



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

**«ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ
ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΣΗΣΑΜΑΛΕΥΡΟΥ ΣΕ
ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε ΣΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ ΑΙΓΩΝ
ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ**

ΧΡΥΣΟΥΛΑ Ν. ΚΑΡΑΪΣΚΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΤΣΙΠΛΑΚΟΥ ΕΛΕΝΗ , Επίκουρη Καθηγήτρια ΕΖΠ&Υ-ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2016



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΣΗΣΑΜΑΛΕΥΡΟΥ ΣΕ
ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε ΣΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ ΑΙΓΩΝ
ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ

ΧΡΥΣΟΥΛΑ Ν. ΚΑΡΑΪΣΚΟΥ

Εξεταστική επιτροπή:

Τσιπλάκου Ε., Επικ. Καθηγήτρια ΤΕΖΠ&Υ-ΓΠΑ

Ζέρβας Γ., Καθηγητής ΤΕΖΠ&Υ-ΓΠΑ

Ακτόπης Α., Λέκτορας ΤΕΤΤ-ΓΠΑ

Αθήνα, Ιούνιος 2016

*Στην οικογένειά μου για την αγάπη και
στήριξη που μου προσφέρουν απλόχερα*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας κα. Τσιπλάκου Ε. στα πλαίσια της ολοκλήρωσης του προγράμματος των μεταπτυχιακών σπουδών των συνεργαζόμενων τμημάτων Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών και Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων.

Η εργασία αυτή δεν θα είχε πραγματοποιηθεί αν δεν είχα την αμέριστη αρωγή συγκεκριμένων ανθρώπων, τους οποίους θα ήταν παράλειψη, να μην τους ευχαριστήσω. Κατ' αρχάς θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Τσιπλάκου Ελένη, για την εκτίμηση και εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου ώστε να αναλάβει την επίβλεψη της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Η συμβολή της υπήρξε καταλυτική και ουσιαστική, αφού με τις πολύτιμες συμβουλές, τις υποδείξεις αλλά και την άριστη καθοδήγηση της καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, επέτρεψε ώστε να ολοκληρωθεί η παρούσα μελέτη.

Ευχαριστώ θερμά τον Διευθυντή του Εργαστηρίου «Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής Αγροτικών Ζώων» Καθηγητή κ. Ζέρβα Γεώργιο για τις πολύτιμες συμβουλές του και υποδείξεις καθώς και τη δυνατότητα να ξεκινήσω τη διπλωματική μου στο εργαστήριο.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον Λέκτορα κ. Ακτύπη Αναστάσιο του εργαστηρίου Γαλακτοκομίας για τις υποδείξεις του.

Επιπρόσθετα, θα επιθυμούσα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, στην κυρία Γεωργιάδου Μαρία που μου προσέφερε τη βοήθειά της όποτε απαιτήθηκε χωρίς φειδώ. Ακόμα ευχαριστώ θερμά τον υποψήφιο διδάκτωρ του εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής Μαυρομάτη Αλέξανδρο αλλά και τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Μητσιοπούλου Χριστίνα για την συνεργασία αλλά και την αμέριστη βοήθεια καθ' όλη τη διάρκεια των εργαστηριακών αναλύσεων.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένεια μου για την ηθική και ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφεραν όλο αυτό το χρονικό διάστημα της περαίωσης της διπλωματικής μελέτης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....	i
Περιεχόμενα.....	ii
Συντομογραφίες	v
Περίληψη	vii
Abstract	x
ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ	
1.1 Εισαγωγή.....	1
1.2 Χαρακτηριστικά του αίγειου γάλακτος	2
1.3 Λιπαρά οξέα.....	6
1.3.1 Κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα	8
1.3.2 Βιοσύνθεση του λίπους του γάλακτος.	11
1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν το προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος.....	13
1.4.1 Παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο.....	13
1.4.1.1 Είδος του ζώου	13
1.4.1.2 Φυλή του ζώου... ..	13
1.4.1.3 Στάδιο γαλακτικής περιόδου	14
1.4.1.4 Ηλικία, αριθμός γαλακτικών περιόδων και πολυδυμία.....	14
1.4.1.5 Ατομικότητα.....	15
1.4.2 Διατροφικοί παράγοντες.....	15
1.4.2.1 Βοσκή.....	15
1.4.2.2 Αναλογία ΧΖ/ΣΖ.....	16
1.4.2.3 Έλαια και ελαιούχα σπέρματα.....	17
1.5 Γενικά χαρακτηριστικά του σησαμιού- χρήση ως ζωοτροφή.....	19
1.5.1 Ευεργετικές δράσεις του σησαμόσπορου.....	21
ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ	
2.1 Ένζυμα.....	27
2.2 Πηγές ενζύμων.....	28
2.2.1 Ένζυμα ως βιοκαταλύτες.....	28
2.2.2 Ένζυμα του πλάσματος.....	28
2.2.3 Ένζυμα του γάλακτος.....	28
2.3 Ενδογενή ένζυμα του γάλακτος.....	29
2.4 Οξειδωτικό στρες.....	31
2.4.1 Γενικά για το οξειδωτικό στρες.....	31
2.5 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.....	31
2.5.1 Ανιόν του υπεροξειδίου.....	32
2.5.2 Ρίζα υδροξυλίου.....	33
2.5.3 Δραστικές ρίζες του αζώτου.....	34
2.5.4 Υπεροξειδίου του H ₂ O ₂	34

2.5.5 Υπεροξειδική ρίζα.....	35
2.6 Οξειδωτική βλάβη στα βιομόρια.....	35
2.6.1 Μηχανισμός δράσης ελευθέρων ριζών.....	35
2.6.2 Επίδραση στα λιπίδια.....	35
2.6.3 Επίδραση σε πρωτεΐνες.....	36
2.6.4 Επίδραση σε νουκλεϊκά οξέα.....	36
2.7 Αντιοξειδωτικοί κυτταρικοί μηχανισμοί.....	37
2.7.1 Αντιοξειδωτικά ένζυμα.....	37
2.7.2 Αναγωγή της γλουταθειόνης.....	37
2.7.3 Καταλάση.....	38
2.7.4 Μεταφοράση της γλουταθειόνης.....	39
2.7.5 Δισμουτάση του υπεροξειδίου.....	41
2.7.6 Υπεροξειδάση γλουταθειόνης.....	42
2.7.7 Λακτοϋπεροξειδάση.....	43
2.7.8 Ένζυμα της οδού της φωσφορικής πεντόζης.....	43
2.7.9 Υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης και αναγωγή της θειορεδοξίνης.....	43
2.7.10 Συνένζυμο Q	43
2.7.11 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση.....	44
2.7.12 Γλουταθειόνη.....	44
2.7.13 Βιταμίνη E.....	45
2.7.14 Καροτινοειδή.....	46
2.7.15 Μεταλλοθειονίνες.....	46
2.8 Διατροφικοί παράγοντες που επηρεάζουν την δραστικότητα των ενζύμων....	46
2.8.1 Πηγές αντιοξειδωτικών.....	46
2.8.2 Βιταμίνη E και Σελήνιο.....	47
2.8.3 Βιταμίνη C.....	48
2.8.4 Πολυφαινόλες.....	50
2.8.5 Βοσκή.....	51
2.8.6 Επίπεδο διατροφής.....	52
2.8.7 Έλαια και ελαιούχα σπέρματα – σησάμι.....	53
ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ	
3. Υλικά και μέθοδοι.....	56
3.1 Σκοπός του πειράματος.....	56
3.2 Πειραματικός σχεδιασμός.....	56
3.3 Δειγματοληψίες.....	58
3.4 Προσδιορισμοί.....	59
3.4.1 Μέθοδος προσδιορισμού ΛΟ στο γάλα.....	60
3.4.2 Μέθοδος προσδιορισμού ΛΟ στο πλάσμα.....	61

3.4.3 Μέθοδος προσδιορισμού ΛΟ στις ζωοτροφές.....	61
3.4.4 Ομαδοποιήσεις λιπαρών οξέων.....	61
3.4.5 Ενζυμικός προσδιορισμός αναγωγά της γλουταθειόνης.....	63
3.4.6 Ενζυμικός προσδιορισμός μεταφοράς της γλουταθειόνης.....	63
3.4.7 Ενζυμικός προσδιορισμός λακτοϋπεροξειδάσης.....	63
3.4.8 Ενζυμικός προσδιορισμός δεσμουτάσης του υπεροξειδίου.....	63
3.4.9 Ενζυμικός προσδιορισμός υπεροξειδάσης γλουταθειόνης.....	64
3.4.10 Bradford.....	64
3.4.11 FRAP.....	64
3.4.12 ABTS.....	64
3.4.13 MDA.....	65
3.4.14 Πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC).....	65
3.4.15 Στατιστική ανάλυση.....	65
ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ.....	
4.Αποτελέσματα.....	66
ΜΕΡΟΣ ΠΕΜΠΤΟ.....	
5.Σχολιασμός αποτελεσμάτων.....	79
ΜΕΡΟΣ ΕΚΤΟ.....	
Συμπεράσματα.....	92
Βιβλιογραφία.....	93

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

BHA	: βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη
BHT	: βουτυλιωμένο υδροξυτουόλιο
CAT	: Καταλάση
CLA	: συζευγμένο λινελαϊκό οξύ
DHA	: εικοσιδυοεξανοϊκό οξύ
EPA	: εικοσιπεντανοϊκό οξύ
FMN	: φλάβινο-μονο-νουκλεοτίδιο
GR	: Ρεδοκτάση της γλουταθειόνης
GSH	: αναχθείσα γλουταθειόνη
GSSG	: οξειδωμένη γλουταθειόνη
GSTs	: Μεταφοράση της γλουταθειόνης
GPxs	: Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης
HNE	: 4-υδροξυ-2-νονενάλη
LDL	: χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνης
LPO	: λακτοϋπεροξειδάση
MDA	: μαλονδιαλδεΐδη
NAD ⁺	: νικοτιναμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο
PC	: πρωτεϊνικά καρβονύλια
PUFA	: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
ROS	: δραστικές ρίζες οξυγόνου (Reactive oxygen species)
SOD	: Δισμουτάση του υπεροξειδίου
TMR	: σιτηρέσιο ολικής ανάμειξης XZ και ΣΖ, (total mixed ration)
TPP	: πυροφωσφορική θειαμίνη
TBHQ	: και τριτ-βουτυλο-υδροκινόνη
VA	: Βασσενικό Οξύ

ΑΔ: Αθηρωματικός Δείκτης
ΑΚΛΟ: Ακόρεστα Λιπαρά Οξέα
ΑΛΟ: Απαραίτητα Λιπαρά Οξέα
ΙΟ: Ινώδεις Ουσίες
ΚΛΟ: Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα
Κ/Α: Κορεσμένα/Ακόρεστα ΛΟ: Λιπαρά Οξέα
ΜΑ: Μακράς Αλύσου Λιπαρά Οξέα
ΜΑΚΛΟ: Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα
ΜΕΑ: Μεσαίας Αλύσου Λιπαρά Οξέα
ΜΙΑ: Μικρής Αλύσου Λιπαρά Οξέα
ΟΑΟ: Ολικές Αζωτούχες Ουσίες
ΟΟ: Οργανική Ουσία
ΠΑΚΛΟ: Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα
ΠΛΟ: Πτητικά Λιπαρά Οξέα
ΣΒ: Σωματικό Βάρος
ΣΛΟ: Συζευγμένα Λιπαρά Οξέα
ΣΖ: Συμπυκνωμένες Ζωοτροφές
ΧΖ: Χονδροειδής Ζωοτροφές

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΣΗΣΑΜΑΛΕΥΡΟΥ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε ΣΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ ΑΙΓΩΝ ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ**

ΚΑΡΑΪΣΚΟΥ Ν. ΧΡΥΣΟΥΛΑ

*Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο
Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 118 55*

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν η προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στα σιτηρέσια αιγών, επηρέασε τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Συγκεκριμένα το προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος αλλά και την δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάσης (CAT), μεταφοράσης της γλουταθειόνης (GSTs), ρεδουκτάσης της γλουταθειόνης (GR), δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) και λακτουπεροξειδάσης (LPO)(μόνο σε δείγματα γάλακτος), σε δείγματα γάλακτος και πλάσματος του αίματος. Επιπρόσθετα, προσδιορίστηκε η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος με βάση των μεθόδων FRAP και ABTS. Επιπλέον, η εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης και της πρωτεϊνικής οξειδωσης που προκλήθηκε βασίστηκε στη μέτρηση της συγκέντρωσης της μαλονδιαλδεΐδης (MDA) και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων αντίστοιχα. Στις αίγες πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός σε πέντε ισάριθμες ομάδες (ομάδα Α,Β,Γ,Δ,Ε). Εκ των οποίων η μια αποτελούσε τον μάρτυρα (ομάδα Α, n=6) και οι λοιπές την ομάδα επέμβασης με προσθήκη 10% σησαμάλευρου. Συγκεκριμένα, στην ομάδα Β πραγματοποιήθηκε προσθήκη μόνο 10% σησαμαλεύρου στο σιτηρέσιο των ζώων ενώ στις υπόλοιπες, ομάδα Γ έγινε προσθήκη 10% σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με Βιταμίνη Ε, στην ομάδα Δ προσθήκη 10% σησαμαλεύρου και Σεληνίου και τέλος στην ομάδα Ε προσθήκη 10% σησαμαλεύρου, Βιταμίνης Ε και Σεληνίου. Η διατροφή των ζώων ήταν ομαδική με ίδια αναλογία ΧΖ/ΣΖ (40:60) στο σιτηρέσιο ώστε να καλύπτονται οι διατροφικές τους ανάγκες και η πειραματική περίοδος διήρκησε 38 ημέρες. Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες αίματος και γάλακτος την 12^η, 25^η και 33^η πειραματική ημέρα από κάθε ζώο ξεχωριστά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, στα δείγματα του γάλακτος δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στην δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μείωση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP), στην συγκέντρωση της MDA καθώς και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC) στα δείγματα του γάλακτος. Επίσης η επίδραση της διατροφικής επέμβασης στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP) των δειγμάτων του γάλακτος παρουσίασε τάση αύξησης στην ομάδα των

επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα . Όσον αφορά τα δείγματα του πλάσματος του αίματος η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική αύξηση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP), στην συγκέντρωση της MDA, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC), της δραστηριότητας του ενζύμου ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης (GR) και μεταφοράσης της γλουταθειόνης (GSTs). Από την άλλη πλευρά η δραστηριότητα των ενζύμων δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) μειώθηκε. Αξίζει να αναφερθεί ότι η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη δραστηριότητα της καταλάσης (CAT) στα δείγματα του πλάσματος του αίματος. Επιπλέον η επίδραση της διατροφικής επέμβασης παρουσίασε τάση προς αύξηση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP) και στη συγκέντρωση της (MDA). Τα κορεσμένα ΛΟ παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική μείωση ($P < 0,05$) και τα ακόρεστα στατιστικώς σημαντική αύξηση ($P < 0,05$) στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε στα ΜΑΚΛΟ (C14:1, C15:1) αλλά και στη συγκέντρωση του βασενικού οξέος (VA-*trans*-11 C18:1) και του *cis*-9, *trans*-11 C18:2 στην ομάδα των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα.. Τέλος, η προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με τη βιταμίνη Ε προκάλεσε στατιστικώς σημαντική μείωση στα ΜΕΑ, στην αναλογία Κ/Α και στον αθηρωματικό δείκτη, ενώ επέφερε στατιστικώς σημαντική αύξηση στα ΠΑΚΛΟ και ΜΑΚΛΟ.

