

Kalaöljyn vaikutus rasvahappojen biohydrogenaatioon ja maidon rasvahappokoostumukseen

Piia Kairenius¹⁾, Aila Vanhatalo^{1*)}, Mikko Griinari²⁾, Vesa Toivonen¹⁾, Pekka Huhtanen¹⁾ ja Kevin Shingfield¹⁾

¹⁾ MTT, Kotieläintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen, etunimi.sukunimi@mtt.fi

²⁾ Helsingin yliopisto, PL 27, 00014 Helsingin yliopisto, etunimi.sukunimi@helsinki.fi

^{*)} nykyinen osoite Helsingin yliopisto, PL 27, 00014 Helsingin yliopisto, etunimi.sukunimi@helsinki.fi

Tiivistelmä

Linolihapon (C18:2n-6) biohydrogenaatio etenee pääsääntöisesti *cis*-9, *trans*-11 CLA:n kautta vakseenihapoksi (*trans*-11 C18:1) ja edelleen steariinihapoksi (C18:0). Koska epätäydellisen biohydrogenaation välituotteena pötsiin saattaa kertyä vakseenihappoa, joka muuttuu maitorauhasessa Δ^9 -desaturaasi-entsyymien vaikutuksesta CLA:ksi, biohydrogenaation merkitys CLA-tutkimuksessa on korostunut huomattavasti. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää millä kalaöljyn annostustasolla vakseenihapon kertyminen pötsiin, ja sen seurauksena maidon CLA-pitoisuus voidaan optimoida. Kalaöljyä käytettiin maidon CLA-pitoisuutta tehostavan ruokinnan malliaineena.

Koe suoritettiin 4 x 4 latinalaisen neliön koemallin mukaan. Kalaöljyä lisättiin lypsylehmien väkirehuun 0, 75, 150 ja 300 g/pv. Ruokasulan virtaus pötsistä määritettiin ottamalla näytteet satakerasta. Kalaöljyn lisäys alensi säilörehun kokonaiskuiva-aineen syöntiä, mutta ei vaikuttanut väkirehujen syöntiin. Koska linoleenihappo oli säilörehun pääasiallinen pitkäketjuinen rasvahappo, sen saanti aleni säilörehun syönnin alentuessa. Väkirehujen merkittävimmät rasvahapot olivat öljyhappo ja linolihappo. Kalaöljy sisälsi runsaasti eikosapentaeni- (EPA C20:5n-3) ja dokoheksaenihappoa (DHA C22:6n-3), joiden saanti lisääntyi odotetusti kalaöljyannosta lisättäessä. Suurin kalaöljyn lisäys vähensi lehmien maitotuotosta merkitsevästi. Kalaöljyllä ei ollut vaikutusta maidon valkuais- ja laktoosipitoisuuksiin. Maidon rasvapitoisuus sekä rasva- ja valkuaisuutokset pienenevät lineaarisesti kalaöljyannosta lisättäessä.

Vaikka steariinihapon virtaus pieni ja oktadekeenihappojen (C18:1) kokonaisvirtaus lisääntyi lineaarisesti kalaöljyannosta lisättäessä, rasvahappovirtauksien merkittävimmät tulokset saatiin vakseenihapon ja *trans*-10-oktadekeenihapon osalta. Vakseenihapon virtaus lisääntyi siten, että suurimmalla kalaöljyannoksella sen virtaus kääntyi laskuun. *Trans*-10-oktadekeenihapon virtaus puolestaan lisääntyi voimakkaasti kalaöljyannosta lisättäessä. Kalaöljyn lisäys ei kuitenkaan vaikuttanut linolihapon ja CLA:n virtaukseen, mikä osoittaa, että kalaöljyn lisäys heikentää erityisesti *trans*-C18:1-rasvahappojen pelkistystä pötsissä.

Kalaöljyn lisäys muutti maidon rasvahappokoostumusta merkitsevästi. Maidon CLA-pitoisuus nousi kaikilla kalaöljykäsittelyillä ja suurin pitoisuus saavutettiin jo 150 gramman päivittäisellä kalaöljylisällä. Kalaöljyä edelleen lisättäessä maidon CLA-pitoisuus ei enää noussut. *Trans*-7, *cis*-9 CLA:ta ei muodostunut monityydyttymättömien rasvahappojen biohydrogenaatioissa yhtään, vaikka sen pitoisuus maitorasvassa oli huomattavan korkea. Muutokset maitorasvan C18:1-rasvahappoisomeerien pitoisuuksissa ilmaisivat hyvin satakerran ruokasulassa tapahtuneita muutoksia. Tässä kokeessa vakseenihapon muodostus pötsissä ja maidon CLA-pitoisuus olivat suurimmillaan 150 gramman kalaöljyannoksella.

