,009		2	0,030
		3	0,010		3	0,033
	5	1	0,015	5	1	0,027
		2	0,009		2	0,027
		3	0,010		3	0,026

ННЖК г/100мл молока	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		
	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
18:1w9t	1	1	0,026	1	1	0,024
		2	0,035		2	0,029
		3	0,056		3	0,035
	2	1	0,026	2	1	0,019
		2	0,033		2	0,024
		3	0,040		3	0,032
	3	1	0,021	3	1	0,024
		2	0,033		2	0,025
		3	0,049		3	0,029
	4	1	0,030	4	1	0,029
		2	0,042		2	0,032
		3	0,059		3	0,038
	5	1	0,026	5	1	0,023
		2	0,041		2	0,029
		3	0,043		3	0,038
18:1w7t	1	1	0,027	1	1	0,023
		2	0,031		2	0,030
		3	0,049		3	0,030
	2	1	0,024	2	1	0,018
		2	0,033		2	0,025
		3	0,054		3	0,029
	3	1	0,024	3	1	0,024
		2	0,034		2	0,031
		3	0,056		3	0,032
	4	1	0,021	4	1	0,029
		2	0,040		2	0,034
		3	0,040		3	0,039
	5	1	0,026	5	1	0,029
		2	0,049		2	0,038
		3	0,052		3	0,038
18:1w9c	1	1	1,017	1	1	0,989
		2	1,104		2	1,284
		3	1,205		3	1,478
	2	1	0,805	2	1	0,858
		2	1,020		2	1,130
		3	1,012		3	1,264
	3	1	0,781	3	1	1,139
		2	1,004		2	1,196
		3	1,203		3	1,479
	4	1	1,196	4	1	0,277
		2	1,309		2	1,563
		3	1,539		3	1,949
	5	1	0,856	5	1	0,986
		2	1,127		2	1,316
		3	1,697		3	1,516
18:1w7c	1	1	0,026	1	1	0,025
		2	0,022		2	0,021
		3	0,031		3	0,022
	2	1	0,023	2	1	0,023
		2	0,018		2	0,017
		3	0,019		3	0,021
	3	1	0,022	3	1	0,029
		2	0,021		2	0,019
		3	0,022		3	0,022
	4	1	0,034	4	1	0,033
		2	0,021		2	0,023
		3	0,032		3	0,029
	5	1	0,033	5	1	0,027
		2	0,027		2	0,023
		3	0,030		3	0,023

ННЖК г/100мл молока	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		
	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
18:2w6t	1	1	0,015	1	1	0,016
		2	0,034		2	0,027
		3	0,048		3	0,036
	2	1	0,015	2	1	0,012
		2	0,029		2	0,020
		3	0,035		3	0,027
	3	1	0,012	3	1	0,014
		2	0,026		2	0,019
		3	0,034		3	0,025
	4	1	0,017	4	1	0,018
		2	0,032		2	0,026
		3	0,042		3	0,034
	5	1	0,013	5	1	0,014
		2	0,031		2	0,023
		3	0,040		3	0,032
18:1w6c	1	1	0,171	1	1	0,148
		2	0,174		2	0,163
		3	0,215		3	0,235
	2	1	0,116	2	1	0,110
		2	0,145		2	0,133
		3	0,157		3	0,194
	3	1	0,102	3	1	0,149
		2	0,139		2	0,140
		3	0,179		3	0,186
	4	1	0,141	4	1	0,154
		2	0,156		2	0,164
		3	0,231		3	0,234
	5	1	0,123	5	1	0,134
		2	0,155		2	0,142
		3	0,238		3	0,196
18:3w6	1	1	0,005	1	1	0,005
		2	0,004		2	0,003
		3	0,004		3	0,003
	2	1	0,004	2	1	0,004
		2	0,004		2	0,003
		3	0,003		3	0,003
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,004		2	0,003
		3	0,004		3	0,004
	4	1	0,006	4	1	0,008
		2	0,005		2	0,006
		3	0,004		3	0,007
	5	1	0,006	5	1	0,008
		2	0,006		2	0,006
		3	0,005		3	0,006
18:3w3	1	1	0,030	1	1	0,023
		2	0,020		2	0,025
		3	0,019		3	0,034
	2	1	0,020	2	1	0,017
		2	0,017		2	0,021
		3	0,014		3	0,029
	3	1	0,015	3	1	0,021
		2	0,013		2	0,019
		3	0,012		3	0,024
	4	1	0,023	4	1	0,022
		2	0,016		2	0,026
		3	0,017		3	0,033
	5	1	0,021	5	1	0,021
		2	0,018		2	0,024
		3	0,023		3	0,030

ННЖК г/100мл молока	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		
	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
цис-9, транс-11	1	1	0,047	1	1	0,021
		2	0,031		2	0,031
		3	0,043		3	0,043
	2	1	0,033	2	1	0,015
		2	0,024		2	0,024
		3	0,033		3	0,033
	3	1	0,026	3	1	0,027
		2	0,027		2	0,027
		3	0,059		3	0,059
	4	1	0,037	4	1	0,026
		2	0,036		2	0,036
		3	0,074		3	0,074
	5	1	0,044	5	1	0,028
		2	0,041		2	0,003
		3	0,057		3	0,057
транс-10, цис-12	1	1	0,002	1	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,001		3	0,001
	3	1	0,001	3	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	4	1	0,001	4	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
цис-9, цис-11	1	1	0,001	1	1	0,002
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	2	1	0,001	2	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	3	1	0,001	3	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	4	1	0,001	4	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
18:4w3	1	1	0,002	1	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	3	1	0,002	3	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	4	1	0,002	4	1	0,002
		2	0,002		2	0,001
		3	0,002		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,002
		2	0,001		2	0,002
		3	0,001		3	0,002