Λέξεις κλειδιά: αντιοξειδωτικά ένζυμα, οξειδωτικό στρες, προφίλ ΛΟ, προσθήκη λίπους, σησαμάλευρο, ελαιούχα σπέρματα, συζευγμένο λινελαϊκό οξύ, αίγες.

**EFFECT OF SESAME MEAL SUPPLEMENTATION IN
COMBINATION WITH VITAMIN E IN DAIRY GOATS DIETS ON
CENTRAL QUALITY CHARACTERISTICS OF MILK**

KARAISKOU N. CHRYSOULA

***Faculty of Animal Science and Aquaculture, Department of Nutritional
Physiology and Feeding, Iera Odos 75, Athens, 11855***

Abstract

The purpose of this study was to examine, whether the combination of sesame meal and vitamin E in goats' diet could affect the quality of the milk. In particular has been studied the profile of the milk fatty acids and the activity of the antioxidant catalase enzyme (CAT), transferase glutathione (GST), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and lactoperoxidase (LPO) (only in milk samples), in milk samples and blood plasma respectively. Furthermore, the total antioxidant capacity of the sample was determined based on the methods of FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) correspondingly. Moreover, it has been examined the included lipid peroxidation and protein oxidation based on the measurement of the concentration of malondialdehyde (MDA) and protein carbonyls separately. The goats have been divided into five equal groups (Group A, B, C, D, E), of which one was the control (group A, n = 6) and the other the intervention group implying the supply of 10% with sesame meal. In group B has been added on diet only 10% of sesame meal. In Group C has been used 10% of sesame meal in combination with Vitamin E. In group D has been used 10% of sesame meal and selenium (Se). Finally in group E has been examined the combination of 10% of sesame meal, Vitamin E and selenium (Se). The feeding process was collective and at the same diet's ratio 40:60, in order to meet nutrition needs, while the experimental period lasted for 38 days. Throughout subject period have been taken samples of milk and blood respectively at the 12th, 25th and 33rd day from each animal individually.

According to the results of the experiment, the milk samples had not shown statistically significant changes in the activity of antioxidant enzymes of the intervention group compared with the control. The effect of the sampling timing showed a statistically significant reduction in the total antioxidant capacity of (FRAP), in the MDA concentration and protein carbonyls (PC) in the milk samples. Also the effect of dietary intervention on the total antioxidant capacity (FRAP) of milk samples showed an increasing trend in the intervention group as compared with the control. As far as concern the samples of plasma blood has been shown a statistically significant increase in total antioxidant capacity (FRAP), the concentration of MDA, protein carbonyls (PC), the enzyme reductase activity of

glutathione (GR) and Glutathione-transferase (GSTs). On the contrary the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) decreased. It should be noted that the effect of nutritional intervention with the sampling time showed statistically significant differences in the activity of catalase (CAT) in blood plasma samples. Furthermore the effect of dietary intervention showed a tendency to increase in total antioxidant capacity (FRAP) and the (MDA concentration). Saturated fatty acids (FA) showed a statistically significant reduction ($P < 0.05$) and unsaturated showed a statistically significant increase ($P < 0.05$) respectively in the intervention groups compared with the controller. A significant increase was observed in monounsaturated FA (C14:1, C15:1) and in concentration of vaccenic acid (VA) acid (VA-*trans*-11 C18:1) and the *cis*-9, *trans*-11 C18:2 in the intervention group compared with the control. Finally, the addition of sesame meal in combination with vitamin E caused a statistically significant reduction in the medium chain fatty acid (MCFA), the ratio S:U and the atherogenicity index (AI), and showed a significant increase in PUFA and monounsaturated FA.

Keywords: antioxidant enzymes, oxidative stress, fatty acids profile, lipid supplementation, sesame meal, oilseeds, CLA, goats.

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια αναδεικνύεται μια ισχυρή σχέση της διατροφής και της υγείας του ανθρώπου. Υπάρχουν αυξανόμενες αποδείξεις ότι η διατροφή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη χρόνιων παθήσεων στον ανθρώπινο πληθυσμό, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου, του διαβήτη, της παχυσαρκίας και των καρδιαγγειακών παθήσεων. Οι σύγχρονες διατροφικές προσεγγίσεις αφορούν την ανάπτυξη τροφών που βελτιώνουν την ανθρώπινη υγεία με σκοπό τη μείωση των αρνητικών οικονομικών και κοινωνικών επιδράσεων των χρόνιων παθήσεων. Ένας σημαντικός αριθμός μελετών ενοχοποιούν την αυξημένη κατανάλωση μεσαίας αλύσου (C12:0-C16:0) κορεσμένων λιπαρών οξέων (ΚΛΟ) και *trans* λιπαρών οξέων για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων.

Το γάλα είναι μια πολυσύνθετη βιολογική έκκριση των θηλαστικών που προορίζεται για την διατροφή των νεογέννητων ζώων και θεωρείται η πληρέστερη απλή τροφή που υπάρχει στη φύση. Η υψηλή διατροφική του αξία αποδίδεται κυρίως στις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες, τις βιταμίνες αλλά και τα ανόργανα στοιχεία που περιέχει. (National Research Council, 1988; Miller *et al.*, 2004). Καθώς αποτελεί σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών και βιοενεργών λιπιδίων συμπεριλαμβανομένων των C4:0 λιπαρών οξέων, των διακλαδιζόμενων λιπαρών οξέων, του *trans*-11 C18:1, του *cis*-9, *trans*-11 συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA), του *trans*-9, *trans*-11 C18:2 συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA), των βιταμινών Α και D και του β-καροτενίου, για τα οποία έχει αποδειχθεί ότι έχουν αντιμεταλλακτικές ιδιότητες σε μεγάλο αριθμό βιομετρικών μελετών (Parodi, 2001, Bauman *et al.*, 2005, Shingfield *et al.*, 2008).

Τις τελευταίες δεκαετίες το ενδιαφέρον του επιστημονικού κόσμου έχει στραφεί στο ρόλο που διαδραματίζουν τα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος μέσω της διατροφής στην υγεία του ανθρώπου. Το λίπος του γάλακτος είναι το πιο ευμετάβλητο συστατικό του γάλακτος και επηρεάζεται από αλλαγές στη διατροφή των ζώων, τόσο όσον αφορά τη συγκέντρωσή του στο γάλα όσο και τη σύσταση του σε λιπαρά οξέα (Bauman *et al.*, 2006). Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν τις κύριες πηγές C12:0, C14:0, C16:0 και *trans* λιπαρών οξέων στη διατροφή του ανθρώπου, δηλαδή παρέχουν το 25-60% του συνόλου των κορεσμένων λιπαρών οξέων που καταναλώνονται στην Ευρώπη, των οποίων η υπερβολική κατανάλωση ευθύνεται για αρνητικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία (Givens and Shingfield 2005). Παρόλα αυτά, αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι υπάρχει μια συγκεκριμένη κατηγορία λιπαρών οξέων που επιδρά θετικά στην πρόληψη πολλών χρόνιων παθήσεων του ανθρώπου, όπως καρκίνος, διαβήτης, υπέρταση κ παχυσαρκία

(Williams, 2000; Mohode *et al.*, 2001; Jense, 2002; Parodi, 2004). Την κατηγορία αυτή αποτελούν τα συζευγμένα λιπαρά οξέα (ΣΛΟ) και τα ω-3 τα οποία έχουν θετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία.

Η επιθυμητή συγκέντρωση ορισμένων ευεργετικών συστατικών του γάλακτος, σε συνδυασμό με την ανάγκη εξασφάλισης επαρκούς τροφής (food security) και ασφαλούς τροφής (safe food) σε όλους τους ανθρώπους της υφηλίου, αποτελούν προκλήσεις για τον τομέα της διατροφής των αγροτικών ζώων, ο οποίος, μέχρι στιγμής, έχει δείξει θετικά αποτελέσματα.

Για το λόγο αυτό, η διατροφή αποτελεί ένα σημαντικό ρυθμιστικό παράγοντα της σύστασης του λίπους του γάλακτος. Η προσπάθεια αλλαγής του προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος των μηρυκαστικών, ώστε αυτό να καθίσταται πιο υγιεινό από διατροφικής άποψης, επικεντρώθηκε σε διάφορες διατροφικές επεμβάσεις και κυρίως μέσω της χορήγησης στα ζώα διαφόρων ζωοτροφών πλούσιων σε λιπαρές ουσίες. Βασικός στόχος είναι η μείωση της αναλογίας των C12:0, C14:0 και C16:0 λιπαρών οξέων και η αύξηση των *cis* μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (ΜΑΚΛΟ) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ΠΑΚΛΟ) και των βιοενεργών λιπιδίων (Shingfield, 2008). Έτσι, η τροποποίηση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων του γάλακτος με αποδεκτά περιβαλλοντικά και κοινωνικο-ηθικά κριτήρια αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό μιας ολοκληρωμένης στρατηγικής για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης χρόνιων παθήσεων στον άνθρωπο.

1.2 Χαρακτηριστικά του αίγειου γάλακτος

Το αίγειο γάλα όπως και τα άλλα είδη γάλακτος, εκτός από το αγελαδινό, δεν είχαν μελετηθεί ευρέως μέχρι πριν μερικά χρόνια. Σχετικά περιορισμένος αριθμός ερευνητικών εργασιών είχε πραγματοποιηθεί εστιάζοντας κυρίως το ενδιαφέρον στη μελέτη των φυσικοχημικών, μικροβιολογικών χαρακτηριστικών καθώς και των τεχνολογικών ιδιοτήτων του αίγειου γάλακτος. Τελευταία όμως λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος τόσο των βιομηχανιών τροφίμων όσο και της φαρμακοβιομηχανίας για παραγωγή τροφίμων που περιέχουν συστατικά του γάλακτος και πρωτογάλακτος με ιδιαίτερα διατροφικά χαρακτηριστικά έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες (*in vitro* και *in vivo*) για την επίδραση των συστατικών αυτών στη διατροφή και την υγεία του ανθρώπου.

Τα κριτήρια με τα οποία αξιολογείται η ποιότητα του γάλακτος είναι τα θρεπτικά και τα τεχνολογικά του χαρακτηριστικά, αλλά και η υγιεινή του κατάσταση (Boyazoglou and Morand- Fehr, 2001). Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται στενά με τα κύρια συστατικά του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη), με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, το μικροβιακό φορτίο, καθώς και με την παρουσία των ανόργανων

στοιχείων, των βιταμινών, των Λ.Ο. του ΣΛΟ, της χοληστερόλης των τερπενίων κ.α. (Zervas and Tsiplakou, 2011)

Είναι ευρέως γνωστό ότι το αίγαιο γάλα έχει χρησιμοποιηθεί από πολύ παλιά σαν υποκατάστατο του αγελαδινού και σε κάποιες περιπτώσεις του μητρικού στη διατροφή των μικρών παιδιών. Αυτό απετέλεσε και έναν από τους λόγους να τύχει ιδιαίτερης προσοχής από τους ερευνητές οι οποίοι πρόσφατα έχουν πραγματοποιήσει μια σειρά από έρευνες με στόχο τη μελέτη της θρεπτικής αξίας του γάλακτος είτε με βάση τα κύρια θρεπτικά συστατικά (πρωτεΐνες, λίπος, λακτόζη, άλατα), είτε με βάση τα συστατικά που βρίσκονται σε μικρή αναλογία ή σε ίχνη αλλά με σημαντική βιολογική δράση. Παράλληλα, ιδιαίτερο ενδιαφέρον δίνεται τελευταία σε μια σειρά από δραστικές ενώσεις (βιοενεργά και αντιμικροβιακά πεπτίδια, ιχνοστοιχεία κ.ά) του γάλακτος, που διαδραματίζουν έναν ρόλο προστατευτικό, αυξητικό ή και θεραπευτικό.