Asiasanat: Kalaöljy, biohydrogenaatio, linolihappo, CLA, *trans*-rasvahapot, vakseenihappo, EPA, DHA, lypsylehmä

Johdanto

Monityydyttymättömien rasvahappojen biohydrogenaatiota tutkittiin ahkerasti 1970-luvulla, minkä jälkeen siitä kiinnostuttiin uudelleen vasta viime vuosina, kun linolihapon biohydrogenaatioissa muodostuvan konjugoidun linolihapon (*cis*-9, *trans*-11 CLA) mahdolliset terveyttä edistävät ominaisuudet havaittiin. Esimerkiksi eläinkokeissa CLA:n on todettu ehkäisevän monia elintäsaairauksia kuten syöpää sekä sydän- ja verisuonisairauksia (Yurawecz 1999).

Biohydrogenaatioissa rehun monityydyttymättömien rasvahappojen kaksoissidoksellisiin hiiliin liitetään vetyä, jolloin rasvahappo pelkistyy. Biohydrogenaatio tapahtuu pötsissä mikrobin tuottamien entsyymien katalysoimana reaktiona. Linolihapon biohydrogenaatio etenee pääsääntöisesti *cis*-9, *trans*-11 CLA:n kautta vakseenihapoksi (*trans*-11 C18:1) ja edelleen steariinihapoksi (C18:0). Epätäydellisen biohydrogenaation välituotteena pötsiin saattaa kuitenkin kertyä vakseenihappoa, joka muuttuu maitorauhasessa Δ^9 -desaturaasi-entsyymin vaikutuksesta CLA:ksi (Grinari ym. 2000). Koska pötsin vakseenihappotuotanto vaikuttaa maidon CLA-pitoisuuteen, biohydrogenaation merkitys CLA-tutkimuksessa on korostunut huomattavasti.

Normaalisti maidon rasva sisältää CLA:ta noin 0,3 - 0,6 % kokonaisrasvahapoista, mutta lisäämällä kasvi- tai kalaöljyä märehitjööiden rehuihin maidon CLA-pitoisuus nousee jopa 200 - 300 % normaaliin verrattuna (Dhiman ym. 2000, Shingfield ym. 2003). Kalaöljyn lisäys vaikuttaa usein maidon CLA-pitoisuuteen tehokkaammin kuin kasviöljyt (Offer ym. 1999). Kalaöljylisän vaikutusta monityydyttymättömien rasvahappojen biohydrogenaatioon ei tunneta vielä tarkkaan, vaikka sen on todettu lisäävän *trans*-C18:1-rasvahappojen pitoisuutta pötsinesteessä (Wonsil ym. 1994). Pitkäaikainen kalaöljyruokinta saattaa aiheuttaa linolihapon biohydrogenaatioissa reaktioreitin muutoksen. Tällöin konjugoitu linolihappo pelkistyy *trans*-10-oktadekeenihapoksi tavanomaisen vakseenihapon sijaan (Shingfield ym. 2003). Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää millä kalaöljyn annostustasolla vakseenihapon kertyminen pötsiin, ja sen seurauksena maidon CLA-pitoisuus voidaan optimoida. Kalaöljyä käytettiin maidon CLA-pitoisuutta tehostavan ruokinnan malliaineena.

Aineisto ja menetelmät

Koe tehtiin neljällä pötsifistelöidyllä lypsylehmällä, jotka olivat kokeen aikana laktaatiokauden loppuvaiheessa. Koe sisälsi neljä kuukauden pituista koejaksoa, joista kaksi ensimmäistä viikkoa olivat valmistuskautta ja kaksi jälkimmäistä keruukautta. Karkearehuna käytettiin ruokonatasäilörehua. Lehmien kokonaiskuiva-aineen syöntiä rajoitettiin noin 95 % ennen koetta mitatusta keskimääräisestä syönnistä. Karkearehun ja väkirehun suhde oli 58:42. Väkirohuseos sisälsi kauraa (37,2 %), ohraa (20 %), melassileikettä (20 %), rypsipuristetta (20 %) ja kivennäisiä (2 %). Kalaöljyä lisättiin lypsylehmiin väkirehuihin ruokinnan yhteydessä 0, 75, 150 tai 300 g/pv 4 x 4 latinalaisen neliön koemallin mukaan. Yksi kalaöljyruokinnalla (300 g/pv) ollut lehmä sairastui kokeen aikana.