ННЖК г/100мл молока	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		
	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
20:3w6	1	1	0,001	1	1	0,002
		2	0,001		2	0,001
		3	0,002		3	0,001
	2	1	0,001	2	1	0,002
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	3	1	0,001	3	1	0,002
		2	0,002		2	0,001
		3	0,002		3	0,001
	4	1	0,004	4	1	0,005
		2	0,004		2	0,006
		3	0,005		3	0,005
	5	1	0,004	5	1	0,006
		2	0,005		2	0,005
		3	0,006		3	0,006
20:4w6	1	1	0,003	1	1	0,003
		2	0,003		2	0,003
		3	0,003		3	0,003
	2	1	0,002	2	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,003		3	0,002
	3	1	0,002	3	1	0,003
		2	0,002		2	0,002
		3	0,003		3	0,003
	4	1	0,004	4	1	0,005
		2	0,004		2	0,006
		3	0,005		3	0,005
	5	1	0,004	5	1	0,006
		2	0,005		2	0,005
		3	0,006		3	0,006
20:5w3	1	1	0,005	1	1	0,005
		2	0,005		2	0,008
		3	0,007		3	0,007
	2	1	0,005	2	1	0,005
		2	0,005		2	0,006
		3	0,005		3	0,006
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,004		2	0,006
		3	0,006		3	0,006
	4	1	0,007	4	1	0,009
		2	0,007		2	0,011
		3	0,009		3	0,011
	5	1	0,007	5	1	0,008
		2	0,071		2	0,010
		3	0,008		3	0,010
22:4w6	1	1	0,002	1	1	0,003
		2	0,002		2	0,002
		3	0,003		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,003
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	3	1	0,002	3	1	0,003
		2	0,003		2	0,003
		3	0,004		3	0,002
	4	1	0,004	4	1	0,006
		2	0,004		2	0,006
		3	0,005		3	0,007
	5	1	0,005	5	1	0,007
		2	0,005		2	0,006
		3	0,006		3	0,006
ННЖК г/100мл	РАЦИОН					
	СХ			ССБ		

молока	Недели	Доза	М	Недели	Доза	М
22:6w3	1	1	0,009	1	1	0,007
		2	0,006		2	0,006
		3	0,006		3	0,007
	2	1	0,006	2	1	0,005
		2	0,004		2	0,005
		3	0,004		3	0,005
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,005		2	0,005
		3	0,005		3	0,005
	4	1	0,008	4	1	0,010
		2	0,006		2	0,009
		3	0,008		3	0,010
	5	1	0,008	5	1	0,008
		2	0,006		2	0,008
		3	0,007		3	0,009

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что добавление в рацион овец как цельных семян хлопчатника так и сырых соевых бобов параллельно увеличению концентрации добавок достоверно повышается уровень 18:1w9t и 18:1w9c мононенасыщенных жирных кислот. Относительно полиненасыщенных жирных кислот при добавлении семян хлопчатника констатируется повышение содержания 18:2wbt и 18:2wbc кислот. По сравнению с первым рационом, при введении в рацион ССБ отмечается значительное повышение уровня 18:3w3 кислоты. В содержании остальных жирных кислот изменений не регистрировалось.

Относительно изомеров конъюгированной линолевой кислоты отмечается достоверное повышение в содержании лишь доминирующего цис-9, транс-11 изомера при добавлении в рацион овцематок цельных семян хлопчатника, в содержании же двух других изомеров - транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 никаких изменений не регистрировалось.

Резюмируя данные в течении всего периода эксперимента следует отметить, что введение в рацион цельных семян хлопчатника способствует повышению содержания мононенасыщенных жирных кислот.

В период проведения исследований из всех изученных изомеров конъюгированной линолевой кислоты лишь уровень цис-9, транс-11 изомера достоверно повышается при добавлении в рацион цельных семян хлопчатника; в содержании остальных изомеров изменений практически не наблюдалось ни при первом, ни при втором рационах.

При введении в рацион 28% СХ в период двух недель исследований наблюдается понижение уровня цис-9, транс-11 изомера по сравнению с контролем, в то время, как в последующие три недели повышение концентрации добавок сопровождалось увеличением содержания этого

изомера. В уровне транс-10, цис-12 и цис-9, цис-11 изомеров никаких изменений не наблюдалось ни при одном из рационов.

В целом для повышения уровня цис-9, транс-11 изомера линолевой кислоты в молоке целесообразно применение концентрации 28% СХ при первом и 20% ССБ при втором рационе. С целью повышения уровня цис-9, транс-11 изомера линолевой кислоты в молоке овец, возможно понадобятся дополнительные исследования, с использованием больших концентраций добавок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abu-Ghazaleh, A.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., and Kalscheur K.F. 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* 86:944-953.
2. Bessa R.J.B., Santos-Silva J., Ribeiro J.M.R., and Portugal A.V. 2000. Reticulorumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63,201-211.
3. Crus-Hernandez C., Kramer J.K.G., Kennelly J.J., Glimm D.R., Sorensen B.M., Okine E.K. Goo-Newarden L.A., and Weselake R.J. 2007. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *J. Dairy Sci.* 90:3786-3801.
4. Dhiman T.R., Helmink E.D., Mc. Mahon D.J., Five R.L., and Pariza M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.* 82:412-419.
5. Dhiman T.R., Satter L.D., Pariza M.W., Galli M.P., Albright K., and Tolosa M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016-1027.
6. Felly L.M. and Bauman D.E. 1996. Conjugated linoleic acid: A potent anticarcinogen found in milk. Pages 68-74 in *Prog. Cornell Nutr. Conf.*, Syracuse, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
7. Folch J., Lees M., and Sloane-Stanley GH 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
8. Givens D.I. 2005. The role of animal nutrition in improving the nutritive value of animal-derived foods in relation to chronic disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64,395-402.
9. ISO. Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. *Int. Stand. ISO 15884*, IDF. Int. Dairy Fed. Brussels, Belgium, 2002.
10. Khanal R.C., 2004. Potential health benefits of conjugated linoleic acid. (CLA). A review, *Asian-Aust., J. Anim. Sci.*, Vol.17. No. 9.
11. Khanal R.C. and Olson K.C., 2004. Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat and eggs: A Review, *Pakistan Journal of Nutrition* 3(2):82-98.
12. Lawson R.E., Moss A.R., and Givens D.I. 2001. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: A review *Nutr. Res Rev.* 14:153-172.
13. Littell R.C., Henry P.R., and Ammerman C.B. 1998. Statistical Analysis of Repeated Measures Data Using SAS Procedures. *J. Anim. Sci.* 1998. 76:1216-1231.
14. Nagao K. and Yanagita T. 2005. Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 100, 152-157.

15. Palmquest D.L., St. Pierre N., and Mc.Clure K.E. 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogeneous rumenic acids synthesis in lambs. *Journal of Nutrition*. 134, 2407-2414.

16. Parodi P.W. 1994. Conjugated linoleic acid. An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Technol.* 49:93-97.

17. Polan C.E., McNeill J.J., Tove S.B. 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol*; 88, 1056-1064.

18. Ramaswamy N., Baer R.J., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Kasperson K.M., and Whitlock L.A. 2001. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J. Dairy Sci.* 84:2144-2151.