Χημική σύσταση του αίγειου γάλακτος

Το αίγαιο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα που παράγονται από αυτό αποτελούν σημαντικό μέσο πρόσληψης πολλών θρεπτικών συστατικών που συμβάλλουν σε μια υγιεινή και ισορροπημένη διατροφή, σε όλα τα στάδια της ζωής επειδή περιέχουν ένα ευρύ φάσμα θρεπτικών στοιχείων, όπως πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, ασβέστιο και πολλά άλλα θρεπτικά στοιχεία, βιταμίνες, λιπαρά οξέα κ.α .

Η διαφοροποίηση των συστατικών μεταξύ του ίδιου αλλά και των διαφόρων ειδών γάλακτος μπορεί να είναι τόσο ποσοτική όσο και ποιοτική. Αν και η σύσταση του αίγειου γάλακτος, τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά παρουσιάζει μεγάλη παραλλακτικότητα που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η διατροφή, η γαλακτική περίοδο, η φυλή, η ηλικία, η εποχή κ.α., από τα αποτελέσματα πολλών ερευνών διαπιστώνεται ότι η χημική του σύσταση, όσον αφορά τα κύρια συστατικά του, δεν έχει μεγάλες διαφορές από το αγελαδινό (πίνακας 1), όταν προέρχεται από αίγες βελτιωμένων φυλών (Alpine, Zaanen, Tongrnburg). Ενώ όταν προέρχεται από μη βελτιωμένων φυλών, προσομοιάζει με το πρόβειο γάλα (Ζέρβας, 2013. Διατροφή Μηρυκαστικών ζώων σελ. 349). Το πρόβειο γάλα έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά στερεά συστατικά, λίπος, πρωτεΐνες και ανόργανα στοιχεία σε σύγκριση με το αίγαιο και το αγελαδινό γάλα (Ζέρβας, 2013). Όμως μια σειρά από δευτερεύοντα συστατικά, καθοριστικά για τη διαφοροποίηση του, διαμορφώνουν τα ιδιαίτερα φυσικοχημικά, τεχνολογικά χαρακτηριστικά, καθώς και τη θρεπτική και βιολογική αξία του.

Συστατικά (%)	Είδος γάλακτος	
	Αίγαιο	Αγελαδινό
Λίπος	4,1	3,8
Πρωτεΐνες	3,4	3,3

Λακτόζη	4,6	4,7
Άλατα	0,8	0,7
Ολικά Στερεά	12,9	12,5

Πίνακας 1: Μέση χημική σύσταση κατσικίσιου & αγελαδινού γάλακτος (Καμιναρίδης Σ., Μοάτσου Γ., Γαλακτοκομία 2009)

Πρωτεΐνες του αίγιου γάλακτος

Όσον αφορά στις αζωτούχες ουσίες που εμπεριέχονται στο αίγιο γάλα, επηρεάζουν και αυτές με την σειρά τους την διαιτητική του αξία και την τυροκομική του απόδοση και αποτελούνται κατά 94% περίπου από πρωτεΐνες και κατά 6 % από μη πρωτεϊνικής φύσεως αζωτούχες ουσίες (ΜΠΦΝ) (Ζέρβας, 2013).

Οι πρωτεΐνες του αίγιου γάλακτος παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τα άλλα είδη γάλακτος κυρίως στη σύνθεση των αμινοξέων από τα οποία αποτελούνται. Είναι υψηλής βιολογικής αξίας, βιοδιαθεσιμότητας και δεν προκαλούν αλλεργία.

Το αίγιο γάλα αποτελεί μια καλή πηγή χαμηλού κόστους αλλά υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη, παρέχοντας 8,7g πρωτεΐνης / κούπα 250 ml που καλύπτει το 17,4% της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης (RDI) σε πρωτεΐνη. Αντίστοιχα το αγελαδινό γάλα παρέχει 8,1g / κούπα 250 ml ή 16,3% του RDI σε πρωτεΐνη. Η κύρια πρωτεΐνη στο αγελαδινό γάλα είναι η αs1-καζεΐνη η οποία και θεωρείται υπεύθυνη για αλλεργίες που παρουσιάζονται στα βρέφη. Λόγω όμως των πολλών γενετικών παραλλαγών των πρωτεϊνών γάλακτος (καζεϊνών, και πρωτεϊνών του ορού) είναι δύσκολο να προσδιορισθεί ποιά ακριβώς πρωτεΐνη είναι υπεύθυνη για την αλλεργική αντίδραση.

Χαρακτηριστικό του αίγιου γάλακτος είναι η πολύ μικρή περιεκτικότητά του σε αs1-καζεΐνη, γεγονός στο οποίο αποδίδεται από πολλούς ερευνητές και η υποαλλεργική του ιδιότητα. Η υποαλλεργική ιδιότητα του αίγιου γάλακτος έχει μελετηθεί αρκετά και πολλές ερευνητικές εργασίες ανέδειξαν τις θεραπευτικές δράσεις του, υποστηρίζοντας ότι αυτό διαθέτει κάποια ευεργετικά για το μεταβολισμό συστατικά, λόγω και των οποίων έχει χρησιμοποιηθεί και σαν υποκατάστατο του αγελαδινού γάλακτος (Park 1999; Haenlein 2004; Park and Haenlein 2006; Gobberti *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2009). Επιπλέον η χαμηλή περιεκτικότητά του σε αs1-καζεΐνη ευνοεί το σχηματισμό πιο μαλακού και “εύθραυστου” πηγματος κατά την πήξη του γάλακτος. Κατά συνέπεια, αυτό το πηγμα διασπάται πιο γρήγορα από τα ένζυμα του στομάχου (πρωτεάσες), αποκτώντας καλύτερη πεπτικότητα.

Είναι σημαντικό επίσης να τονισθεί ότι οι πρωτεΐνες του αίγιου γάλακτος αποτελούν πηγή βιονεργών πεπτιδίων, τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερο διατροφικό αλλά και κλινικό ενδιαφέρον γιατί επιδρούν θετικά στη λειτουργία των κύριων συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού (ανοσοποιητικό, γαστρεντερικό, νευρικό, καρδιαγγειακό).

Άλατα και μέταλλα του αίγειου γάλακτος

Η συγκέντρωση των αλάτων ασβεστίου (Ca), φωσφόρου (P), μαγνησίου (Mg) και χλωρίου (Cl), είναι μεγαλύτερη στο αίγειο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό και το μητρικό. Το ασβέστιο που περιέχεται στο αίγειο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα συμβάλλει στη διατήρηση της υγείας των οστών, αλλά και σε διάφορες μεταβολικές διεργασίες του οργανισμού, όπως η ρύθμιση της υπέρτασης και καταπολέμησης του μεταβολικού συνδρόμου κ.α. Επίσης αποτελεί μια καλή πηγή καλίου, ένα βασικό μεταλλικό στοιχείο για τη διατήρηση της φυσιολογικής αρτηριακής πίεσης και της καλής καρδιακής λειτουργίας.

Λίπος του αίγειου γάλακτος

Οι διατροφικές ιδιότητες του αίγειου γάλακτος δεν οφείλονται μόνο στις πρωτεΐνες ή στα ανόργανα στοιχεία του, αλλά στη δομή και στη σύσταση του λίπους του γάλακτος (προφίλ λιπαρών οξέων). Στα τελευταία εντοπίζονται και οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ αίγειου και αγελαδινού γάλακτος (Zervas and Tsiplakou, 2013).

Το ποσοστό των λιποσφαιρίων του λίπους του αίγειου γάλακτος με διάμετρο μικρότερη των 3μm είναι μεγαλύτερο συγκρινόμενο με το αγελαδινό γάλα. Το μικρότερο μέγεθος των λιποσφαιρίων καθώς και η έλλειψη αγλουτινίνης από τη μεμβράνη των λιποσφαιρίων, στερεί στο γάλα την ικανότητα φυσικής αποκορύφωσης, με αποτέλεσμα να είναι «φυσικώς» ομογενοποιημένο. Στο μικρό μέγεθος των λιποσφαιρίων, καθώς και στην έλλειψη καροτενίων, οφείλεται και το λευκό χρώμα του. Η μεγάλη σχέση επιφάνειας/όγκου λιποσφαιρίων, όσο και η ομοιόμορφη κατανομή τους προσδίδει στο αίγειο γάλα καλύτερη πεπτικότητα, λόγω της ταχύτερης και αποτελεσματικότερης δράσης των λιπολυτικών ενζύμων. Για το λόγο αυτό συνιστάται να παρέχεται σε άτομα που παρουσιάζουν δυσκολία στην πέψη του αγελαδινού γάλακτος, αλλά και σε βρέφη τα οποία δεν έχουν αναπτύξει πλήρως το πεπτικό τους σύστημα (Jannes, 1990; Park, 1994; Zervas and Tsiplakou, 2011). Στην καλύτερη πεπτικότητα συμβάλλουν επίσης και άλλες ιδιότητες του αίγειου γάλακτος, όπως η μεγάλη ρυθμιστική του ικανότητα.

Οι διαφορές στο προφίλ των λιπαρών οξέων εντοπίζονται κυρίως στα μικρές και μεσαίας αλυσίδας λιπαρά οξέα, τα οποία βρίσκονται σε αυξημένη συγκέντρωση στο αίγειο γάλα. Συγκεκριμένα το λίπος του αίγειου γάλακτος περιέχει 35% λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας (C6:0-C14:0) σε σύγκριση με το λίπος αγελαδινού γάλακτος που ανέρχεται στο 17%. Το ποσοστό των τριών από αυτά: καπροϊκό (C6:0), καπρυλικό (C8:0), καπρικό (C10:0), κυμαίνεται στο 15%, έναντι μόνο 5% των αντιστοίχων του λίπους του αγελαδινού γάλακτος.

Τα λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή του ανθρώπου, λόγω της ταχύτερης διάσπασης των εστέρων των παραπάνω λιπαρών οξέων και έχουν αποτελέσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω των μοναδικών πλεονεκτημάτων τους σε πολλές μεταβολικές ασθένειες των ανθρώπων.

Το καπρικό, καπρυλικό και άλλα μεσαίας αλυσίδας λιπαρά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τη θεραπεία του συνδρόμου κακής απορρόφησης, εντερικών διαταραχών, λόγω της μοναδικής μεταβολικής τους ικανότητας. Είναι προφανές ότι η κατανάλωση αίγειου γάλακτος που περιέχει αυτά τα λιπαρά οξέα εμφανίζει ιδιαίτερο διατροφικό ενδιαφέρον.

Από την άλλη μεριά όμως, τα παραπάνω λιπαρά οξέα συμβάλλουν και στη ιδιαίτερη οσμή και γεύση του αίγειου γάλακτος, η οποία έχει επιπτώσεις στην αποδοχή του ιδιαίτερα από τους νέους καταναλωτές. Η σύνθεση του λίπους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διατροφή των ζώων. Έτσι οι αίγες που τρέφονται σε ελεύθερα βοσκοτόπια δίνουν γάλα με υψηλά ποσοστά C:4, C:6, C:8, C18:1, C18:3 και χαμηλότερα ποσοστά C:10, C:12, C:14, C:16, C18:2 σε σχέση με ζώα που τρέφονται σε μεγάλο βαθμό με συμπυκνωμένες ζωοτροφές.

Σάκχαρα του αίγειου γάλακτος

Η εκατοστιαία ποσότητα της λακτόζης στο αίγειο γάλα είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με το αγελαδινό και πρόβειο γάλα και κυμαίνεται περί το 4,5 % χωρίς αυτό να αποτελεί διαιτητική λύση για άτομα που πάσχουν από δυσανεξία στη λακτόζη (Silanidova *et al.*,2010).

Το αίγειο γάλα, όπως το αγελαδινό γάλα περιέχει λακτόζη, σε ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά όμως. Ως γνωστόν η λακτόζη είναι ικανή να προκαλέσει κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειες σε άτομα που παρουσιάζουν δυσανεξία στη λακτόζη.

Οι ολιγοσακχαρίτες μια ομάδα συστατικών με ιδιαίτερο διατροφικό ενδιαφέρον βρίσκονται σε 10πλάσια ποσότητα στο αίγειο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό. Η δράση τους σχετίζεται με την ενίσχυση της ανάπτυξης των *Bifidobacteria*, που παίζουν σημαντικό ρόλο στη μικροχλωρίδα του εντέρου των νεογνών.

Όσον αφορά τα μικροστοιχεία του αίγειου γάλακτος, αυτό περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε βιταμίνης A, θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, νιασίνη και παντοθενικό οξύ, και μικρότερες σε φολικό οξύ και βιταμίνη B, και μερικά ένζυμα όπως ξανθίνη οξειδάση, αλκαλική φωσφατάση και ριβονουκλεάση συγκρινόμενο με το αγελαδινό. Η χαμηλή συγκέντρωση φολικού οξέος και βιταμίνης B αντιμετωπίζεται με εμπλουτισμό του αίγειου γάλακτος που προορίζεται για ειδικές διατροφικές ανάγκες (π.χ. μικρά παιδιά).

1.3 Λιπαρά οξέα (ΛΟ)

Το λίπος του γάλακτος είναι ένα μίγμα που αποτελείται από 97-98% τριγλυκερίδια και πολύ μικρά ποσά διγλυκεριδίων, μονογλυκεριδίων, φωσφολιπιδίων, χοληστερόλης, λιποειδών και ελεύθερων λιπαρών οξέων. Τα

γλυκερίδια είναι εστέρες της γλυκερίνης με διάφορα λιπαρά οξέα (Ανυφαντάκης 2004).