Ravintoaineiden virtaus pötsistä määritettiin ottamalla näytteet satakerrasta (Ahvenjärvi ym. 2000). Menetelmä perustuu kolmen eri merkkiaineen käyttöön, joista yksi sitoutuu satakerran ruokasulan suuriin partikkeleihin (kromi-olki), yksi pieniin (ytterbium-asettaatti) ja yksi nestefaasiin (liti-umkoboltti EDTA). Jakamalla satakerrasta otettu ruokasulanäyte kolmeen eri osaan (suuret partikkelit, pienet partikkelit, nestefaasi) ja analysoimalla näistä merkkiaineiden pitoisuudet (Williams ym. 1962) satakerran ruokasulaa edustava koostumus voitiin laskea matemaattisesti (France ja Siddons 1986). Laskentamallien tulosten perusteella satakerran ruokasulanäytteet koostettiin uudelleen kemiallisia analyysejä ja pitkäketjuisten rasvahappojen määrittystä varten.

Rasvan uutto, triglyseridien transmetylaatio ja vapaiden rasvahappojen metylaatio rasvahapon metyyliestereiksi (FAME) rehuista, kalaöljystä ja satakerranäytteistä tehtiin Shingfieldin ym. (2003) mukaan. Rasvahapon metyyliestereiden analysointi tehtiin kaasukromatografisesti (Shingfield ym. 2003). Rasvahapot tunnistettiin vertaamalla niiden retentioaikoja metyloitujen rasvahappojen standardeihin. Oktadekeenihapon (C18:1) *cis*- ja *trans*-isomeerit tunnistettiin Molentin ja Prechtin (1997) ja Prechtin ym. (2001) mukaan vertaamalla näytteiden kromatogrammeja julkaistuihin kromatogrammeihin. Konjugoidun linolihapon (CLA) isomeerit määritettiin nestegromatografisesti (Shingfield ym. 2003) ja erilaiset *trans*, *trans*-, *cis*, *trans*- ja *trans*, *cis*-isomeerit tunnistettiin vertaamalla näytteiden kromatogrammeja metyloitujen CLA-isomeeristandardien sekä kirjallisuudessa (Sehat ym. 1998, Fritsche ym. 2001) julkaistuihin CLA-kromatogrammeihin.

Tulokset analysoitiin SAS-ohjelmiston GLM -proseduurin varianssianalyysillä ja ruokintojen väliset erot testattiin ortogonaalisin kontrastein, jolloin kalaöljytason vaikutus jaettiin lineaarisen, toisen ja kolmannen asteen vaikutuksiin. Tilastollisessa mallissa luokittelevana muuttujana oli eläin, jakso ja ruokinta eli rehuun lisätty kalaöljy. Yhden lehmän kolmannelta jaksolta puuttuvien havaintojen vuoksi satakertavirtausten esitetyt keskiarvon keskivirheet (sem) täytyy kertoa luvulla 1,29 vertailtaessa niitä muihin keskiarvoihin.

Tulokset ja niiden tarkastelu

Kokeessa käytetty säilörehu oli säilönnälliseltä laadultaan hyvää. Rehun D-arvo oli 65,7 %. Linoleeni-happo (C18:3n-3) oli säilörehun pääasiällisin pitkäketjuinen rasvahappo (61,8 g/100 g rasvahappo- ja rh). Väkirehun merkittävimmät rasvahapot olivat öljyhappo (C18:1n-9; 36,5 g/100 g rh) ja linoli-happo (C18:2n-6; 37,2 g/100 g rh). Kalaöljyssä oli runsaasti yli 20 hiiltä sisältäviä pitkäketjuisia monitydyttymättömiä rasvahappoja. Erityisesti eikosapentaeenihapon (EPA C20:5n-3) ja dokoheksaeenihapon (DHA C22:6n-3) pitoisuudet olivat merkittäviä (16,5 g/100 g rh ja 10,5 g/100g rh, vastaavasti).

Lisättäessä kalaöljyä lypsylehmien rehuihin säilörehun kokonaiskuiva-aineen syönti on usein alentunut merkitsevästi (Cant ym. 1997, Doreau ja Chilliard 1997, Donovan ym. 2000). Myös tässä kokeessa kalaöljyn lisäys (0, 75, 150 ja 300 g/pv) alensi säilörehun kokonaiskuiva-aineen syöntiä (11, 11, 10 ja 8 kg ka/pv, vastaavasti). Syönnin aleneminen oli merkittävää erityisesti suurimmalla kalaöljyn annostasolla (lineaarinen vaikutus, $P < 0,001$). Kalaöljyn lisäys ei vaikuttanut väkirehujen syöntiin. Säilörehun syönnin alentuessa linoleenihapon (C18:3n-3) saanti rehuista aleni (169, 168, 153 ja 128 g/pv) vastaavasti. Kalaöljylle tyypillisimpien pitkäketjuisten monitydyttymättömien rasvahappojen, EPA:n ja DHA:n saanti lisääntyi odotetusti kalaöljyannosta lisättäessä (11, 22 ja 45 g/pv sekä 7, 14 ja 28 g/pv, vastaavasti; lineaarinen vaikutus, $P < 0,001$).