19. Ruxton C.H.S., Calder P.C., Reed S.C., and Simpson M.J.A. 2005. The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. *Nutrition Research Reviews*. 18, 113-129.

20. Teter B. and Tenkins T. 2006. Conjugated linoleic acid synthesis within the Gut Microbial ecosystem of ruminants. In. *Advances in conjugated linoleic acid research.*, Vol.3, ed.

21. Yaqoob P. and Trison S. 2006. University of Reing, UK and Burdzi G.C. and Calder P.C., University of Southampton, UK. Conjugated linoleic acid (CLA) and health.

The effect of cottonseed and soybean supplementation on CLA isomers and other unsaturated fatty acids composition in sheep milk

Marmaryan Gayane Yurevna, PhD in Biochemistry
National Agrarian University of Armenia

Abstract

Conjugated linoleic acid (CLA) has been reported to have a wide range of beneficial effects.

An increasing interest in enhancing the conjugated linoleic acids (CLA) content in milk and food products is attributed to its potential anticarcinogenic, anti-diabetic, anti-obesity, anti-atherogenic, and immunomodulatory functions in experimental animal models.

CLA found naturally in food products from ruminants, refers to a mixture of positional and geometric isomers of linoleic acid (cis-9,trans-11 C18:2) with two conjugated double bonds at various carbon positions in the fatty acid chain. The objective of the present study was to investigate the supplementation effect of different treatments of whole cottonseed and full fat soybean on the diet of dairy ewes and the milk fatty acid profile and conjugated linoleic acid (CLA) content. Milk sampling was carried out during 2,5 months of the lactation period five times. The results indicate for both diets it is most suitable to use the second treatment in order to increase the level of cis-9,trans-11 CLA isomer in milk. In the level of trans-10,cis-12 and cis-9, cis-11 no changes were observed in neither of the diets. A necessity might arise to continue the research which might require the use of other treatments of WCS and full fat soybean with the aim of further increasing cis-9,trans-11 CLA isomer level.

Key words: conjugated linoleic acid, full fat soybean, whole cottonseed.

Introduction

Milk and dairy products from ruminants are important for proper human nutrition.

Ruminant diets contain a relatively small amount of lipids. Animal studies indicated that the supplementation of the diet with lipids influences the concentration and types of fatty acids formed in the rumen [17].

It is well established that dietary fatty acid (FA) composition can affect human metabolism and health [8, 19]. Ruminant edible fats are particularly rich in saturated FA due to the extensive microbial hydrogenation of dietary polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the rumen. However, isomerisation and incomplete hydrogenation of PUFA in the rumen also produce several of octadecenoic, octadecadienoic and octadecatrienoic isomeric FA [2] and, at

least some of them have powerful biological properties [14]. Conjugated isomers of linoleic (CLA) such as rumenic acid (18:2 cis-9,trans11) and 18:2 trans-10,cis-12 have extensively studied.

Conjugated linoleic acid (CLA) has been reported to have a wide range of beneficial effects [16]. Ruminant milk, meat and dairy products are the predominant sources of CLA in the human diet [12].

Conjugated linoleic acid, found naturally in food products from ruminants, refers to a mixture of positional and geometric isomers of linoleic acid (cis-9,trans-12 C18:2) with two conjugated double bonds at various carbon positions in the fatty acid chain [11]. CLA found in milk and meat fat of ruminants originates from two sources. One source is CLA formed during ruminant biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. The second source is the

CLA synthesized by the animals tissues from trans-11 C18:1 (TVA) and another intermediate in the biohydrogenation by Δ^9 -desaturase [20].

Rumenic acid in the rumen is produced in minor quantities, and most present in tissues or secreted in milk, is produced endogenously by Δ^9 -desaturation of vaccenic acid [15]. Vaccenic acid (18:1 trans-11) is also produced by rumen biohydrogenation of PUFA and its output can be considerable in specific dietary conditions [2].

Rumenic acid, the major conjugated linoleic acid isomer present in milk and meat fats of ruminants, has been reported to protect and moderate against certain cancers, diabetes, immunity, atherosclerosis, obesity, bone growth. Vaccenic acid has also been shown to be equally effective in suppressing premalignant lesions in rat mammary glands and the growth of human mammary and colon cancer lines because of its conversion to cis-9,trans-11C18:2.

The beneficial effects of trans-11 C18:1 TVA and cis-9,trans-11 C18:2 have generally been demonstrated in animal and in vitro cell culture models [3]. Thus, an increasing interest in enhancing the CLA content in milk and meat of ruminants refers to its above mentioned functions. Many factors appear to affect the CLA content in milk and meat from ruminants, but predominant is the diet related factor.

Providing plant (soybean, cottonseed, sunflower, corn) in the diet [5,18,1], pasture feeding [4], decreasing the forage-to-concentrate ratio, all increase ruminal production of CLA and its secretion into milk fat.

Thus, the aim of the present study was to investigate the supplementation effect of different treatments of cottonseed and full fat soybean on the diet of

dairy sheep and the milk fatty acid profile and conjugated linoleic acid (CLA) content.

Material and Methods

To perform this trial forty-eight dairy ewes were used. The experimental animals (type Boutsico) were kept in a sheep-breeding farm in Vlasti, situated about 170 km. south-west of Thessaloniki (Greece). For the diet purposes the ewes were separated into two groups. Besides the fact that animals grazed on pasture the diet of the first twenty-four ewes was supplemented with the whole cottonseed (WCS), and that of the second group – with soybean. Regarding the treatment each twenty-four this turn was subdivided into three groups presented in Table 1,2. First lot was used as the control, and the other 2 received a diet supplemented with different doses of WCS on the one hand and full fat soybean on the other.

Milk sampling was carried out during 2,5 months of the lactation period (April-June) five times (once in two weeks).