Ως λιπαρά οξέα ορίζονται οι ενώσεις που στο μόριο τους βρίσκεται μια αλειφατική αλυσίδα, με τουλάχιστον τέσσερα άτομα άνθρακα, τα οποία ανήκουν στην ομάδα των σαπωνοποιήσιμων λιπιδίων. Τα λιπαρά οξέα που έχουν εντοπιστεί σε ζώα, φυτά και μικροοργανισμούς αριθμούνται περί τα τριακόσια (Διαμαντίδης, 2010). Η δομή των λιπαρών οξέων μπορεί να χαρακτηριστεί ως απλή, στο ένα άκρο (Δ-άκρο) της αλυσίδας απαντάται μια καρβοξυλομάδα (COOH) και στο άλλο άκρο (ω-άκρο) υπάρχει μια μεθυλομάδα (CH₃). Τα κυριότερα λιπαρά οξέα των οργανισμών είναι μονοκαρβονικά οξέα με μια μη διακλαδισμένη αλειφατική αλυσίδα μονάδων – CH₂-- , συνήθως με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα (10-24 άτομα άνθρακα) (επειδή στη βιοσύνθεσή τους εμπλέκεται το ακετυλο-CoA, ένα ένζυμο που μεταφέρει μια ομάδα από δυο άτομα άνθρακα) κορεσμένα ή ακόρεστα, με έναν ή περισσότερους διπλούς δεσμούς είτε σε *cis* είτε σε *trans* γεωμετρική ισομέρεια.

Οι φυσικές ιδιότητες των λιπαρών οξέων, καθώς και των εστέρων τους με αλκοόλες, εξαρτώνται από το μέγεθος της αλειφατικής τους αλυσίδας και τον αριθμό των διπλών δεσμών που φέρουν. Ανάλογα με τον αριθμό των ατόμων άνθρακα που αποτελούν την κάθε αλυσίδα, τα λιπαρά οξέα κατατάσσονται σε λιπαρά οξέα μικρής αλύσου, μεσαίας αλύσου και μάκρας αλύσου (Chilliard *et al.*, 2000).

Στα μηρυκαστικά ζώα οι λιπαρές ουσίες του γάλακτος που υπερισχύουν είναι τα λιπαρά οξέα : παλμιτικό (C16:0), ελαϊκό (C18:1), μυριστικό (C14:0) και σε μικρότερη συγκέντρωση το καπρικό (C10:0). Από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, το λινελαϊκό (C18:2) και το λινολενικό (C18:3), έχουν σημαντική θέση στις λιπαρές ουσίες του γάλακτος, αλλά η αναλογία μεταξύ αυτών των οξέων εξαρτάται από τη διατροφή των ζώων (Wertelecki, TJ. And Bodarski, RK.,2003)

Στη συνέχεια στον ακόλουθο πίνακα (2) παρουσιάζεται η μέση εκατοστιαία αναλογία των λιπαρών οξέων (ΛΟ) λίπους γάλακτος (% των ολικών λιπαρών οξέων) στα μηρυκαστικά ζώα.

Λιπαρά Οξέα	Πρόβατα	Αίγες	Αγελάδες
C4:0	4,2	3,1	2,0
C6:0	2,0	3,8	2,2
C8:0	2,0	3,0	1,1
C10:0	6,0	10,1	3,0
C12:0	3,1	6,0	2,7
C14:0	5,5	12,2	9,0
C16:0	16,9	27,2	25,0
C18:0	15,8	27,5	13,8
C18:1	38,8	25,6	33,0
cis-9, trans-11, ΣΛΟ	0,40-2,8	0,24-0,88	0,20-0,60
ΚΛΟ	61	74	70
ΜΑΛΟ	32	21	25
ΠΑΚΛΟ	7	5	5

Πίνακας 2.: Μέση εκατοστιαία αναλογία λιπαρών οξέων (ΛΟ) λίπους γάλακτος (% των ολικών λιπαρών οξέων) μηρυκαστικών ζώων (Tsiplakou and Zervas, 2008)

1.3.1 Κορεσμένα και Ακόρεστα Λιπαρά Οξέα

Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα (ΚΛΟ) και ακόρεστα (ΑΚΛΟ). Το βασικό χαρακτηριστικό των ΚΛΟ είναι ότι δεν παρουσιάζουν κανένα διπλό δεσμό στην ανθρακική τους αλυσίδα. Τα ΚΛΟ που είναι παρόντα σε σημαντικές ποσότητες στο λίπος του γάλακτος είναι μόρια με μη κυκλικές αλυσίδες υδρογονανθράκων, οι οποίες ποικίλλουν σε μήκος από 4 έως 18 άτομα άνθρακα. Αυτά τα ΛΟ αποτελούν περίπου το 70-75% των συνολικών λιπαρών οξέων.

Το σημαντικότερο λιπαρό οξύ από ποσοτική άποψη είναι το παλμιτικό οξύ (C16:0) που αποτελεί περίπου το 25-30% των συνολικών λιπαρών οξέων, ενώ το μυριστικό (C14:0) και το στεατικό (C18:0) αποτελούν περίπου το 10-13% των συνολικών οξέων (MacGibbon, A.H.K., Taylor, M.W., 2006). Από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, περίπου το 11% είναι μικρής αλυσού (short-chain) λιπαρά οξέα (C:40-C10:0). Η συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος και καπροϊκού οξέος αποτελούν το 2-5% και 1-5% των συνολικών λιπαρών οξέων αντίστοιχα (MacGibbon, A.H.K., Taylor, M.W., 2006).

Λιπαρά Οξέα	(wt%)
Βουτυρικό C4:0	2-5
Καπροϊκό C6:0	1-5
Καπρυλικό C8:0	1-3
Καπρικό C10:0	2-4
Λαουρικό C12:0	2-5
Μυριστικό C14:0	8-14
Πενταδεκανοϊκό C15:0	1-2
Παλμιτικό C16:0	22-35

Πίνακας 3.: Κυριότερα κορεσμένα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος. (Kaylegian-Lindsay,1995)

Ο βιολογικός ρόλος των λιπαρών οξέων είναι διπλός: αυτά συμμετέχουν με τη μορφή των φωσφολιπιδίων και των γλυκολιπιδίων στη δομή των μεμβρανών και με τη μορφή των τριακυλογλυκερολών τους επιτρέπουν στο κύτταρο να αποθηκεύει την περίσσεια της παραγόμενης μεταβολικής τους ενέργειας και την περίσσεια των ατόμων άνθρακα. Ένα από αυτά το αραχιδονικό οξύ, χρησιμοποιείται ταυτόχρονα από τους ζωϊκούς οργανισμούς ως πρώτη ύλη για την παραγωγή των τοπικών ορμονών. Λιπαρά οξέα με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα (4-10 άτομα άνθρακα) απαντούν σε ικανοποιητικές ποσότητες στα λιπίδια του γάλακτος σχεδόν όλων των θηλαστικών. Λιπίδια με 12-14 άτομα άνθρακα (το λαυρικό και το μυριστικό οξύ αντίστοιχα) απαντούν κυρίως σε φυτικά έλαια, όπως, για παράδειγμα, το γάλα της καρύδας.

Το παλμιτικό οξύ (C16:0) είναι το κυριότερο κορεσμένο λιπαρό οξύ των φυτικών ελαίων, απαντά όμως σε αυτά σε μικρές ποσότητες, ενώ το οξύ αυτό απαντά σε μεγαλύτερες ποσότητες στα ζωϊκά λίπη. Το στεατικό (C18:0) είναι το κυριότερο κορεσμένο λιπαρό οξύ των λιπών των μηρυκαστικών ζώων, ενώ απαντά σε μερικές ποσότητες στο λίπος του χοίρου, των πτηνών, των ψαριών και στα φυτικά έλαια.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα έχουν συσχετισθεί με χρόνιες ασθένειες όπως καρδιοπάθειες, διάφορες μορφές διαβήτη κ.ά. (Willians, 2000). Επιπρόσθετα, αναφέρεται ότι το γάλα αλλά και τα γαλακτοκομικά προϊόντα αντιπροσωπεύουν περίπου το 25-60% των συνολικών ΚΛΟ που καταναλώνεται στον Ευρωπαϊκό χώρο (Givens and Shingifield, 2006; Chilliard *et al.*,2007). Αποτελέσματα ερευνών αποδεικνύουν ότι η υπέρμετρη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων, κυρίως C₁₂-C₁₆ έχει ως συνέπεια την αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα του ανθρώπου (Chilliard and Ferlay, 2004).

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι παρόμοιας μορφής, εκτός από ότι μια ή περισσότερες αλκενυλικές λειτουργικές ομάδες υπάρχουν κατά μήκος της

ανθρακικής αλυσίδας, με το κάθε αλκένιο να αντικαθιστά τον απλό δεσμό του «CH₂-CH₂» με διπλό δεσμό σε «-CH=CH-». Τα επόμενα δύο άτομα του άνθρακα εκατέρωθεν των συνδεδεμένων με διπλό δεσμό ατόμων άνθρακα στην αλυσίδα μπορούν να εμφανιστούν με γεωμετρική ισομέρεια *cis* ή *trans*. Διακρίνονται σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν έναν διπλό δεσμό ανθράκων στην αλυσίδα, με όλους τους άλλους άνθρακες να είναι απλά συνδεδεμένοι. Μερικά από τα κυριότερα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα είναι το παλμιτελαϊκό οξύ (16:1n7) και το ελαϊκό οξύ (18:1n9). Απεναντίας με τα μονοακόρεστα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν περισσότερους από έναν διπλούς δεσμούς ανθράκων στην αλυσίδα τους.

Περίπου το 25% των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος είναι μονοακόρεστα, όπου το ελαϊκό οξύ αποτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό των συνολικών ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα ΠΑΚΛΟ αποτελούν περίπου το 2-4% των συνολικών ΛΟ. Τα κυριότερα ΠΑΚΛΟ είναι το λινελαϊκό (18:2n6c), το α-λινολενικό (18:3n3) και το αραχιδονικό (20:4n6) (Διαμαντίδης, 1994). Το α-λινολενικό οξύ χρησιμοποιείται για την σύνθεση των οξέων της ομάδας ω6, μεταξύ των οποίων το γ-λινολενικό οξύ και το αραχιδονικό οξύ. Το τελευταίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται μεταξύ άλλων για τη σύνθεση των εικοσανοειδών, μορίων με φλεγμονώδη και θρομβωτική δράση. Το αραχιδονικό οξύ επειδή δύναται να σχηματιστεί από το λινελαϊκό οξύ δεν θεωρείται πάντοτε απαραίτητο (Ζέρβας, 2005). Το λινελαϊκό χρησιμοποιείται για την παραγωγή οξέων της ομάδας ω3, μεταξύ των οποίων το εικοσαπενταενοϊκό (EPA) και το εικοσιδιεξανοϊκό οξύ (DHA). Τα δύο τελευταία θεωρούνται απαραίτητα για την καλή λειτουργία της καρδιάς (Simopoulos, 2002; Lock, 2004). Τα πλέον κοινά ΚΛΟ και ΑΚΛΟ είναι το παλμιτικό και το ελαϊκό οξύ αντίστοιχα (Ζέρβας, 2005).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η αλόγιστη κατανάλωση *trans* λιπαρών οξέων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών προβλημάτων και διαφόρων μορφών διαβήτη (Mozaffarian *et al.*, 2006). Κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι τα *trans* ΛΟ σχετικά με τα *cis* ΛΟ μπορούν να αυξήσουν την LDL χοληστερόλη και να μειώσουν την HDL χοληστερόλη, προκαλώντας δυσμενές αποτέλεσμα στον λόγο LDL: HDL (Mensink and Katan, 1993). Επίσης, σπουδαία σημασίας για την ανθρώπινη υγεία αποτελεί η αναλογία μεταξύ ω-3 και ω-6 ΠΑΚΛΟ. Η ιδανική σχέση μεταξύ ω-3/ω-6 = 1: (1-5) (Simopoulos, 2002) και η διατήρησή της έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων έως και 70% (Simopoulos, 2002; Arab, 2003).

Τέλος, στόχος πολλών ερευνητικών μελετών που σχετίζονται με την διατροφή των αγροτικών ζώων, αποτελεί η αλλαγή του λόγου των ω-3/ω-6 ΛΟ με σκοπό την προσέγγιση της ιδανικής σχέσης, καθώς τα παραγόμενα προϊόντα των μηρυκαστικών αποτελούν κύριες πηγές ΛΟ για τον άνθρωπο (Chilliard *et al.*, 2000).

1.3.2 Βιοσύνθεση του λίπους του γάλακτος

Το λίπος του αίγιου γάλακτος συντίθεται είτε από λιπαρά οξέα που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος (περίπου 60%) είτε *de novo* στο μαστικό αδέν (περίπου 40%). Η βασική πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση των λιπαρών οξέων είναι το ακετυλο-συνένζυμο Α. Στα μηρυκαστικά, αυτή η πρόδρομη ένωση προέρχεται από το οξικό και το β- υδροξυβουτυρικό οξύ, τα οποία παράγονται κατά τη ζύμωση των υδατανθράκων από τη μικροχλωρίδα του πεπτικού τους συστήματος. Στο μαστικό αδέν των γαλακτοπαραγωγικών ζώων η ενδογενής σύνθεση των λιπαρών οξέων (μικρής και μεσαίας αλύσου) του λίπους του γάλακτος προϋποθέτει την απαραίτητη δράση δύο ενζύμων: της καρβοξυλάσης του ακετύλου συνενζύμου Α και της συνθετάσης των λιπαρών οξέων ενώ, στην παραλαβή των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων από την κυκλοφορία του αίματος και τη μεταφορά τους στο μαστικό αδέν εμπλέκεται το ένζυμο λιποπρωτεϊνική λιπάση. Στη συνέχεια, στο μαστικό αδέν τα λιπαρά οξέα (μεσαίας και μακράς αλύσου), με τη δράση του ενζύμου της Δ⁹ αφυδρογονάσης, μετασχηματίζονται σε *cis*-9 ακόρεστα λιπαρά οξέα.