Kalaöljylisän vaikutus rasvahappojen virtaukseen on esitetty taulukossa 1. Steariinihapon (C18:0) virtaus pieneni kalaöljyä lisättäessä ja muutos oli selvin 150 ja 300 gramman kalaöljyannoksilla (3. asteen vaikutus, $P < 0,05$). Oktadekeenihappojen (C18:1) kokonaisvirtaus lisääntyi lineaarisesti ($P < 0,001$) kalaöljyannosta lisättäessä. Näiden rasvahappojen kokonaismäärän lisääntyminen johtui erityisesti *trans*-C18:1-rasvahappojen määrän lisääntymisestä (2. asteen vaikutus, $P < 0,05$) kalaöljyannosta lisättäessä. Tulokset ovat yhdenmukaisia julkaistujen virtausaineistojen kanssa (Wonsil ym. 1994, Scollan ym. 2001, Shingfield ym. 2003) ja vahvistavat aikaisemmin tehtyjä johtopäätöksiä siitä, että kalaöljyn vaikutus perustuu sen sisältämien pitkäketjuisten rasvahappojen *trans*-C18:1- rasvahappojen pelkistävästä estävään vaikutukseen.

Taulukko 1. Kalaöljylisän vaikutus rasvahappojen satakertavirtaukseen (g/pv).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
C14:0	1,7	2,7	5,0	10,0	0,32	***	*	
C16:0	65	81	90	111	6,1	**		
C16:1 yht.	2,1	4,0	7,0	11,6	0,46	***		
C18:0	339	314	169	88	19,7	***		*
C18:1 <i>cis</i>	23,0	22,0	24,7	33,5	1,85	*		
C18:1 <i>trans</i>	59,9	89,7	157,0	172,9	9,73	***	*	
C18:1 yht.	83	111	181	205	10,9	***		
C18:2n-6	6,5	4,6	3,9	6,8	588,21		*	
C18:2 yht. ²⁾	14,0	16,1	21,2	58,6	0,59	***	***	*
CLA ³⁾	6,0	5,2	5,0	4,4	0,58			
C18:3n-3	1,9	1,3	1,1	1,4	0,11		**	
C20:5n-3 EPA	0,0	0,7	1,7	3,6	0,26	***		
C22:6n-3 DHA	0,0	0,5	1,2	2,9	0,20	***		
Tydyttyneet yht.	455	463	343	271	26,5	**		
Monoenit yht.	88	124	202	234	12,3	***		
Polyeenit yht.	25,3	35,2	49,8	125	2,38	***	***	
Kaikki yht.	575	634	608	642	36,7			

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin. ²⁾ C18:2-rasvahappojen kokonaismäärä, joka ei sisällä CLA:ta. ³⁾ Sisältää kaikki CLA:n isomeerit.

Tämän kokeen rasvahappovirtauksien merkittävimmät tulokset saatiin vakseenihapon ja *trans*-10-oktadekeenihapon osalta (taulukko 2). Vakseenihapon virtaus lisääntyi siten, että suurimmalla kalaöljyannoksella sen virtaus kääntyi laskuun (3. asteen vaikutus, $P < 0,01$). *Trans*-10-oktadekeenihapon virtaus puolestaan lisääntyi voimakkaasti kalaöljyannosta lisättäessä (2. asteen vaikutus, $P < 0,01$). Kalaöljyn lisäys ei kuitenkaan vaikuttanut linoliuhapon ja CLA:n satakertavirtaukseen (2. asteen vaikutus, $P < 0,05$; taulukko 1), mikä osoittaa, että kalaöljyn lisäys heikentää erityisesti *trans*-C18:1-rasvahappojen pelkistystä pötsissä. Tässä tutkimuksessa *trans*-10-oktadekeenihappo oli ainoa *trans*-C18:1-rasvahappo, jonka virtaus lisääntyi kaikilla kalaöljykäsittelyillä. *Trans*-10-oktadekeenihapon tuotannon kiihtyminen pötsissä ei kuitenkaan ole suotavaa, koska se liittyy maidon rasvapitoisuuden laskuun väkirehuvaltaisella ruokinnalla tai lisättäessä kalaöljyä märehitijöiden rehuihin (Bauman ja Griinari 2001).