Table 1. Composition of first diet – whole cottonseed (WCS)

	Diets (energetic ratio %)		
	A	B	C
Whole cotton seed (WCS)	-----	14,00	28,00
Wheat Straw	10,00	10,00	10,00
Alfalfa hay	30,00	30,00	30,00
Barley grain	10,00	10,00	10,00
Maize grain	37,70	29,20	20,70
Soybean meal	11,00	5,50	-----
Vitamins and minerals	1,00	1,00	1,00
Salt	0,30	0,30	0,30
Total	100,00	100,00	100,00

Table 2. Composition of second diet – full fat soybeans

	Diets (energetic ratio %)		
	A	B	C
Full fat soybean	-----	10,00	20,00
Wheat Straw	20,00	20,00	20,00
Alfalfa hay	20,00	20,00	20,00
Barley grain	16,00	17,00	18,00
Maize grain	26,70	23,70	20,70
Soybean meal	16,00	8,00	-----
Vitamins and minerals	1,00	1,00	1,00
Salt	0,30	0,30	0,30
Total	100,00	100,00	100,00

The ewes were milked at about 08:30 a.m. and 18:30 p.m. in a stall-milking parlor. Milk FA determinations were conducted using the combined a.m. and p.m. samples that were stored at -80°C until analyzed. The present series of research studies has been conducted with the collaborators of A.T.E.I.Th. animal production department and AUTH (Thessaloniki, Greece)

Milk fatty acid composition

The fatty acid composition of milk fat was determined by gas chromatography. Fat was extracted from milk samples (50µL) with chloroform-methanol (2:1, vol/vol) according to Folch et.al. [7] after the addition of methyl heneicosanoate as an internal standard. Fatty acid methyl esters were prepared by base-catalyzed methoanalysis of the milk fat (2N KOH in methanol) according ISO [9].

The fatty acid methyl esters thus produced were separated in a Hewlett Packard 5890 Series gas chromatograph (Waldbronn, Germany) equipped with a 60-m long DB23 capillary column from J and W Scientific (Folsom, CA, USA) and a flame ionization detector. The carrier gas was helium at a flow rate of 0,93 mL min⁻¹ (at 50°C).

Methyl esters of individual fatty acids were identified in the chromatograms by comparing their retention times to those of pure methyl esters from Supelco and Sigma (St. Louis, MO, USA) and were quantified by comparing the area

under their peaks to that of methyl heneicosanoate with the aid of the HP 3365 Chem Station software from Hewlett Packard.

Statistical Analysis

Statistical analysis on fatty acid profile of milk were carried out using MIXED procedure of SAS and REML method for a completely randomized design with repeated measures. The week was used as a repeated measure. The model contained the effects of treatment, diet, week of treatment and the interaction of treatment by week. The covariance structure that yields the smallest Schwartz Bayesian criterion was considered to be the most suitable analysis [13]. Differences were tested using the PDIFF option of SAS and were considered significant at $P < 0,05$.

Results and Discussion

Milk UFA (Unsaturated fatty Acids) Composition

Table 3 shows the UFA profile of the milk fat of ewes fed the diet supplemented with the whole cottonseed (WCS) on the one hand and full fat soybean on the other.

As can be seen, in case of supplementation into the diet of ewes with the WCS, significant decreases in the content of the following monounsaturated fatty acids (MUFA) were produced: 10:1; 14:1w9; 16:1w7; 17:1w7; 18: w7c.

Regarding the level 18:1w9t ($P < 0,005$; $P < 0,002$) and 18:1w9c ($P < 0,001$; $P < 0,04$) MUFA a significant increase has occurred.

It is worth mentioning that the same dynamics was observed in case of supplementation of the full fat soybean into the diets. The level of 18:1w9t and 18:1w9c MUFA increases parallel with the treatment significantly, and the content of the rest of MUFA (except 17:1) significantly decreases.

The results of the experiment indicate that in case of the first diet the level of 18:2w6t and 18:2w6c fatty acids has resulted in the significant increase ($P < 0,001$; $P < 0,05$ accordingly). In contrast, the level of 18:3 w3 fatty acid significantly decreases ($P < 0,05$) with the increase of WCS treatment.

Summing up the results of the content of the rest of PUFA when WCS is added into the diet we can say that no significant changes have been observed.

As compared with the first diet, when the diet is supplemented with full fat soybean, a significant increase becomes evident in the level of 18:3w3 fatty acid. As to the rest of fatty acids, no changes have been observed.

Regarding the CLA isomers, it is only the level of the CLA predominant isomer cis-9, trans-11 that significantly increases ($P < 0,03$) when the WCS is added into

the diet of ewes with the treatment of 2-3, while no changes take place in the content of the other two isomers trans-10,cis-12 and cis-9,cis-11.

Table 3
Dietary treatment effect on the content of fatty acids in milk (g/100mL of milk)

UFA	Treatments					
	WCS			Full fat soybean		
	1	2	3	1	2	3
10:1	0,028	0,017	0,009	0,032	0,022	0,021
14:1ω9	0,018	0,011	0,008	0,021	0,016	0,016
16:1ω7	0,063	0,045	0,043	0,074	0,056	0,057
18:1ω9t	0,026	0,037	0,049	0,024	0,028	0,035
18:1ω7t	0,031	0,028	0,019	0,039	0,03	0,028
18:1ω9C	0,931	1,113	1,331	1,05	1,298	1,537
18:1ω7C	0,027	0,022	0,027	0,027	0,021	0,024
18:2ω6t	0,014	0,031	0,04	0,015	0,023	0,031
18:2ω6C	0,131	0,154	0,204	0,139	0,148	0,209
18:3ω6	0,005	0,004	0,004	0,006	0,004	0,005
18:3ω3	0,022	0,017	0,017	0,021	0,023	0,03
CLA(c-9,t-11)	0,037	0,032	0,053	0,023	0,023	0,053
CLA(t-10,c-12)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
CLA(c-9,c-11)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
18:04	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
20:3ω6	0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
20:4ω6	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
20:5ω3	0,005	0,006	0,007	0,007	0,008	0,008
22:4ω6	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
22:5ω6	0,003	0,003	0,004	0,003	0,004	0,004
22:5ω3	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
22:6ω3	0,007	0,005	0,006	0,007	0,007	0,007
17:1	0,013	0,008	0,008	0,015	0,01	0,01

Continued in Table 3

UFA	Treatments	
	WCS significans (P<)	Full fat soybean significans (P<)
10:1	2**→3(P<0,001)	NS
14:1ω9	2→3**(P<0,02)	1→2 (P<0,03);1→3(P<0,02)
16:1ω7	1*→2 (P<0,003);1→3(P<0,001)	1→2(P<0,04)
17:1	NS	NS
18:1ω9t	1→2 (P<0,05);2→3(P<0,02)	1→2(P<0,001)
18:1ω7t	2→3(P<0,02)	1→2(P<0,001)
18:1ω9C	1→3 (P<0,001);2→3(P<0,04)	1→2(P<0,003); 2→3(P<0,004)
18:1ω7C	1→2(P<0,04)	1→2(P<0,003)
18:2ω6t	2→3(P<0,001)	NS
18:2ω6C	1→2(P<0,05)	NS
18:3ω6	NS	NS
18:3ω3	1→2(P<0,05)	2→3(P<0,003)
CLA(c-9,t-11)	2→3(P<0,03)	NS

*Treatment 1
**Treatment 2
***Treatment 3
NS = Non - significance
Note: the difference in the level of the rest of the fatty acids not shown in the table is non-significant

The diet within week (Table 4) shows that the supplementation of diet with WCS contributes to the increase of MUFA content (monounsaturated fatty acids) during a five-week research period. The least difference has been observed in the level of 10:1 and 17:1 fatty acids. A significant increase of 14:1w9; 16:1w7; 18:1w7t and 18:1w9c fatty acids level during the last three weeks of investigation is worth mentioning. Concerning the 18:1w9t acid during the second research week its content decreases, afterwards it significantly increases until the fourth week, then a significant decrease takes place.