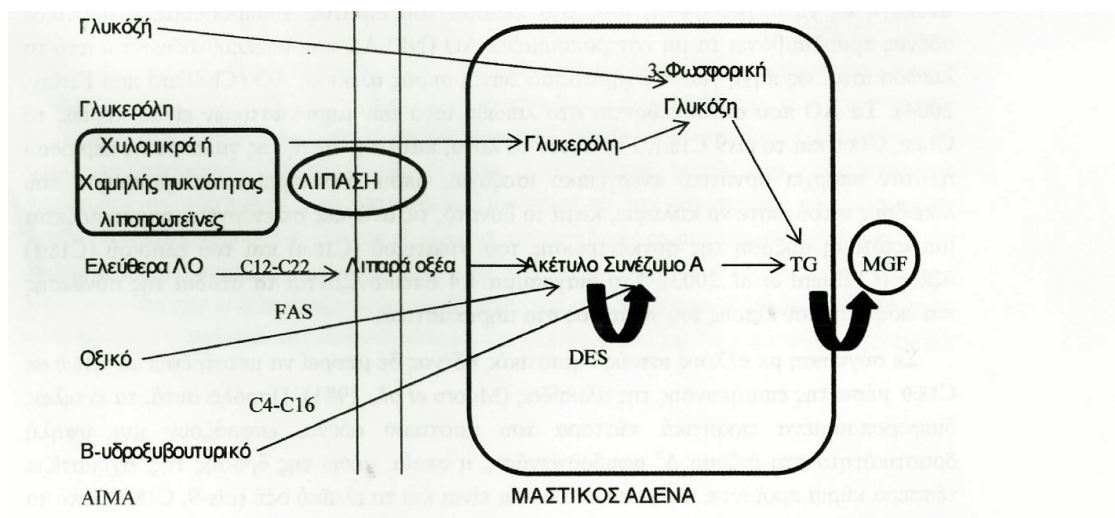
Όλα τα ΛΟ C4:0 μέχρι και C12:0, τα περισσότερα από τα ΛΟ C14:0 (περίπου 95%) και περίπου το 50% των ΛΟ C16:0 συντίθενται *de novo* στο μαστικό αδέν, ενώ όλα τα ΛΟ C18 και με μεγαλύτερη αλυσίδα προέρχονται εξ' ολοκλήρου από τα λιπίδια που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος (Lock & Shingfield, 2004). Τα οποία παραλαμβάνονται στο μαστό από τα λιπίδια του αίματος (χυλομικρά, ελεύθερα τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα), τα οποία με τη σειρά τους προέρχονται από τα λιπίδια των ζωοτροφών.

Είναι αξιοσημείωτο ότι, εξαιτίας του χαμηλού οξειδωαναγωγικού δυναμικού που επικρατεί στη μεγάλη κοιλία, τα ΠΑΚΛΟ της τροφής υφίστανται εκτεταμένη υδρογόνωση με αποτέλεσμα να απορροφώνται από το έντερο ως κορεσμένα. Τα λιπίδια του αίματος που παραλαμβάνονται από το μαστό, μπορούν να υποστούν μετατροπές με τη δράση του ενζύμου Δ⁹ αφυδρογονάσης. Αποτέλεσμα της δράσης αυτής είναι η μετατροπή μέρους του στεατικού οξέος (C18:0) σε ελαϊκό (C18:1) και σε πολύ μικρότερο βαθμό μετατροπής του παλμιτικού οξέος (C16:0) σε παλμιτελαϊκό (C16:1). Εξαιτίας αυτών των μετατροπών, το λίπος του γάλακτος μπορεί να διατηρείται σε υγρή κατάσταση στο μαστό. Τα ΠΑΚΛΟ λινελαϊκό και λινολενικό προέρχονται αποκλειστικά από την τροφή και δεν μπορούν να προκύψουν από μετατροπές και αλλαγές που συμβαίνουν στο μαστό.

Στην κύρια μεταβολική οδό της *de novo* σύνθεσης συμμετέχουν δύο ένζυμα, η καρβοξυλάση του ακετυλο-συνενζύμου Α (ACC) και η συνθετάση των λιπαρών οξέων (FAS). Η ACC καταλύει το σχηματισμό του μαλονύλο-ακετύλου συνενζύμου Α από το οξικό οξύ και η συνθετάση καταλύει τους κύκλους συμπύκνωσης του μαλονύλο-ακετύλου συνενζύμου Α είτε με το ακετυλο συνένζυμο Α είτε με το

βούτυλο-ακέτυλο συνένζυμο Α, τα οποία προέρχονται από το μεταβολισμό του οξικού οξέος ή του β-υδροξυβουτυρικού οξέος αντίστοιχα (Barber *et al.*, 1997).

Τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένου περιέχουν το σύμπλοκο της Δ⁹ αφυδρογονάσης, το οποίο είναι υπεύθυνο για την κατάλυση της οξείδωσης των εστέρων του ακυλο-συνενζύμου Α, η οποία οδηγεί στην εισαγωγή ενός *cis* διπλού δεσμού μεταξύ του 9^{ου} και 10^{ου} ατόμου άνθρακα. Υποστρώματα δράσης της Δ⁹ αφυδρογονάσης για το σχηματισμό των παλμιτοελαϊκού συνενζύμου Α και ελαϊκού-συνενζύμου Α είναι το παλμιτο-συνένζυμο Α και το στεατο-συνένζυμο Α αντίστοιχα (Palmquist *et al.*, 2005). Η δραστηριοποίηση της Δ⁹ αφυδρογονάσης στο μαστικό αδένου των μηρυκαστικών λειτουργεί ως μηχανισμός διατήρησης και ρύθμισης της ρευστότητας του γάλακτος με σκοπό την ικανοποιητική έκκρισή του από το μαστικό αδένου. Μέσω της δράσης της Δ⁹ αφυδρογονάσης σχηματίζονται 4 κύρια προϊόντα, ανάμεσα στα οποία είναι το ελαϊκό οξύ (*cis*-9, C18:1), από το στεατικό οξύ, συμβάλλοντας, στο σχηματισμό του ελαϊκού οξέος πέραν του 50% του συνόλου (Bickerstaffe *et al.*, 1974; Enjalbert *et al.*, 1998). Στη συνέχεια το 30% του βασενικού οξέος (*trans*-11, C18:1) που προέρχεται από τη μεγάλη κοιλία, μπορεί να μετατραπεί με τη δράση της Δ⁹ αφυδρογονάσης, σε συζευγμένο λινελαϊκό οξύ (*cis*-9, *trans*-11 C18:2), που είναι το κυριότερο ισομερές του ΣΛΟ του γάλακτος (Grinari *et al.*, 1999; Looor *et al.*, 2002; Chilliard *et al.*, 2003).



Διάγραμμα: Σύνθεση και έκκριση του λίπους του γάλακτος στα μηρυκαστικά (Chilliard *et al.*, 2000).

TG: τριγλυκερίδια, MGF: μόριο λίπους γάλακτος, DES: Δ⁹ αφυδρογονάση, ACC: καρβοξυλάση CoA, FAS: συνθετάση των λιπαρών οξέων.

1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν το προφίλ των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το προφίλ των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος διακρίνονται σε δύο κατηγορίες α) διατροφικούς παράγοντες και β) παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο, οι οποίοι χωρίζονται σε γενετικούς (είδος, φυλή, ατομικότητα) και φυσιολογικούς (ηλικία, στάδιο γαλακτοπαραγωγής, πολυδυμία).

1.4.1 Παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο

1.4.1.1 Είδος του ζώου

Σύμφωνα με τους Zervas and Tsiplakou, (2011), Chilliard *et al.*,(2003), Park *et al.*, (2007) το είδος του ζώου αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει τη σύνθεση των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος καθώς έχει παρατηρηθεί πως η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων καπροϊκού, καπρυλικού και καπρινικού είναι υψηλότερη στο γάλα των αιγοπροβάτων σε σύγκριση με το αγελαδινό γάλα. Επιπλέον, σε μελέτη των Ceballos *et al.*, (2009) διαπιστώθηκε πως η συγκέντρωση ΛΟ C₆-C₁₆ είναι υψηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη του αγελαδινού γάλακτος. Παραλλακτικότητα όμως εμφανίζεται και στη συγκέντρωση CLA μεταξύ προβάτων και αιγών που διατρέφονταν αποκλειστικά με βοσκή με βάση την μελέτη των Tsiplakou *et al.*, (2006a), όπου είναι υψηλότερη στο πρόβειο γάλα. Παράλληλα, σε διαφορετικά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν από τους Tsiplakou and Zervas,(2008) εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση των λιπαρών οξέων (*cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} και *trans*-11 C_{18:1}) μεταξύ πρόβειου και αίγιου γάλακτος, όπου είχαν χορηγηθεί στα ζώα ελαιόφυλλα και στέμφυλλα οينوποιίας. Επομένως σύμφωνα με τις παραπάνω μελέτες ενισχύεται η υπόθεση της ύπαρξης διαφορών μεταξύ των διαφόρων ειδών ζώων.

1.4.1.2 Φυλή του ζώου

Όσον αφορά τον παράγοντα της φυλής του ζώου αν επηρεάζει το προφίλ των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος οι απόψεις δίστανται. Σύμφωνα με τους Tsiplakou *et al.*, (2006) δεν εντοπίστηκε κάποια σημαντική διαφορά στη σύσταση του *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} (CLA) ανάμεσα σε τέσσερις διαφορετικές φυλές προβάτων (Χίου, Awassi, Lacaune και Friesland). Απεναντίας σε μελέτη των Talpur *et al.*, (2008) παρουσιάστηκε σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση του *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} (CLA) και των ΜΑΚΛΟ καθώς και των ΚΛΟ μεταξύ των δύο διαφορετικών φυλών αιγών (Pateri, Kamori) όπου στα ζώα χορηγούνταν το ίδιο σιτηρέσιο. Στη συγκέντρωση των ΠΑΚΛΟ δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική διαφορά. Επιπλέον

οι Signorelli *et al.*, (2008) επισήμαναν ότι δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των φυλών για τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ για τα μονοακόρεστα υπάρχει. Από την άλλη πλευρά οι Reklewska *et al.*, (2005), Kelseyetal (2003) και White *et al.*, (2001) σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε φυλές αγελάδων που διατρέφονταν με συγκεκριμένο σιτηρέσιο, υποστηρίζουν ότι υπήρχαν διαφορές στην παραγωγή του CLA μεταξύ των φυλών. Εν κατακλείδι συμπεραίνεται ότι η φυλή μπορεί να επηρεάζει τη παραγωγή του CLA στο γάλα αλλά σε πολύ μικρό βαθμό, σύμφωνα με τις μέχρι τώρα έρευνες.

1.4.1.3 Στάδιο γαλακτικής περιόδου

Σύμφωνα με τους Signorelli *et al.*, (2008) σε ότι αφορά τα αιγοπρόβατα διαπιστώνεται ότι η συγκέντρωση, τόσο των ΠΑΚΛΟ όσο και των ΜΑΚΛΟ, ήταν υψηλότερη στο τέλος της γαλακτικής περιόδου, σε αντίθεση με εκείνη των ΚΛΟ, σε σχέση με τη συγκέντρωσή τους στην αρχή της γαλακτικής περιόδου. Η αυξημένη συγκέντρωση των λιπαρών οξέων παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ στο λίπος του γάλακτος στην αρχή της γαλακτικής περιόδου οφείλεται στο γεγονός ότι ο λιπώδης ιστός είναι πλούσιος στα συγκεκριμένα ΛΟ (Bas *et al.*,1987). Όσον αφορά το βασενικό οξύ και το CLA παρουσιάζουν χαμηλότερη συγκέντρωση στην αρχή της γαλακτικής περιόδου που αυξάνεται παροδικά κατά τα μετέπειτα στάδια της γαλακτικής περιόδου (Samkova, 2008; Mele *et al.*, 2007; Kay *et al.*, 2005; Barlowska *et al.*, 2005; Secchiari *et al.*, 2003). Επιπρόσθετα σύμφωνα με τους Tsiplakou *et al.*,(2006) η διακύμανση του CLA στο λίπος του πρόβειου γάλακτος δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά κατά τις φάσεις της γαλακτικής περιόδου. Μελέτες που αφορούν αγελάδες παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης κατά την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου σε λιπαρά οξέα μικρής και μεσαίας αλύσου, ενώ τα προσχηματισμένα ΛΟ να παρουσιάζουν μείωση (Garsworthy *et al.*, 2006; Kay *et al.*, 2005; Komprda *et al.*, 2005; Secchiari *et al.*, 2003; Palmquist *et al.*, 1993). Τέλος οι Impemba *et al.*, (2005) ισχυρίζονται ότι το στάδιο της γαλακτικής περιόδου δεν επηρεάζει σημαντικά το προφίλ των λιπαρών οξέων του αίγιου γάλακτος.

1.4.1.4 Ηλικία, αριθμός γαλακτικής περιόδου και πολυδυμία

Σύμφωνα με τις περισσότερες έρευνες Tsiplakou *et al.*, (2006b), Kelsey *et al.*, (2003), Barbosa *et al.*, (2003), δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντικός συσχετισμός μεταξύ πολυδυμίας και παραγωγής λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος.