Kalaöljyn pitkäketjuisten monityydyttymättömien rasvahappojen, erityisesti EPA:n ja DHA:n, virtaukset lisääntyivät lineaarisesti kalaöljylisän vaikutuksesta ($P < 0,001$; taulukko 1). Kalaöljyn lisäyksellä ei kuitenkaan ollut vaikutusta *cis*-9, *trans*-11 CLA:n virtaukseen (taulukko 3), vaikka maidon CLA-pitoisuus lisääntyi kalaöljylisän vaikutuksesta (3. asteen vaikutus, $P < 0,01$; taulukko 6). *Trans*-7, *cis*-9 CLA:ta ei muodostunut monityydyttymättömien rasvahappojen biohydrogenaatiassa yhtään, vaikka sen pitoisuus maitorasvassa oli huomattavan korkea (taulukko 6). Nämä tulokset vahvistavat käsitystä, jonka mukaan nämä CLA-isomeerit muodostuvat pääasiassa maitorauhasessa maitorauhasen Δ^9 -desaturaasientsyymien vaikutuksesta (Griinari ym. 2000). Kalaöljyn lisäys ei vaikuttanut *trans*-10, *cis*-12 CLA:n satakertavirtaukseen (taulukko 3).

Kalaöljylisän (0, 75, 150 ja 300 g/pv) vaikutus linoli- ja linoleenihapon biohydrogenaatiotehokkuuteen oli vähäinen (96,0; 97,2; 97,6 ja 95,5 sekä 98,9; 99,2; 99,3 ja 98,9, vastaavasti; 2.asteen vaikutus, $P < 0,01$). Kuitenkin EPA:n ja DHA:n biohydrogenaatiotehokkuus heikkeni selvästi kalaöljyannosta lisättäessä (0; 93,6; 92,2 ja 91,4 sekä 0; 93,5; 91,7 ja 89,2 vastaavasti; lineaarinen vaikutus, $P < 0,0001$). Rehun rasvahappojen biohydrogenaatiotehokkuutta kuvaava luku laskettiin rasvahappojen saannin sekä pötsistä virtaavien rasvahappojen (satakertavirtaus) erotuksena, jolloin luku kuvaa sitä osuutta, joka rehun rasvahapoista häviää pötsissä. Koska luku ei ota huomioon rasvahappojen muuttamista biohydrogenaation välituotteiksi, se ei edusta arviota rasvahappojen täydellisestä biohydrogenaatiosta.

Suurin kalaöljyn lisäys vähensi lehmien maitotuotosta merkitsevästi (23,1; 23,5; 23,9 ja 18,7 kg/pv, vastaavasti; lineaarinen vaikutus, $P < 0,05$). Kalaöljyllä ei ollut vaikutusta maidon valkuais- ja laktoosipitoisuuksiin. Maidon rasvapitoisuus sekä rasva- ja valkuaisutuotokset pienenevät erityisesti 150 ja 300 gramman kalaöljyannoksilla (38, 41, 33 ja 32 g/kg, 883, 966, 783 ja 578 g/pv sekä 784, 777, 759 ja 640 g/pv, vastaavasti; lineaarinen vaikutus, $P < 0,05$). Haluttaessa lisätä terveellisten monityydyttymättömien rasvahappojen, kuten CLA:n, pitoisuutta maitorasvassa rasvapitoisuuden aleneminen ei kuitenkaan ole toivottavaa.

Kalaöljyn lisäys muutti maidon rasvahappokoostumusta merkitsevästi. Erityisesti maitorauhasen *de novo*-synteesissä muodostuvien lyhytketjuisten ($\leq C14$) rasvahappojen osuus maidon kokonaisrasvahapoista pieneni kalaöljyä lisättäessä (lineaarinen vaikutus, $P < 0,01$; taulukko 4), mikä on osoitus maitorauhasen rasvahapposynteesin heikkenemisestä lisättäessä suuria annoksia rasvaa märehitijöiden rehuun (Grummer 1991). Myös palmitiinihappopitoisuuden (C16:0) numeerisen arvon pieneneminen saattaa olla osoitus maitorauhasen *de novo*-synteesin heikkenemisestä kalaöljyä lisättäessä (Offer ym. 1999), vaikka ero ei tässä kokeessa ollutkaan tilastollisesti merkitsevä. Kalaöljyn pitkäketjuisten rasvahappojen, EPA:n ja DHA:n, osuus lisääntyi odotetusti kalaöljyä lisättäessä (lineaarinen vaikutus, $P < 0,05$) ja tulos on yhdenmukainen aikaisempien tutkimustulosten (Wonsil ym. 1994, Offer ym. 1999, Donovan ym. 2000, Whitlock ym. 2002, Shingfield ym. 2003) kanssa. Kalaöljyruokinta lisäsi myös C18:1-rasvahappojen kokonaisuutta maidon kokonaisrasvahapoista, mikä selittyy lähes yksinomaan *trans*-C18:1-rasvahappojen osuuden lisääntymisellä (lineaarinen vaikutus, $P < 0,05$; taulukko 4).