When the ratio of experimental ruminants was supplemented with a full fat soybean the following took place: the level of 10:1; 14:1; 16:1w7; 18:1w7t; 18:1w9c acids gradually increased, at the same time no significant increase occurred in the level of 17:1.

The picture is slightly different in the level of 18:1w7c acid. During the second week of the research its content significantly decreases, then it increases during the third and fourth week of the research and by the end it almost levels with the first week of the research.

Analyzing the dynamics of CLA isomers it should be mentioned that in case of WCS inclusion into the diet it is only the level of the predominant cis-9, trans-11 isomer that increases significantly, whereas the level of the remaining trans-10, cis-12, cis-9, cis-11 isomers almost does not change-neither in the first diet or the second diet.

It is interesting to observe the content of cis-9, trans-11 isomers in case of full fat soybean inclusion into the diet: the research carried during the second week indicates some decreases of the content of this isomer; during the following third and fourth weeks of the experiment the level of cis-9, trans-11 increased and by the end again a decrease was observed.

The findings of PUFA in case of the first diet indicate the following: when the diet was supplemented with WCS, no difference was observed in the level of 18:3w6; 18:4; 20:3w6;

20:4w6; 22:4w6; 22:5w6; 22:5w3 fatty acids. Regarding 18:2 w6t, 18:2w6c and 18:3w3 acids a certain decline occurred by the fifth week of the investigation compared with the first week.

As to 20:5w3 and 22:6w3, their content decreases during the second and third week of investigation and then significantly increases in case of 20:5w3 acid (P<0,03) ; what refers to 22:6w3 after it is leveled to the concentration first week of the experiment.

The following can be said about the second diet (Table 4): significant changes are evident only in the content of 18:2w6t; 18:2w6c and 18:3w3 fatty acids; moreover, their level slightly increases by the fourth week of the experiment, which is then followed by a decrease.

When analyzing Table 5 which shows the indices of the treatment within all weeks of investigation we come to the conclusion that in case of WCS(diet 1) inclusion into the diet of ewes the level of 10:1; 14: w 9; 16:1w7 acids basically decreases with the increase of treatment. As to 17:1, its level decreases during the first three weeks, but then slightly increases during the fourth and fifth week of the week. As to the remaining MUFA, their level, proportionate to the treatment within all the weeks, increases.

Table 4

THE CONTENT COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN MILK WITHIN 2,5 WEEKS OF LACTATION PERIOD DEPENDING ON THE DIET. (G/100ML OF MILK)

UFA	Week									
	WCS					Full fat soybean				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
10:1	0,018	0,018	0,017	0,018	0,019	0,021	0,021	0,028	0,029	0,025
14:1w9	0,010	0,010	0,012	0,014	0,016	0,012	0,014	0,018	0,023	0,022
16:1w7	0,045	0,044	0,046	0,059	0,059	0,047	0,051	0,064	0,079	0,071
17:1	0,010	0,008	0,008	0,012	0,012	0,010	0,009	0,010	0,014	0,014
18:1w9t	0,039	0,033	0,034	0,044	0,036	0,030	0,025	0,027	0,033	0,030
18:1w7t	0,043	0,046	0,052	0,058	0,058	0,032	0,027	0,029	0,033	0,036
18:1w9C	1,108	0,946	0,996	1,348	1,227	1,250	1,084	1,271	1,596	1,273
18:1w7C	0,026	0,020	0,022	0,029	0,030	0,023	0,020	0,024	0,028	0,024s
18:2w6t	0,033	0,026	0,024	0,030	0,28	0,026	0,020	0,019	0,026	0,023
18:2w6C	0,186	0,139	0,140	0,176	0,172	0,182	0,146	0,158	0,184	0,157
18:3w6	0,004	0,004	0,014	0,004	0,005	0,004	0,003	0,004	0,007	0,006
18:3w3	0,023	0,017	0,014	0,019	0,020	0,027	0,022	0,022	0,027	0,025
CLA (c-9, t-11)	0,040	0,030	0,038	0,049	0,048	0,037	0,028	0,043	0,055	0,027
CLA (t-10,c-12)	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001
CLA (c-9, c-11)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
18:4	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002
20:3w6	0,001	0,001	0,001	0,004	0,005	0,002	0,001	0,001	0,005	0,006
20:4w6	0,003	0,002	0,003	0,004	0,005	0,003	0,002	0,003	0,005	0,006
20:5w3	0,006	0,005	0,004	0,008	0,008	0,007	0,006	0,006	0,0011	0,009
22:4w6	0,002	0,002	0,003	0,005	0,005	0,002	0,002	0,003	0,006	0,006
22:5w6	0,002	0,002	0,003	0,003	0,004	0,003	0,004	0,004	0,006	0,006
22:5w3	0,003	0,002	0,003	0,004	0,005	0,003	0,002	0,003	0,006	0,006
22:6w3	0,007	0,005	0,005	0,007	0,007	0,007	0,005	0,005	0,009	0,008