Ο παράγοντας του αριθμού της γαλακτικής περιόδου και κατ' επέκτασιν η ηλικία σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν κυρίως σε αγελάδες επηρεάζουν οριακά την σύνθεση των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος (Samkova *et al.*,

2012; Samkova, 2008; Granix *et al.*, 2008; Kelsey *et al.*, 2003). Σε αντίθεση με τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε αγελάδες, έρευνα που έγινε σε πρόβατα από τους Tsiplakou *et al.*, (2006b) διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει διαφορά ως προς την συγκέντρωση του CLA ανάμεσα σε ζώα που βρισκόταν σε διαφορετικό αριθμό γαλακτικών περιόδων. Σύμφωνα με τους Granix *et al.*, (2008) και Samkova *et al.*, (2012) η συγκέντρωση των ΑΚΛΟ και των ΚΛΟ είναι υψηλότερη και χαμηλότερη αντίστοιχα σε πρωτόγεννες αγελάδες σε σύγκριση με αγελάδες που δεν είναι στην πρώτη γαλακτική περίοδο. Με βάση τους Bradford and Allen (2004) οι διαφορές που παρουσιάζονται ως προς το προφίλ των ΛΟ μπορεί να οφείλεται τόσο στην αλλαγή του επιπέδου της γαλακτοπαραγωγής όσο και στην αλλαγή της σύστασης του λίπους του γάλακτος, μεταξύ των γαλακτικών περιόδων. Ωστόσο, οι Miller *et al.*, (2006) συσχετίζουν αυτή τη διαφορά με την περιεκτικότητα της συνθέσεως των ΛΟ στο μαστικό αδέν, η οποία είναι σε χαμηλά επίπεδα κατά την πρώτη φάση της γαλακτικής περιόδου στις πρωτόγεννες αγελάδες και στη συνέχεια αυξάνεται σταδιακά.

1.4.1.5 Ατομικότητα

Υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών για την επίδραση της ατομικότητας του κάθε ζώου στη παραγωγή των λιπαρών οξέων. Ωστόσο σύμφωνα με τους Tsiplakou *et al.*, (2006a, 2006b) μελετήθηκε η ύπαρξη παραλλακτικότητας του CLA του λίπους του γάλακτος σε ποιμνία αιγοπροβάτων που διατηρούνταν είτε στη βοσκή είτε ενσταβλισμένα, και διαπιστώθηκε ότι το CLA μπορεί να πάρει ακόμα και τριπλάσια τιμή από τη χαμηλότερη που καταγράφεται εντός των ζώων που σταβλίζονταν. Σύμφωνα με την άποψη αυτή, είναι και οι Kelsey *et al.*, (2003) και Kelly *et al.*, (1998a, 1998b). Πιθανόν οι διαφορές αυτές, μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική ενεργότητα του ενζύμου αφυδρογονάση, στην ηλικία των ζώων, στο διαφορετικό μεταβολισμό εντός της μεγάλης κοιλίας ή ακόμα και άλλους άγνωστους παράγοντες (Dhiman *et al.*, 2005).

1.4.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι κυριότεροι διατροφικοί παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν το προφίλ των λιπαρών οξέων είναι: η βοσκή, ο λόγος ΧΖ/ΣΖ, η προσθήκη ελαίων και ελαιούχων σπερμάτων.

1.4.2.1 ΒΟΣΚΗ

Η διαχείριση των βοσκοτόπων φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το προφίλ των ΛΟ των προϊόντων που έχουν συνδεθεί με αυτά (Martin *et al.*, 1999; Tsiplakou

and Zervas, 2008). Η βοσκή είναι πλούσια σε λινολενικό οξύ ($C_{18:3}$, *cis-9*, *cis-12*, *cis-15*), ενώ η διαφορετική βοτανική της σύνθεση ή το διαφορετικό βλαστικό στάδιο του φυτού, επηρεάζει την αναλογία των ΛΟ του λίπους του γάλακτος. Καθώς κατά το νεαρό στάδιο βλάστησης το ποσοστό του λινολενικού οξέος ανέρχεται 40% των ολικών λιπαρών οξέων ενώ στο ώριμο στάδιο βλάστησης μειώνεται σημαντικά. Η εποχική διακύμανση της συγκέντρωσης του CLA στο λίπος του γάλακτος των προβατινών (Nuda *et al.*, 2005a; Mangia *et al.*, 2007) και των αγελάδων (Ward *et al.*, 2003; Kat *et al.*, 2004) των οποίων η διατροφή βασίζεται στην ελεύθερη βόσκηση, οφείλεται στη μείωση της περιεκτικότητας των φυτών σε λινολενικό οξύ κατά την ωριμάνσή τους. Στη συνέχεια, έχει παρατηρηθεί ότι βοσκή με χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατοδιαλυτούς υδατάνθρακες και υψηλή συγκέντρωση σε ολικές λιπαρές ουσίες και ολικές αζωτούχες ουσίες, επηρέασε θετικά τη σύσταση του λίπους του γάλακτος. Σύμφωνα με τους Chilliard *et al.*, (2007), όσο αυξάνεται η κατανάλωση της χλωράς νομής, υπάρχει γραμμική αύξηση σε $C_{18:3\omega-3}$, *trans-11* $C_{18:1}$ και *cis-9*, *trans-11* $C_{18:2}$ (CLA) και μείωση των $C_{10:0}$ - $C_{16:0}$. Ακόμη σε μελέτη των Rouel *et al.*, (2003) συγκρίνοντας δυο ομάδες αιγών, όπου η μια διατρέφονταν με βοσκήσιμη ύλη σίκαλης και η άλλη δεν διατρέφονταν με βοσκή δεν παρατηρήθηκε διαφορά ως προς τα $C_{18:3\omega-3}$ και *cis-9*, *trans-11* $C_{18:2}$ ενώ υπήρξε αύξηση ως προς το *cis-9* $C_{18:1}$ στην ομάδα των αιγών που έβοσκαν χλωρή σίκαλη. Τέλος, οι Tsirakou *et al.*, (2006a) εξετάζοντας τις διαφορές στο προφίλ των ΛΟ του γάλακτος μεταξύ αιγών και προβάτων των οποίων η διατροφή κατά τη διάρκεια του χειμώνα στηριζόταν σε μεγάλο βαθμό στις ΣΖ, ενώ κατά την διάρκεια της άνοιξης στη βοσκή συμπεράναν, μία σημαντική αύξηση του ΣΛΟ του λίπους του γάλακτος και στα δύο είδη ζώων όταν διατρέφονταν αποκλειστικά με βοσκή. Επίσης, η συγκέντρωση του CLA παρατηρήθηκε ότι ήταν υψηλότερη σε σχέση και με τα ζώα που κατανάλωναν την ίδια περίοδο περισσότερες ΣΖ.

1.4.2.2 Αναλογία χονδροειδών προς συμπυκνωμένες ζωοτροφές του σιτηρέσιου

Σύμφωνα με την μελέτη των Tsiplakou and Zervas, (2008) η αναλογία ΧΖ/ΣΖ στο σιτηρέσιο των αιγών επηρεάζει την σύνθεση των λιπαρών οξέων του γάλακτος. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε το προφίλ των ΛΟ του γάλακτος αιγών που διατρέφονταν με διαφορετική αναλογία ΧΖ/ΣΖ και ίδιας σύνθεσης σιτηρέσια. Στο ένα σιτηρέσιο η αναλογία ήταν 43:57 και στο άλλο 56:44. Στο σιτηρέσιο όπου το ποσοστό των ΧΖ ήταν μεγαλύτερο των ΣΖ εντοπίστηκε μείωση στη συγκέντρωση $C_{14:0}$ και στο σύνολο των ΚΛΟ, ενώ παρουσιάστηκε αύξηση $C_{18:0}$, *cis-9*, *trans-11* $C_{18:2}$ (CLA) και $C_{18:3\omega-3}$.

Επιπρόσθετα σε πείραμα αιγών όπου πραγματοποιήθηκε αύξηση στη χορήγηση των ΣΖ από 32-33% σε 56-67% παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των $C_{10:0}$ - $C_{14:0}$, $C_{18:2\omega-6}$, *trans-11* $C_{18:1}$, *cis-9*, *trans-11* $C_{18:2}$ (CLA), καθώς και των άλλων *trans* ΛΟ ενώ μειώθηκε η συγκέντρωση των $C_{16:0}$, $C_{18:3\omega-3}$ και της σχέσης

18:3_{ω-3} /18:2_{ω-6} (Chilliard and Ferlay, 2004). Σύμφωνα, με τα παραπάνω αποτελέσματα είναι και οι Ledoux *et al.*, (2002) και Andrade *et al.*, 2006 όπου σύγκριναν δυο διαφορετικά επίπεδα ΧΖ στο σιτηρέσιο αιγών.

Επομένως συμπεραίνεται ότι η αύξηση των ΣΖ στο σιτηρέσιο των ζώων σύμφωνα με τους Chilliard *et al.*, (2007) τείνει να αυξήσει τη συγκέντρωση των C_{18:2ω-6}, όσο και τη δράση της *de novo* σύνθεσης των ΛΟ του γάλακτος καθώς και των *trans* C_{18:1} ισομερών, εις βάρος των C_{18:3ω-3}, *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} (ΣΛΟ).

1.4.2.3 Προσθήκη ελαίων και ελαιούχων σπερμάτων

Η τροποποίηση της εκατοστιαίας αναλογίας των ΛΟ του λίπους του γάλακτος προς την εκάστοτε επιθυμητή κατεύθυνση μπορεί να επιτευχθεί με την ρύθμιση της ποιοτικής και ποσοτικής συμμετοχής των ελαίων, σε προστατευμένη πάντοτε μορφή, στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών ζώων. Πρέπει όμως να τονιστεί ότι η υπερβολική αύξηση των ΠΑΚΛΟ μέσω του σιτηρεσίου μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις τόσο στη ποιότητα του γάλακτος όσο και στην υγεία του ζώου (οξειδωτικό stress).

Η προσθήκη ελαίων σε προστατευμένη μορφή στο σιτηρέσιο των μηρυκαστικών ζώων επέφερε μείωση των ΚΛΟ και αύξηση των ΑΚΛΟ και των *trans* μονοακόρεστων ΛΟ χωρίς να διαφέρει ουσιαστικά η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος στην ομάδα της επέμβασης που έγινε προσθήκη με προστατευμένη μορφή σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα που δεν ήταν προστατευμένη.

Επιπρόσθετα, τα έλαια του σιτηρεσίου μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση λίπους του γάλακτος με πολλούς τρόπους όπως αναφέρουν οι Thomas and Martin (1988). Εάν η προσθήκη ελαίου στο σιτηρέσιο επηρεάσει την πέψη των ινωδών ουσιών στη μεγάλη κοιλία, η παραγωγή του οξικού και βουτυρικού θα μειωθεί και η έλλειψη των πρόδρομων ενώσεων στο μαστικό αδέν, πιθανώς να οδηγήσει σε μείωση της *de novo* σύνθεσης του λίπους του γάλακτος. Από την άλλη πλευρά τα πλεονάζοντα λίπη ίσως αυξήσουν την ποσότητα των λιπαρών οξέων που είναι διαθέσιμα από την απορρόφηση και την έκκριση στο γάλα.

Έχει παρατηρηθεί ότι τα μακράς αλυσού λιπαρά οξέα μειώνουν την *de novo* σύνθεση των λιπαρών οξέων στο μαστικό αδέν, ακόμα και όταν το ζώο διατρέφεται με *by pass* λίπη ώστε να μην επηρεάζεται η ζύμωση εντός της μεγάλης κοιλίας. Σε πολλές περιπτώσεις όταν αυξάνεται η είσοδος των λιπών του σιτηρεσίου η αναλογία των C₄₋₁₆ λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος θα μειωθεί και η αναλογία των λιπαρών οξέων μεγαλύτερης αλυσίδας θα αυξηθεί. Η ολική απόδοση εξαρτάται κάθε φορά από τη σημασία των επιδράσεων ορισμένων γεγονότων στη πορεία σύνθεσης

και απορρόφησης η οποία με τη σειρά της επηρεάζεται από το βαθμό προστασίας και κορεσμού (Thomas & Chamberlain, 1984).

Τα λίπη, τα έλαια και οι ελαιούχοι καρποί διαφέρουν ως προς τη σύσταση τους σε λιπαρά οξέα. Για το λόγο είναι αναμενόμενο να έχουν διαφορετική επίδραση στην περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος. Έλαια και ελαιούχοι καρποί που είναι πλούσιοι σε λινελαϊκό οξύ, δρουν αποτελεσματικά στο να αυξάνουν την περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος σε CLA (Dhiman *et al.*, 2000; Ward *et al.*, 2003; Whitlock *et al.*, 2003). Έλαια ή καρποί σόγιας, ηλίανθου, βάμβακος, αυξάνουν την περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος σε CLA όταν αυτά χορηγούνται σε πλήρη μίγματα σιτηρεσίων. Ομοίως, τα έλαια ή οι καρποί από λινάρι που είναι πλούσιοι σε λινολενικό οξύ και ο καρπός του σιναπιού που είναι πλούσιος σε ελαϊκό οξύ, που επίσης έχει μικρές ποσότητες λινολενικού και λινελαϊκού οξέος, έδειξαν ότι αυξάνουν την περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος σε CLA (Dhiman *et al.*, 2000; Looor *et al.*, 2002). Σύμφωνα με τους Kelly *et al.*, (1998) διαπιστώθηκε ότι ο καρπός του ηλίανθου αύξησε παραπάνω την περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος σε CLA σε σύγκριση με άλλους καρπούς.

Στη συνέχεια η χορήγηση θερμικών κατεργασμένων ή εξωθημένων καρπών φαίνεται να έχει μεγαλύτερη επίδραση στην περιεκτικότητα του λίπους του γάλακτος σε CLA από ότι η χορήγηση μη επεξεργασμένων καρπών (Νήτας κ.ά., 2007). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη μικρότερη διαθεσιμότητα του ελαίου των μη επεξεργασμένων καρπών στη μεγάλη κοιλία σε σύγκριση με εκείνη των θερμικά επεξεργασμένων με αποτέλεσμα την βραδεία απελευθέρωση των ελαίων τους που τελικά οδηγεί στην πλήρη υδρογόνωση του λινελαϊκού οξέος σε στεατικό οξύ και άρα στο σχηματισμό μικρότερων ποσοτήτων των ενδιάμεσων προϊόντων της υδρογόνωσης CLAs TVA (Dhiman *et al.*, 2000; Chouinard *et al.*, 2001).