Muutokset maitorasvan rasvahappoisomeerien pitoisuuksissa ilmaisivat hyvin satakerran ruokasulassa tapahtuneita muutoksia. Kalaöljylisän vaikutus maidon C18:1-isomeereihin ja CLA:n koostumukseen on esitetty taulukoissa 5 ja 6.

Taulukko 2. Kalaöljylisän vaikutus C18:1-isomeerien satakertavirtaukseen (g/pv).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
<i>cis</i> -9	17,6	15,4	16,1	19,6	1,50			
<i>cis</i> -11	2,5	2,9	5,2	10,5	0,42	***	*	
<i>cis</i> -12	1,6	1,8	1,3	1,3	0,16			
<i>cis</i> -13	0,34	0,58	0,78	0,79	0,090	*		
<i>cis</i> -16	0,94	1,35	1,38	1,27	0,113			
<i>trans</i> -4	0,62	0,63	0,74	0,42	0,041	*	*	
<i>trans</i> -5	0,44	0,50	0,62	0,42	0,038		*	
<i>trans</i> -6+7+8	3,5	5,1	7,9	6,8	0,86	*		
<i>trans</i> -9	2,0	3,5	6,4	5,7	0,59	**	*	
<i>trans</i> -10	4,2	5,6	9,9	56,4	4,52	***	*	
<i>trans</i> -11	22,0	32,3	80,8	66,5	4,86	**	**	**
<i>trans</i> -12	4,3	7,6	11,8	9,4	1,08	*	*	
<i>trans</i> -13+14	11,3	17,2	21,0	15,9	2,24		*	
<i>trans</i> -15	5,2	8,2	9,2	6,7	1,18			
<i>trans</i> -16+ <i>cis</i> -14	6,0	8,4	7,6	2,8	0,71	*	**	

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin.

Taulukko 3. Kalaöljylisän vaikutus CLA-isomeerien satakertavirtaukseen (mg/pv).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	4246	4091	3741	3457	498,2			
<i>cis</i> -12, <i>trans</i> -14	69	26	21	17	10,6	*	*	
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	104	24	30	49	17,2		*	
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13	299	256	194	55	23,7	**		
<i>trans</i> -7, <i>trans</i> -9	95	109	269	201	54,8			
<i>trans</i> -8, <i>trans</i> -10	64	76	134	86	34,4			
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11	286	232	331	264	36,5			
<i>trans</i> -10, <i>trans</i> -12	65	31	33	58	11,0			
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13	559	217	94	60	87,4	**	*	
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14	244	140	68	4,9	30,0	*		

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin.

Taulukko 4. Kalaöljylisän vaikutus maidon rasvahappokoostumukseen (g/100g rasvahappoja).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
C4:0	2,72	2,73	2,44	2,22	0,073	**		
C6:0	1,78	1,67	1,43	1,22	0,071	***		
C8:0	1,10	0,99	0,84	0,68	0,051	***		
C10:0	2,66	2,33	2,00	1,65	0,128	**		
C12:0	3,10	2,73	2,41	2,06	0,129	**		
C14:0	12,6	12,0	11,4	10,4	0,300	**		
C16:0	31,0	31,6	29,8	30,4	0,870			
C16:1	1,25	1,29	1,63	1,66	0,068	**		o
C18:0	15,74	14,66	10,11	8,06	0,622	***		*
C18:1 <i>cis</i> yht.	4,13	5,47	11,54	15,56	0,591	***		*
C18:1 <i>trans</i> yht.	14,78	13,94	12,70	9,20	0,780	**		
C18:1 yht.	18,9	19,8	24,2	24,8	0,880	**		o
C18:2n-6	2,36	2,69	3,52	6,21	0,323	***	o	
CLA ²⁾	0,48	0,72	1,73	1,35	0,111	***	**	**
C18:3n-3	0,46	0,50	0,60	0,58	0,067			
C20:5n-3 EPA	0,05	0,07	0,08	0,16	0,028	*		
C22:6n-3 DHA	0,03	0,05	0,07	0,11	0,014	**		
Tyydyttyneet yht.	74,6	72,8	65,3	60,9	1,15	***		o
Monoeenit yht.	21,2	22,1	27,0	27,4	0,91	**		o
Polyeenit yht.	3,74	4,39	6,67	10,20	0,40	***		

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin. ²⁾ Sisältää kaikki CLA:n isomeerit.