Continued in Table 4

UFA	Week	
	WCS Significance(P<)	Full fat soybean significance (P<)
10:1	NS	4→5 (P<0,004)
14:1ω9	3***→4****(P<0,04);3→5***** (P<0,001)	1→2 (P<0,03)
16:1ω7	1*→4 (P<0,001);1→5(P<0,006) 2**→5 (P<0,002);3→4(P<0,003) 3→5 (P<0,01)	3→4 (P<0,002);4→5(P<0,04)
17:1	1→2 (P<0,01);1→3(P<0,01)	NS
18:1ω9t	2→4 (P<0,001);4→5(P<0,01)	1→4 (P<0,02);3→4(P<0,001) 3→5 (P<0,02);4→5(P<0,04)
18:1ω7t	1→4 (P<0,001);1→5(P<0,002)	NS
18:1ω9C	1→2 (P<0,01);1→4(P<0,005)	2→4 (P<0,002)
18:1ω7C	1→2 (P<0,001);1→3(P<0,02) 2→5 (P<0,005);3→4(P<0,03)	1→2 (P<0,01);2→3(P<0,004) 3→4 (P<0,002);4→5(P<0,003)
18:2ω6t	1→2 (P<0,009);1→3(P<0,001) 2→4 (P<0,02);3→4(P<0,003)	1→5 (P<0,001);4→5(P<0,009)
18:2ω6C	1→3 (P<0,001);2→4(P<0,005) 3→4(P<0,01)	1→3 (P<0,004);3→4(P<0,008) 4→5 (P<0,003)
18:3ω3	1→2 (P<0,01);1→4(P<0,04) 2→3 (P<0,02);3→5(P<0,003)	1→5 (P<0,002);2→4(P<0,001) 2→5 (P<0,002);3→5(P<0,006)
CLA(c-9,t-11)	2→4 (P<0,01);2→5(P<0,02)	NS
20:5ω3	1→4 (P<0,003);1→5(P<0,003)	NS
22:6ω3	1→2 (P<0,003);1→3(P<0,003)	NS

* 1st research week ***** 5th research week
 ** 2nd research week
 *** 3rd research week
 **** 4th research week

When full fat soybean (diet 2) was added into the diet (Table 5) almost the same dynamics was present as in diet 1, that is the increase of the treatment was accompanied by the decrease of 10:1, 14:1ω9, acids. The level of 18:1ω7t as in diet 1 increases during all five weeks of investigation. Regarding 16:1ω7, it can be said that when the treatment is increased, the level of the acid decreases only during the first and fifth week of the experiment whereas during the rest time of the experiment the increase of the treatment was accompanied by the increase of the above-mentioned fatty acid. As to 17:1, its level compared with the control decreases when the treatment is increased

during the first two weeks. Moreover, there are no differences observed in the second and third treatment. During the last three weeks of the experiment the level of 17:1 increases parallel with the treatment.

Regarding the CLA isomers(table 5), the results of the experiment indicate that in diet 1 (WCS) during the first two weeks of the investigation the level of predominant cis-9 trans-11 isomer in treatment 2 decreases as compared with the control . Whereas during the remaining three weeks of the experiment the treatment increase is accompanied by the increase of cis-9 trans-11 CLA isomer level. The same is true of diet 2.

In the level of the remaining CLA isomers trans-10, cis-12 and cis-9, cis-11 no changes were observed in neither of the diets.

Analyzing the influence of the diet on the PUFA level, in case of different treatments (Table 5) we can state that the supplementation of the diet with both WCS and full fat soybean depending on the treatment is not accompanied by any change in the level of 18:4w3; 20:3w6; 20:4w6; 22:4w6; 22:5w3; 22:5w6; 22:6w3 acids.

In case of diet 1 changes are evident in the level of 18:2w6t; 18:2w6c; 18:3w3, and 20:5w3.

Besides, basically with the increase of the treatment the content of the above mentioned fatty acids increases, and only the level of 18:3w6 decreases; whereas during the third week of the experiment no changes were observed. The quantity of 20:5w3 did not fluctuate during the second week of the experiment.

What refers to the full fat soybean supplementation, the quantity of 18:2w6t; 18:2w6c; 18:3w3 increases parallel with the increase of the treatment during all the weeks of the experiment. The changes in 20:5w3 are not significant, and during the third week of the experiment it levels, in fact, whereas the opposite takes place in the content of 18:3w6 acid-with the increase of the treatment the content slightly decreases.

Table 5
THE CONTENT COMPARISON OF FATTY ACIDS IN
MILK WITHIN 2,5 MONTHS OF LACTATION PERIOD DEPENDING ON
THE TREATMENT.

UFA g/100mL of milk	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
10:1	1	1	0,028	1	1	0,027
		2	0,016		2	0,019
		3	0,009		3	0,016
	2	1	0,027	2	1	0,027

		2	0,017		2	0,020
		3	0,009		3	0,017
	3	1	0,026	3	1	0,036
		2	0,017		2	0,022
		3	0,009		3	0,025
	4	1	0,030	4	1	0,036
		2	0,016		2	0,024
		3	0,009		3	0,025
	5	1	0,028	5	1	0,031
		2	0,018		2	0,025
		3	0,011		3	0,020
14:1ω9	1	1	0,690	1	1	0,685
		2	0,540		2	0,577
		3	0,474		3	0,512
	2	1	0,657	2	1	0,626
		2	0,527		2	0,536
		3	0,411		3	0,489
	3	1	0,616	3	1	0,810
		2	0,533		2	0,591
		3	0,460		3	0,607
	4	1	0,808	4	1	0,849
		2	0,574		2	0,654
		3	0,499		3	0,703
	5	1	0,718	5	1	0,741
		2	0,572		2	0,625
		3	0,498		3	0,554

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
16:1ω7	1	1	0,059	1	1	0,056
		2	0,037		2	0,045
		3	0,038		3	0,04
	2	1	0,054	2	1	0,059
		2	0,042		2	0,046
		3	0,035		3	0,048
	3	1	0,055	3	1	0,078
		2	0,043		2	0,054
		3	0,040		3	0,061
	4	1	0,078	4	1	0,092
		2	0,050		2	0,069
		3	0,050		3	0,077
	5	1	0,072	5	1	0,084
		2	0,053		2	0,068
		3	0,052		3	0,061
17:1ω7	1	1	0,014	1	1	0,027
		2	0,009		2	0,024
		3	0,008		3	0,025
	2	1	0,010	2	1	0,023
		2	0,008		2	0,021
		3	0,006		3	0,022
	3	1	0,010	3	1	0,028
		2	0,007		2	0,021
		3	0,007		3	0,023
	4	1	0,015	4	1	0,031
		2	0,009		2	0,030