Επιπρόσθετα σύμφωνα με τους Gulati *et al.* (1997), πραγματοποιήθηκε πείραμα σε αίγες μελετώντας την επίδραση που ασκούν τα προστατευμένα ή μη έλαια στη συγκέντρωση των ΛΟ του γάλακτος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι αίγες που είχαν διατραφεί με προστατευμένους καρπούς ελαιοκράμβης παρουσίασαν αύξηση της συγκέντρωσης των ΛΟ του γάλακτος C_{18:1} C_{18:2} και C_{18:3} σε σχέση με τις αίγες που είχαν διατραφεί με μη προστατευμένα έλαια. Όμοια αποτελέσματα παρουσίασαν και οι Lanzani *et al.*, (1985) όπου είχαν χορηγήσει προστατευμένα και μη σπέρματα βαμβακιού σε αίγες. Τα μη προστατευμένα σπέρματα βαμβακιού αύξησαν την συγκέντρωση των C_{18:0} και C_{18:1} ενώ τα προστατευμένα την συγκέντρωση των C_{18:2} και C_{18:0}.

Σε μελέτη των Matsushita *et al.*, (2007) οι οποίοι είχαν προσθέσει στο σιτηρέσιο των αιγών έλαια της τάξης του 3% της ΞΟ του σιτηρεσίου και ο διαχωρισμός των ομάδων έγινε με βάση το διαφορετικό έλαιο που είχε ενσωματωθεί

στο σιτηρέσιο παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα των αιγών που διατράφηκαν με ηλιέλαιο εντοπίστηκε στο λίπος του γάλακτος υψηλότερη συγκέντρωση του *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} (CLA), σε σύγκριση με τις αίγες που διατράφηκαν με έλαιο ελαιοκράμβης και σογιέλαιο. Επίσης παρατήρησαν ότι η ομάδα που διατράφηκε με σογιέλαιο παρουσίασε υψηλότερη συγκέντρωση σε ΜΑΚΛΟ και ΠΑΚΛΟ. Ακόμα οι Tsiplakou *et al.*,(2013) μελετώντας την συνδυασμένη επίδραση του ιχθυελαίου και σογιελαίου στο προφίλ των ΛΟ του αίγιου γάλακτος με την ίδια αναλογία ΧΖ:ΣΖ παρατήρησαν αύξηση της συγκέντρωσης του βασενικού οξέος, του *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} (CLA), του *trans*-10, *cis*-9 C_{18:2} (CLA), του EPA, του DHA, των ΜΑΚΛΟ, των ΠΑΚΛΟ και των ω-3 ΛΟ, ενώ παρατήρησαν μείωση στη συγκέντρωση των λιπαρών οξέων μικράς και μεσαίας αλύσου αλλά και στη σχέση ΚΛΟ/ΑΚΛΟ καθώς και στο δείκτη αθηρωμάτωσης. Επιπλέον, σε τρία πειράματα που έγιναν σε αίγες και μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης του φοινικέλαιου στο προφίλ των ΛΟ του γάλακτος παρατηρήθηκε μια εκατοστιαία αύξηση της συγκέντρωσης του C_{18:1} (De Maria Ghionna *et al.*, 1987; Martin *et al.*, 1999; Rapetti *et al.*, 2002).

Συμπερασματικά, με την προσθήκη έλαιων ή ελαιούχων σπερμάτων στο σιτηρέσιο των αιγών παρατηρείται μια τάση προς αύξηση της συγκέντρωσης των ΛΟ C_{18:0}, C_{18:1} εις βάρος των ΛΟ C_{8:0}-C_{14:0}.

1.5 Γενικά χαρακτηριστικά του σησαμιού - χρήση ως ζωοτροφή

Το σησάμι ανήκει στην τάξη Χοιραδιώδη (Scrophulariales), στην οικογένεια Πηδαλιοειδή (Pedaliaceae). Περιλαμβάνει 37 είδη ποωδών φυτών που είναι ιθαγενή της Ασίας. Είναι φυτό με ύψος 100-120cm, το οποίο αναπτύσσει απλά ή διακλαδισμένα στελέχη. Τα φύλλα του φύονται στους κόμβους εναλλάξ ή αντικρυστά. Ένα σε κάθε τρία άνθη, μήκους 4-5 cm, γονιμοποιείται και αργότερα αναπτύσσεται ο υποδοχέας που φέρει τους σπόρους. Σημαντικότερο όλων από οικονομική άποψη είναι το *S. indicum*. Η παραγωγή του σουσαμιού έφτασε τους 4,8 εκατομμύρια μετρικούς τόνους το 2013, (FAO, 2013).

Θρεπτική αξία του σησαμιού.

Το σησάμι και τα προϊόντα του αποτελούν τρόφιμα υψηλής θρεπτικής αξίας. Τα σπέρματα του σησαμιού, αποτελούν την πρώτη ύλη για την παρασκευή του σησαμιού. Το σησάμι αποτελεί θρεπτική τροφή τόσο για τα ζώα όσο και τον άνθρωπο, η οποία τα τελευταία χρόνια έχει συσχετιστεί τόσο με την πρόληψη όσο και την αντιμετώπιση χρόνιων νοσημάτων με υψηλή συχνότητα στους κατοίκους της Δύσης, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, διάφορες μορφές καρκίνου κ.ά (Fukuda and Namiki, 1998; Kita *et al.*, 1995; Sugano *et al.*,1990). Επίσης, βρίσκει πολλές

εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων. Το υπόλειμμα από την έκθλιψη του σησαμιού για την παραλαβή του σησαμελαίου, χρησιμοποιείται ως θρεπτική ζωοτροφή.

Το σησάμι είναι τρόφιμο με υψηλής βιολογικής αξίας φυτική πρωτεΐνη. Είναι πλούσιο σε αμινοξέα όπως η μεθειονίνη, η τρυπτοφάνη, η λευκίνη και η αργινίνη, ενώ είναι σχετικά φτωχή η περιεκτικότητά του σε λυσίνη. Η ανάλυση των αμινοξέων του σησαμιού αποδεικνύει ότι συνδυαζόμενο με τροφές πλούσιες σε λυσίνη, το σησάμι αποτελεί ένα τρόφιμο πολύ υψηλής πρωτεϊνικής αξίας.

Η υψηλή θρεπτική αξία του σησαμιού σύμφωνα με την μελέτη των Borchani *et al.*, (2010), οφείλεται και στα λιπαρά οξέα που περιέχει. Από αυτά το 45% είναι μονοακόρεστα, το 40% πολυακόρεστα και μόλις το 15% κορεσμένα. Σύμφωνα με μελέτες των Uzun, Arslan, Karhan and Toker (2007) στο σησάμι περιέχονται τα λιπαρά οξέα ελαϊκό, λινολενικό, αραχιδονικό και λινελαϊκό το οποίο υπερτερεί σε σύγκριση με τα άλλα. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που αποτελούν τον κύριο όγκο των λιπαρών οξέων στο σησαμέλαιο (80%) είναι το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ, ενώ μικρές είναι οι ποσότητες του παλμιτικού και στεατικού και σε ίχνη μόνο απαντάται το λινολενικό. Το σησαμέλαιο, σε σύγκριση με το σογιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο, περιέχει περισσότερα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε ίδιο ποσοστό τόσο στο σησαμέλαιο όσο και στο σογιέλαιο, ενώ το αραβοσιτέλαιο περιέχει ελαφρώς μικρότερη συγκέντρωση. Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό του σησαμελαίου, είναι η απουσία *trans*-ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία συνήθως παράγονται κατά την επεξεργασία του σογιέλαιου και άλλων φυτικών ελαίων.

Οι υδατάνθρακες αποτελούν το θρεπτικό συστατικό με τη μικρότερη αναλογία στο σησάμι. Αποτελούν το 15% - 20% της σύστασης του τροφίμου (Choi *et al.*, 2008). Από αυτούς το μεγαλύτερο μέρος αποτελούν οι φυτικές ίνες (κυρίως κυτταρίνη και ημικυτταρίνη), ενώ περιλαμβάνονται σε ελάχιστες ποσότητες απλά σάκχαρα, όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Στο σησάμι περιέχονται κυρίως βιταμίνες του συμπλέγματος Β, όπως Β1, Β2 και νιασίνη (βιταμίνη Β5). Οι βιταμίνες αυτές αποτελούν συνένζυμα πολλών μεταβολικών συστημάτων και διεργασιών, γεγονός που τις καθιστά απαραίτητες για την καλύτερη υγεία του οργανισμού. Ιδιαίτερος στο έλαιό του περιέχονται επίσης επαρκείς ποσότητες βιταμίνης Ε, που έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες και προστατεύει από αρτηριο-σκλήρυνση, συντελεί στη μείωση του κινδύνου του καρκίνου, είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, βοηθά στη πρόληψη του καταρράκτη, μειώνει τον κίνδυνο του διαβήτη, επιβραδύνει την ασθένεια Alzheimer, την ασθένεια του Parkinson, βελτιώνει τις αθλητικές επιδόσεις και γενικά αυξάνει τη μακροζωία.

Τα κυριότερα μεταλλικά άλατα και ιχνοστοιχεία που περιέχονται στο σησάμι είναι το ασβέστιο, ο φώσφορος, το μαγνήσιο, ο ψευδάργυρος και το σελήνιο (Prasanthi, Muralidhara & Rajini, 2005). Τα συστατικά αυτά αποτελούν πολύ

σημαντικά στοιχεία του ανθρώπινου μεταβολισμού όντας απαραίτητα για ποικίλες λειτουργίες, όπως η σύνθεση των οστών και των μυών (ασβέστιο) και στις αντιδράσεις μεταβολισμού (ψευδάργυρος). Ιδιαίτερος το σελήνιο, που περιέχεται σε σημαντική συγκέντρωση στο σησάμι, έχει διαπιστωθεί τα τελευταία χρόνια ότι επίσης διαθέτει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Nandi *et al.*,2015), προστατεύοντας έτσι από καρδιοπάθειες και καρκίνο.

Τέλος, περιέχει φυτοχημικές ουσίες με ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως στερόλες (καμπεστερόλη, στιγμαστερόλη, β σιτοστερόλη) και λιγνάνες (σησαμίνη και σησαμινόλη) (Ikeda *et al.*,2013;). Οι λιγνάνες είναι χημικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους οι οποίες περιέχουν π-υδροξυ-φαινυλοπροπάνιο. Το σησάμι περιέχει σημαντικές ποσότητες χαρακτηριστικών λιγνανών, όπως η σησαμίνη και η σησαμινόλη. Πολλές μελέτες που έχουν διεξαχθεί με αυτές έχουν δείξει ότι δρουν προστατευτικά στον οργανισμό (Hsu *et al.*, 2008; Ide *et al.*, 2009; Mohdaly *et al.*, 2011; Yeo *et al.*,2011).

Η σησαμίνη και η σησαμινόλη ασκούν σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική του ικανότητα (Xu *et al.*, 2005). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση σησαμιού το οποίο περιέχει τις παραπάνω λιγνάνες έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης στο πλάσμα και την ενίσχυση της δράσης της βιταμίνης E. Καθώς και την μείωση της δράσης του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) το οποίο σχετίζεται με την υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (Kato *et al.*, 1998; Ikeda *et al.*, 2003). Η σησαμίνη και η σησαμινόλη είναι φυτοοιστρογόνα και μετατρέπονται σε εντερολακτόνη. Η εντερολακτόνη (mammal lignan) σχηματίζεται από την εντερική μικροχλωρίδα μετά την κατανάλωση φυτικών λιγνανών. Δυνητικά μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ορισμένων μορφών καρκίνου (Kilkkinen, 2004) .

1.5.1 Ευεργετικές δράσεις του σησαμιού.

Οι ευεργετικές δράσεις του σησαμιού στον ανθρώπινο οργανισμό περιγράφονται παρακάτω:

- Αντιυπερτασική - αντιθρομβωτική δράση

Αν και δεν υπάρχουν ακόμη δεδομένα που να αποδεικνύουν τις αντιυπερτασικές ιδιότητες του σησαμιού, θεωρείται πιθανόν η κατανάλωση σησαμιού και των προϊόντων του να συμβάλλει στην αντιμετώπιση της υπέρτασης, λόγω της πινορεξινόλης (Katsuzaki *et al.*,1995) μια από τις κύριες αντιοξειδωτικές ουσίες του σησαμιού, η οποία έχει αποδεδειγμένη αντιυπερτασική δράση (Kita *et al.*,1994). Επίσης η σησαμίνη, συστατικό το οποίο περιέχεται στο σησάμι, αναστέλλει τόσο την αύξηση της πίεσης όσο και τη δημιουργία εγκεφαλικών θρόμβων. Κατ' επέκταση

προλαμβάνεται ο κίνδυνος των εγκεφαλικών επεισοδίων ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι η παραπάνω δράση της, ενισχύεται παρουσία της βιταμίνης E.

- Υποχοληστερηλαιμική δράση - αρτηριοσκλήρυνση

Το σησάμι και τα προϊόντα του έχουν την ικανότητα να μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα. Η ικανότητα αυτή οφείλεται στην παράλληλη δράση τριών μηχανισμών: την επίδραση των λιπαρών οξέων, τη δράση της βιταμίνης E (τοκοφερόλης) και τη δράση της σησαμίνης (Penalvo *et al.*, 2006).