Taulukko 5. Kalaöljylisän vaikutus maidon C18:1-rasvahappokoostumukseen (g/100 rasvahappoja).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
<i>trans</i> -4	0,032	0,031	0,036	0,029	0,004			
<i>trans</i> -5	0,027	0,028	0,161	0,058	0,061			
<i>trans</i> -6+7+8	0,253	0,358	0,602	0,618	0,037	***	*	o
<i>trans</i> -9	0,244	0,326	0,615	0,615	0,039	***	*	*
<i>trans</i> -10	0,296	0,384	0,839	5,130	0,305	***	**	
<i>trans</i> -11	1,498	1,758	5,363	5,748	0,695	**		o
<i>trans</i> -12	0,329	0,579	1,059	1,016	0,070	***	**	o
<i>trans</i> -13	0,580	0,785	1,261	1,294	0,119	**		
<i>trans</i> -15	0,468	0,648	0,789	0,693	0,078		o	
<i>trans</i> -16	0,402	0,571	0,815	0,355	0,101		*	
<i>cis</i> -9	14,17	13,28	11,70	7,60	0,779	***		
<i>cis</i> -11	0,430	0,444	0,662	1,267	0,056	***	*	
<i>cis</i> -12	0,135	0,137	0,221	0,216	0,053			
<i>cis</i> -13	0,051	0,072	0,120	0,117	0,011	**	o	

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin.

Taulukko 6. Kalaöljylisän vaikutus maidon CLA-isomeerien koostumukseen (mg/100g rasvahappoja).

	Kalaöljyä (g/pv)				SEM	Tilastollinen merkitsevyys ¹⁾		
	0	75	150	300		L	Q	C
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	349	566	1495	1159	102,4	o	**	**
<i>cis</i> -12, <i>trans</i> -14	3,93	4,26	8,31	1,15	0,715	***	**	*
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	1,75	0,60	0,94	1,43	0,524			
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13	18,87	20,63	21,84	7,47	2,268	**	*	
<i>trans</i> -8, <i>cis</i> -10	3,60	9,27	11,46	8,87	3,412	***		
<i>trans</i> -7, <i>cis</i> -9	31,0	50,5	103,8	82,6	7,86	o	**	*
<i>trans</i> -7, <i>trans</i> -9	9,78	12,23	14,95	14,00	1,268	***		
<i>trans</i> -8, <i>trans</i> -10	2,72	3,04	8,86	12,48	1,040	*		o
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11	13,05	14,26	17,61	14,34	1,322	**	o	
<i>trans</i> -10, <i>trans</i> -12	3,49	3,40	3,96	8,77	0,716		*	
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13	23,57	10,76	7,61	5,01	1,955		*	
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14	13,72	11,53	10,71	7,77	1,685	**		

¹⁾ L, Q ja C viittaavat lineaariseen, 2. ja 3. asteen vaikutuksiin.

Merkittävimmät muutokset maitorasvan C18:1-rasvahappojen osalta olivat vakseenihapon (lineaarinen vaikutus, $P < 0,01$) ja *trans*-10-oktadekeenihapon (2. asteen vaikutus, $P < 0,01$) osuuksien selvä lisääntyminen kalaöljyannosta lisättäessä. Maidon CLA-pitoisuus nousi kaikilla kalaöljykäsittelyillä ja suurin pitoisuus saavutettiin jo 150 gramman päivittäisellä kalaöljylisällä. Kalaöljyä edelleen lisättäessä maidon CLA-pitoisuus ei enää noussut. Tulokset ovat yhdenmukaisia aikaisemmin julkaistujen aineistojen kanssa (Offer ym. 1999, Donovan ym. 2000, Whitlock ym. 2002, Shingfield ym. 2003).

Johtopäätökset

Rasvahappojen biohydrogenaatioon ja maidon rasvahappokoostumukseen voidaan vaikuttaa ruokinnallisilla keinoilla. Tässä kokeessa kalaöljyn lisäys vähensi lehmien säilörehun syöntiä sekä maitotuotosta ja maidon rasvapitoisuutta merkitsevästi. Suurin kalaöljyn lisäys aiheutti monitydyttämättömien rasvahappojen biohydrogenaatioissa reaktioreitin muutoksen, jonka seurauksena pötsiin muodostui runsaasti *trans*-10-oktadekeenihappoa vakseenihapon sijaan. Kalaöljylisäyksen aiheuttama linolihapon biohydrogenaatioreitin muuttuminen *trans*-10-oktadekeenihappoa tuottavalle reitille oli selvästi havaittavissa sekä maidon että satakerran ruokasulan rasvahappokoostumusten perusteella.