		3	0,010		3	0,033
	5	1	0,015	5	1	0,027
		2	0,009		2	0,027
		3	0,010		3	0,026

Continued in Table 5

	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
18:1ω9t	1	1	0,026	1	1	0,024
		2	0,035		2	0,029
		3	0,056		3	0,035
	2	1	0,026	2	1	0,019
		2	0,033		2	0,024
		3	0,040		3	0,032
	3	1	0,021	3	1	0,024
		2	0,033		2	0,025
		3	0,049		3	0,029
	4	1	0,030	4	1	0,029
		2	0,042		2	0,032
		3	0,059		3	0,038
	5	1	0,026	5	1	0,023
		2	0,041		2	0,029
		3	0,043		3	0,038
18:1ω7t	1	1	0,027	1	1	0,023
		2	0,031		2	0,030
		3	0,049		3	0,030
	2	1	0,024	2	1	0,018
		2	0,033		2	0,025
		3	0,054		3	0,029
	3	1	0,024	3	1	0,024
		2	0,034		2	0,031
		3	0,056		3	0,032
	4	1	0,021	4	1	0,029
		2	0,040		2	0,034
		3	0,040		3	0,039
	5	1	0,026	5	1	0,029
		2	0,049		2	0,038
		3	0,052		3	0,038

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
18:1ω9c	1	1	1,017	1	1	0,989
		2	1,104		2	1,284
		3	1,205		3	1,478
	2	1	0,805	2	1	0,858
		2	1,020		2	1,130
		3	1,012		3	1,264
	3	1	0,781	3	1	1,139
		2	1,004		2	1,196
		3	1,203		3	1,479
	4	1	1,196	4	1	1,277
		2	1,309		2	1,563
		3	1,539		3	1,949

	5	1	0,856	5	1	0,986
		2	1,127		2	1,316
		3	1,697		3	1,516
18:1ω7c	1	1	0,026	1	1	0,025
		2	0,022		2	0,021
		3	0,031		3	0,022
	2	1	0,023	2	1	0,023
		2	0,018		2	0,017
		3	0,019		3	0,021
	3	1	0,022	3	1	0,029
		2	0,021		2	0,019
		3	0,022		3	0,022
	4	1	0,034	4	1	0,033
		2	0,021		2	0,023
		3	0,032		3	0,029
	5	1	0,033	5	1	0,027
		2	0,027		2	0,023
		3	0,030		3	0,023

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
18:2ω6t	1	1	0,015	1	1	0,016
		2	0,034		2	0,027
		3	0,048		3	0,036
	2	1	0,015	2	1	0,012
		2	0,029		2	0,020
		3	0,035		3	0,027
	3	1	0,012	3	1	0,014
		2	0,026		2	0,019
		3	0,034		3	0,025
	4	1	0,017	4	1	0,018
		2	0,032		2	0,026
		3	0,042		3	0,034
	5	1	0,013	5	1	0,014
		2	0,031		2	0,023
		3	0,040		3	0,032
18:2ω6c	1	1	0,171	1	1	0,148
		2	0,174		2	0,163
		3	0,215		3	0,235
	2	1	0,116	2	1	0,110
		2	0,145		2	0,133
		3	0,157		3	0,194
	3	1	0,102	3	1	0,149
		2	0,139		2	0,140
		3	0,179		3	0,186
	4	1	0,141	4	1	0,154
		2	0,156		2	0,164
		3	0,231		3	0,234
	5	1	0,123	5	1	0,134
		2	0,155		2	0,142
		3	0,238		3	0,196

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
18:3ω6	1	1	0,005	1	1	0,005
		2	0,004		2	0,003
		3	0,004		3	0,003
	2	1	0,004	2	1	0,004
		2	0,004		2	0,003
		3	0,003		3	0,003
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,004		2	0,003
		3	0,004		3	0,004
	4	1	0,006	4	1	0,008
		2	0,005		2	0,006
		3	0,004		3	0,007
	5	1	0,006	5	1	0,008
		2	0,006		2	0,006
		3	0,005		3	0,006
18:3ω3	1	1	0,030	1	1	0,023
		2	0,020		2	0,025
		3	0,019		3	0,034
	2	1	0,020	2	1	0,017
		2	0,017		2	0,021
		3	0,014		3	0,029
	3	1	0,015	3	1	0,021
		2	0,013		2	0,019
		3	0,012		3	0,024
	4	1	0,023	4	1	0,022
		2	0,016		2	0,026
		3	0,017		3	0,033
	5	1	0,021	5	1	0,021
		2	0,018		2	0,024
		3	0,023		3	0,030

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
CLA(c-9, t-11)	1	1	0,047	1	1	
		2	0,031		2	0,031
		3	0,043		3	0,043
	2	1	0,033	2	1	
		2	0,024		2	0,024
		3	0,033		3	0,033
	3	1	0,026	3	1	
		2	0,027		2	0,027
		3	0,059		3	0,059
	4	1	0,037	4	1	
		2	0,036		2	0,036
		3	0,074		3	0,074
	5	1	0,044	5	1	
		2	0,041		2	0,003
		3	0,057		3	0,057

CLA(t-10, c-12)	1	1	0,002	1	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,001		3	0,001
	3	1	0,001	3	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	4	1	0,001	4	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001

Continued in Table 5

	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
CLA c-9,c-11	1	1	0,001	1	1	0,002
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	2	1	0,001	2	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	3	1	0,001	3	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	4	1	0,001	4	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,001
		2	0,001		2	0,001
		3	0,001		3	0,001
18:4ω3	1	1	0,002	1	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	3	1	0,002	3	1	0,002
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	4	1	0,002	4	1	0,002
		2	0,002		2	0,001
		3	0,002		3	0,001
	5	1	0,001	5	1	0,002
		2	0,001		2	0,002
		3	0,001		3	0,002

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
20:3ω6	1	1	0,001	1	1	0,002
		2	0,001		2	0,001
		3	0,002		3	0,001

	2	1	0,001	2	1	0,002	
		2	0,001		2	0,001	
		3	0,001		3	0,001	
	3	1	0,001	3	1	0,002	
		2	0,002		2	0,001	
		3	0,002		3	0,001	
	4	1	0,004	4	1	0,005	
		2	0,004		2	0,006	
		3	0,005		3	0,005	
	5	1	0,004	5	1	0,006	
		2	0,005		2	0,005	
		3	0,006		3	0,006	
	20:4ω6	1	1	0,003	1	1	0,003
			2	0,003		2	0,003
			3	0,003		3	0,003
		2	1	0,002	2	1	0,002
			2	0,002		2	0,002
			3	0,003		3	0,002
		3	1	0,002	3	1	0,003
			2	0,002		2	0,002
3			0,003	3		0,003	
4		1	0,004	4	1	0,005	
		2	0,004		2	0,006	
		3	0,005		3	0,005	
5		1	0,004	5	1	0,006	
		2	0,005		2	0,005	
		3	0,006		3	0,006	

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	WEEK	Treatment	Mean
20:5ω3	1	1	0,005	1	1	0,005
		2	0,005		2	0,008
		3	0,007		3	0,007
	2	1	0,005	2	1	0,005
		2	0,005		2	0,006
		3	0,005		3	0,006
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,004		2	0,006
		3	0,006		3	0,006
	4	1	0,007	4	1	0,009
		2	0,007		2	0,011
		3	0,009		3	0,011
	5	1	0,007	5	1	0,008
		2	0,007		2	0,010
		3	0,008		3	0,010
22:4ω6	1	1	0,002	1	1	0,003
		2	0,002		2	0,002
		3	0,003		3	0,002
	2	1	0,002	2	1	0,003
		2	0,002		2	0,002
		3	0,002		3	0,002
	3	1	0,002	3	1	0,003
		2	0,003		2	0,003
		3	0,004		3	0,002
	4	1	0,004	4	1	0,006

		2	0,004		2	0,006
		3	0,005		3	0,007
	5	1	0,005	5	1	0,007
		2	0,005		2	0,006
		3	0,006		3	0,006

Continued in Table 5

UFA	Diet					
	WCS			SOYBEAN		
	Week	Treatment	Mean	Week	Treatment	Mean
22:6ω3	1	1	0,009	1	1	0,007
		2	0,006		2	0,006
		3	0,006		3	0,007
	2	1	0,006	2	1	0,005
		2	0,004		2	0,005
		3	0,004		3	0,005
	3	1	0,004	3	1	0,006
		2	0,005		2	0,005
		3	0,005		3	0,005
	4	1	0,008	4	1	0,010
		2	0,006		2	0,009
		3	0,008		3	0,010
	5	1	0,008	5	1	0,008
		2	0,006		2	0,008
		3	0,007		3	0,009

Conclusion

The results of this study showed that the supplementation of dairy sheep diet with both WCS and full fat soybean significantly increased parallel with the treatment the level 18:1w9t and 18:1w9c MUFA. Accordingly, the content of PUFA in case of WCS supplementation the level of 18:2w6t and 18:2w6c fatty acids has resulted in the significant increase. As compared with the first diet, when the diet is supplemented with full fat soybean, a significant increase becomes evident in the level of 18:3w3 fatty acid. As to the rest of fatty acids, no changes have been observed.

Regarding the CLA isomers, it is only the level of the CLA predominant isomer cis-9, trans-11, that significantly increases when the WCS is added into the diet of ewes with the treatment of 2->3, where no changes take place in the content of the other two isomers trans-10, cis-12 and cis-9, cis-11.

The diet within the week shows that the supplementation of the diet with WCS contributes to the increase of MUFA content during a five-week research period.

During the five-week research on the treatment within the diet, of all CLA isomers under study it was only the level of cis-9, trans-11 isomer that increased significantly when the diet was supplemented with WCS; whereas the level of the remaining CLA isomers almost did not change –neither in the first diet nor in the second.

Regarding the treatment within five weeks, during the first two weeks of the investigation carried out in diet 1, the level of cis-9, trans-11 in treatment 2 decreased as compared with the content; whereas during the remaining three weeks the treatment increase was accompanied by the increase of this isomer. In the level of trans-10, cis-12 and cis-9, cis-11 no changes were observed in neither of the diets.

Overall, for both diets it is most suitable to use the third treatment in order to increase the level of cis-9, trans-11 CLA isomer in milk.

A necessity might arise to continue the research which might require the use of other treatments of WCS and full fat soybean with the aim of further increasing cis-9, trans-11 CLA isomer level.

REFERENCES

1. Abu-Ghazaleh, A.A., Schingoethe D.J., Hippen A.R., and Kalscheur K.F. 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* 86:944-953.
2. Bessa R.J.B., Santos-Silva J., Ribeiro J.M.R., and Portugal A.V.2000. Reticulorumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63,201-211.
3. Crus-Hernandez C., Kramer J.K.G., Kennelly J.J., Glimm D.R., Sorensen B.M., Okine E.K. Goo-Newarden L.A., and Weselake R.J.2007. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *J. Dairy Sci.* 90:3786-3801.
4. Dhiman T.R., Helmink E.D., Mc. Mahon D.J., Five R.L., and Pariza M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.* 82:412-419.
5. Dhiman T.R., Satter L.D., Pariza M.W., Galli M.P., Albright K., and Tolosa M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016-1027.
6. Felly L.M. and Bauman D.E. 1996. Conjugated linoleic acid: A potent anticarcinogen found in milk. Pages 68-74 in *Prog. Cornell Nutr. Conf.*, Syracuse, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
7. Folch J., Lees M., and Sloane-Stanley GH 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
8. Givens D.I. 2005. The role of animal nutrition in improving the nutritive value of animal-derived foods in relation to chronic disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64,395-402.
9. ISO. Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. *Int. Stand. ISO 15884*, IDF. *Int. Dairy Fed.* Brussels, Belgium, 2002.
10. Khanal R.C., 2004. Potential health benefits of conjugated linoleic acid. (CLA). A review, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol.17. No. 9.
11. Khanal R.C. and Olson K.C., 2004. Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat and eggs: A Review, *Pakistan Journal of Nutrition* 3(2):82-98.
12. Lawson R.E., Moss A.R., and Givens D.I. 2001. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: A review *Nutr. Res Rev.* 14:153-172.
13. Littell R.C., Henry P.R., and Ammerman C.B. 1998. Statistical Analysis of Repeated Measures Data Using SAS Procedures. *J. Anim. Sci.* 1998. 76:1216-1231.

14. Nagao K. and Yanagita T. 2005. Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 100, 152-157.
15. Palmquest D.L., St. Pierre N., and Mc.Clure K.E. 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogeneous rumenic acids synthesis in lambs. *Journal of Nutrition*. 134, 2407-2414.
16. Parodi P.W. 1994. Conjugated linoleic acid. An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Technol.* 49:93-97.
17. Polan C.E., McNeill J.J., Tove S.B. 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol*; 88, 1056-1064.
18. Ramaswamy N., Baer R.J., Schingoethe D.J., Hippen A.R., Kasperson K.M., and Whitlock L.A. 2001. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J. Dairy Sci.* 84:2144-2151.
19. Ruxton C.H.S., Calder P.C., Reed S.C., and Simpson M.J.A. 2005. The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. *Nutrition Research Reviews*. 18, 113-129.
20. Teter B. and Tenkins T. 2006. Conjugated linoleic acid synthesis within the Gut Microbial ecosystem of ruminants. In. *Advances in conjugated linoleic acid research.*, Vol.3, ed.