Koska *trans*-10-oktadekeenihapon muodostuminen pötsissä liittyy maidon rasvapitoisuuden laskuun, sen muodostuminen pötsissä ei ole toivottavaa haluttaessa lisätä terveellisten monitydyttämättömien rasvahappojen, kuten CLA:n, pitoisuutta maitorasvassa. Koska vakseenihaposta muodostuu CLA:ta maitorasvassa maitorasvan Δ^9 -desaturasiinisyömin vaikutuksesta, sen kertyminen pötsiin olisi edullista tavoiteltaessa CLA:n rikastumista maitoon. Tässä kokeessa vakseenihapon muodostus pötsissä ja maidon CLA-pitoisuus olivat suurimmillaan 150 gramman kalaöljyannoksella. Maidon

rasvahappokoostumuksessa havaitut muutokset kuvasivat hyvin rasvahappojen virtauksissa ilmenneitä muutoksia. Kaikkia tuloksia ei kuitenkaan voida tulkita yksiselitteisesti, koska tulosten tulkinta vaatisi enemmän tietoa plasman rasvahappopitoisuuksien ja rasvahappojen keskinäisten suhteiden vaikutuksista maitorauhasen rasvahappometaboliaan.

Kirjallisuus

- Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A., Huhtanen, P. & Varvikko, T.** 2000. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *Brit. J. Nutr.* 83: 67-77.
- Bauman, D.E., & Griinari, J.M.** 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci* 70: 15-29.
- Cant, J.P., Fredeen, A.H., MacIntyre, T., Gunn, J. & Crowe, N.** 1997. Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci* 77: 125-131.
- Dhiman, T.R., Satter, L.D., Pariza, M.W., Galli, M.P., Albright K. & Tolosa, M.X.** 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci* 83: 1016-1027.
- Donovan, D.C., Schingoethe, D.J., Baer, R.J., Ryali, J., Hippen, A.R. & Franklin, S.T.** 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 83: 2620-2628.
- Doreau, M. & Chilliard, Y.** 1997. Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. *Reprod. Nutr. Develop.* 37: 113-124.
- France, J. & Siddons, R.C.** 1986. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. *J. Theor. Biol.* 121: 105-119.
- Fritsche, J., Yurawecz, M.P., Pawlosky, R., Flanagan, V.P., Steinhart, H. & Ku, Y.** 2001. Spectroscopic characterization of unusual conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *J. Sep. Sci* 24: 559-618.
- Griinari, J.M. & Bauman, D.E.** 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W. & Nelson, G.J. (eds.) *Advances in conjugated linoleic acid research, Volume 1*, AOCS Press, Campaign, Illinois, p. 180-200.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela K.V.V. & Bauman, D.E.** 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.* 130: 2285-2291.
- Grummer, R.R. & Carrol, D.J.** 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci* 69: 3838-3852.
- Molkentin, J. & Precht, D.** 1995. Optimized analysis of *trans*-octadecenoic acids in edible fats. *Chromatographia* 41: 267-272.
- Offer, N.W., Mardsen, M., Dixon, J., Speake, B.K. & Thacker, F.E.** 1999. Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 poly-unsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk, *Anim. Sci* 69: 613-625.
- Precht, D., Molkentin, J., McGuire, M.A., McGuire, M.K. & Jensen, R.G.** 2001. *Trans*-geometrical and positional isomers of linoleic acid including conjugated linoleic acid (CLA) in German milk and vegetable fats. *Lipids* 36: 213-216.
- Scollan, N.D., Dhanoa, M.S., Choi, N.J., Maeng, M., Enser, W.J. & Wood, J.D.** 2001. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agric. Sci* 136: 345-355.
- Sehat, N., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G. & Ku, Y.** 1998. Silver-ion high-performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Lipids* 33: 217-221.
- Shingfield, K.J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Ärölä, A., Nurmela, K.V.V., Huhtanen, P. & Griinari J.M.** 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci* 77: 165-179.
- Whitlock, L.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Baer, R.J., Ramaswamy, N. & Kasperson K.M.** 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acid in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci* 85: 234-243.
- Williams, C.H., David, D. & Riismaa, O.** 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrometry. *J. Agric.Sci* 59: 381-385.
- Wonsil, B.J., Herbein, J.H. & Watkins, B.A.** 1994. Dietary and ruminally derived *trans*-18:1 fatty acid alter bovine milk lipids. *J. Nutr.* 124: 556-565.
- Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W. & Nelson, G.J.** 1999. *Advances in conjugated linoleic acid research. Volume 1*, AOCS Press, Campaign, Illinois, 480 p.