Η σύνθεση των λιπαρών οξέων του σησαμιού χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά ακόρεστων λιπαρών οξέων (Kamal-Eldin *et al.*, 1994). Πειράματα σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η αύξηση των λιπαρών αυτών οξέων στη διατροφή, μειώνει την χοληστερόλη στο αίμα και κατά συνέπεια προστατεύει από τη στεφανιαία νόσο (Pey Rong Chen *et al.*, 2005).

Πιο συγκεκριμένα, αύξηση στην πρόσληψη ακόρεστων λιπαρών οξέων κατά 1% (με ανάλογη μείωση των κορεσμένων) μειώνει τη χοληστερόλη στο αίμα κατά 2% και την πιθανότητα θανάτου από στεφανιαία νόσο κατά 5%. Αν και μέχρι πρόσφατα η χοληστερόλη θεωρούνταν υπεύθυνη για την αρτηριοσκλήρυνση, σύγχρονες μελέτες έχουν αποδείξει, ότι δεν είναι η χοληστερόλη αυτή καθ' αυτή υπεύθυνη για την ασθένεια, αλλά η οξειδωμένη LDL και τα προϊόντα της. Η βιταμίνη E, ως αντιοξειδωτική προστατεύει την LDL από οξείδωση και κατά συνέπεια τον ανθρώπινο οργανισμό από αρτηριοσκλήρυνση.

Αποτελέσματα πολλαπλών ερευνών, φανερώνουν μια μοναδική λειτουργία της σησαμίνης στη δυναμική της χοληστερόλης, καθώς δεν υπάρχει άλλη ουσία που ταυτόχρονα να σταματά, τόσο την απορρόφηση, όσο και τη σύνθεση της χοληστερόλης. Αυτό σημαίνει, ότι η σεσαμίνη μπορεί να εξυπηρετήσει ως ένας επαρκής φυσικός υποχοληστερηλαιμικός παράγοντας.

- Αντικαρκινική δράση:

Η καρκινογένεση έχει συνδεθεί με τη δράση των ελευθέρων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες οξείδωσης, ενώ έχουν συνδεθεί και με ποικίλες βλαβερές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, με σημαντικότερη όλων την καταστροφή του γενετικού υλικού και κατ' επέκταση την εμφάνιση καρκίνου. Τα υπεροξειδία του αζώτου, που είναι ισχυρά μεταλλαξιογόνα και σχηματίζονται από ελεύθερες ρίζες μονοξειδίου του αζώτου είναι ένας από τους πιο σημαντικούς συντελεστές στην πρόκληση καρκίνου και άλλων εκφυλιστικών ασθενειών. Πιστεύεται, ότι η γ-τοκοφερόλη στην οποία το σησάμι είναι πλούσιο, ενεργεί *in vitro* σαν μια «παγίδα» οξειδίων του αζώτου και άλλων ηλεκτρονιόφιλων μεταλλαξιογόνων, ως αποτέλεσμα της χημικής δομής της.

Η βλαβερή αυτή δράση των ελευθέρων ριζών αναστέλλεται σε μεγάλο βαθμό από τη σησαμόλη, που αποτελεί συστατικό του σησαμιού και ενισχύει τη δράση της βιταμίνης E. Επίσης, η σησαμίνη, μελετήθηκε ως προς την προστατευτική της δράση κατά του καρκίνου του μαστού σε ποντίκια και βρέθηκε ότι, σε διατροφικό επίπεδο 0,2% μειώνει σημαντικά, τόσο το συνολικό αριθμό, όσο και τη μέση εκδήλωση του καρκίνου αυτού (Hirose *et al.*, 1992). Το γεγονός αυτό ενισχύει την άποψη των ερευνητών σχετικά με την αντικαρκινική δράση του σησαμιού (Prado-Silva *et al.*, 2014).

- Αντιοξειδωτική δράση:

Τα εδώδιμα λίπη και έλαια και οι λιπαρές τροφές γενικά, οξειδώνονται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, με συνέπεια να παράγονται χημικές ενώσεις που προκαλούν τάγγισμα και αλλοιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφών αυτών. Μια από τις σημαντικότερες ιδιότητες του σησαμελαίου είναι η υψηλή σταθερότητα του ως προς την οξείδωση. Πρώτος ο Grettie, πρόσθεσε μικρές ποσότητες υδρογονωμένου σησαμελαίου ως αντιοξειδωτικό σε λαρδί και άλλα λίπη. Αργότερα ο Fiero ανακάλυψε ότι το υδρογονωμένο σησαμέλαιο είναι πολύ πιο ανθεκτικό στην οξείδωση σε σύγκριση με άλλα υδρογονωμένα φυτικά έλαια.

Το σησαμέλαιο, κατά την αποθήκευσή του, δεν ταγγίζει όπως άλλα έλαια, και κατά τη θέρμανσή του δεν αυξάνει το ιξώδες του (φαινόμενο που παρατηρείται στα άλλα έλαια, λόγω αντιδράσεων πολυμερισμού). Η προσπάθεια να αποσαφηνιστεί η σταθερότητα του σησαμιού, καθώς και οι φαρμακευτικές του ιδιότητες, οδήγησε στην ταυτοποίηση φαρμακολογικά ενεργών ουσιών όπως οι λιγνάνες και ιδιαίτερα της σησαμίνης και της σεσαμόλης (Pey Rong Chen *et al.*, 2005). Σχετική έρευνα έχει δείξει ότι η χημική βάση της αντιοξειδωτικής υπεροχής του καβουρντισμένου σησαμελαίου είναι αποτέλεσμα του ισχυρού αντιοξειδωτικού του συστατικού, σησαμόλη (Fukuda *et al.*, 1986).

Στο σησάμι υπάρχει ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σύστημα, αποτελούμενο κυρίως από τρεις ουσίες, τη σησαμίνη, τη σησαμινόλη και τη βιταμίνη E (με μορφή γ-τοκοφερόλης). Οι ουσίες αυτές παρουσιάζουν ισχυρότατη αντιοξειδωτική δράση, εμποδίζοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων στον οργανισμό (Kamal-Eldin, Moazzami and Washi, 2011). Ακολουθεί πίνακας που προσδιορίζει την συγκέντρωση (μg/g) της Βιταμίνης E στα σπέρματα σησαμιού.

Βιταμίνη E	α-τοκοφερόλη	β-τοκοφερόλη	γ-τοκοφερόλη	δ-τοκοφερόλη
σησάμι	10±8	<0.5	517±24	<0.5

Η σησαμόλη σχηματίζεται από την αποσύνθεση της σησαμολίνης (Fukuda *et al.*, 1986) κατά το φρυγάνισμα, γεγονός που εξηγεί και την υπεροχή του ελαίου από φρυγανισμένο σησάμι έναντι ελαίου που δεν προέρχεται από φρυγάνισμα των σπόρων.

Η κατανάλωση σησαμιού έχει συσχετιστεί όχι μόνο με την προστασία του οργανισμού από τη βλαβερή δράση των ελευθέρων ριζών αλλά και με την προστασία από τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών στα αγγεία, η δημιουργία των οποίων έχει ως κύριο αιτιολογικό παράγοντα την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών (κυρίως της LDL) (Sankar Devarajan *et al.*, 2016; Hirata *et al.*, 1996). Η κατανάλωση του σησαμιού αποτελεί ασπίδα προστασίας των αγγείων, αφού έχει συσχετιστεί με μειωμένη ευαισθησία των λιποπρωτεϊνών του αίματος στην οξειδωση μέσω της δράσης της σησαμόλης.

Επιπρόσθετα το ιχνοστοιχείο σελήνιο που περιέχεται σε σημαντική συγκέντρωση στο σησάμι, έχει τα τελευταία χρόνια συσχετιστεί με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στον οργανισμό, καθώς αποτελεί συστατικό ενός σημαντικού αντιοξειδωτικού συστήματος - της οξειδάσης της γλουταθειόνης - το οποίο αποτελεί ένα από τα κυριότερα αμυντικά συστήματα του οργανισμού έναντι της δράσης των ελευθέρων ριζών.

Απο την άλλη η κατανάλωση του σησαμιού από αθλητές που ασκούνται συστηματικά, μειώνει τον κίνδυνο πρόκλησης μυϊκών τραυματισμών, βασική αιτία των οποίων είναι το οξειδωτικό στρες, το οποίο εμφανίζεται εξαιτίας της αυξημένης παραγωγής ριζών.

Η αντιοξειδωτική δράση τόσο της σησαμίνης όσο και της σησαμινόλης είναι ισχυρότερη από αυτή της βιταμίνης E *in vitro* (Yamashita *et al.*, 1995). Μεγάλο ενδιαφέρον έχει αποδοθεί στην καταστροφή των μεμβρανών, των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών από ενεργά είδη οξυγόνου που παράγονται κατά την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου, καθώς και την υπεροξειδωση των λιπών. Οι βιταμίνες E, C και A είναι γνωστές για την ικανότητα τους, να δεσμεύουν το ενεργό οξυγόνο.

Η αντιοξειδωτική δράση της σησαμινόλης, της σησαμόλης και άλλων αντιοξειδωτικών μελετήθηκε σε διάφορα συστήματα – πρότυπα υπεροξειδωσης *in vivo* και βρέθηκε ότι οι φαινολικές λιγνάνες του σησαμιού έχουν ανασταλτική δράση κατά της υπεροξειδωσης των λιπών, ίση ή και ισχυρότερη από αυτήν της α -τοκοφερόλης (βιταμίνη E).

Πολύ πρόσφατες μελέτες έχουν φέρει στο φως ενδείξεις ότι η γ -τοκοφερόλη, η οποία βρίσκεται κατά κύριο λόγο στο σησάμι, μπορεί να είναι το ίδιο σημαντική όπως και η α -τοκοφερόλη στην πρόληψη εκφυλιστικών ασθενειών. Η γ -τοκοφερόλη

προσφέρει πολύτιμη προστασία κατά των οξειδίων του αζώτου, μιας μεγάλης κατηγορίας ουσιών που η α – τοκοφερόλη αγνοεί.

Το σησάμι έχει σπουδαία βιταμινική δράση (ως προς την βιταμίνη E) ως αποτέλεσμα της συνεργατικής δράσης των λιγνανών του και της γ–τοκοφερόλης. Μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη E ελέγχει την προσκόλληση και συγκέντρωση αθηρωματικών πλακών (platelets) στις αρτηρίες, οι οποίες συντελούν στη θρόμβωση και την ανάπτυξη αρτηριοσκλήρυνσης και κατά συνέπεια εμφράγματος και εγκεφαλικών επεισοδίων. Ένας μηχανισμός μέσω του οποίου η βιταμίνη E μπορεί να προστατεύει από καρδιαγγειακές παθήσεις είναι η προστασία της LDL (Low Density Lipoprotein) από οξείδωση. Η οξειδωμένη LDL είναι η απαρχή του τραυματισμού των αρτηριών, η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε αρτηριοσκλήρυνση. Αρκετά πειραματικά και επιδημιολογικά δεδομένα συνιστούν ότι η βιταμίνη E μπορεί να παίζει ρόλο στη μείωση του κινδύνου του καρκίνου.

Επιπρόσθετα, η βιταμίνη E εμποδίζει τη μετάλλαξη των κυττάρων, κυρίως μέσω της αντιοξειδωτικής της δράσης, εξαλείφοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και καταστέλλοντας την καταστροφή του DNA. Υπάρχουν ενδείξεις από μελέτες σε ζώα για ανασταλτική δράση της βιταμίνης E στη δημιουργία και ανάπτυξη όγκων. Μελέτες σε ζώα και ανθρώπους έδειξαν ότι η βιταμίνη E είναι απαραίτητη για την ορθή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα ανοσοκύτταρα είναι εξαιρετικά ευπαθή στις ελεύθερες ρίζες, των οποίων η δράση παρεμποδίζεται από τη βιταμίνη E. Η βιταμίνη E μπορεί ακόμη να επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα αυξάνοντας τη δραστηριότητα των φυσικών κυττάρων (Chibuike *et al.*, 2012). Έλλειψη της βιταμίνης E σχετίζεται με μείωση της αποτελεσματικότητας του ανοσοποιητικού συστήματος, γήρανση και ως επακόλουθο την ανάπτυξη μολυσματικών ασθενειών.

Μία εξίσου σημαντική δράση του σησαμιού, που δεν έχει μελετηθεί αρκετά, είναι η προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος και πιο συγκεκριμένα η ευεργετική του επίδραση στο ενδοθήλιο. Το ενδοθήλιο είναι ο μεγαλύτερος αδένας και καλύπτει εσωτερικά όλα τα αγγεία. Έχει βρεθεί ότι το ενδοθήλιο έχει ενεργό ρόλο στη λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος και εμπλέκεται σε διάφορες λειτουργίες του, όπως στη συστολή ή στη χαλάρωση των αγγείων, στη φλεγμονή, στην εξέλιξη την αθηρωματικής διαδικασίας.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ανιχνεύουν διάφορα φυσικά ή χημικά ερεθίσματα, που διεγείρουν το αγγείο, και ως απάντηση σε αυτά, τροποποιούν το σχήμα του αγγείου ή απελευθερώνουν απαραίτητα προϊόντα για τη διατήρηση της ισορροπίας του αγγείου. Επιπλέον, έχουν την ικανότητα, να παράγουν μια μεγάλη ποικιλία μορίων, που είτε χαλαρώνουν το αγγείο, προκαλώντας διαστολή στα τοιχώματά του, είτε συσπών το αγγείο, προκαλώντας συστολή στα τοιχώματά του. Η φυσιολογική και επιθυμητή αντίδραση του αγγείου είναι η χαλάρωση, καθώς έτσι το αίμα διέρχεται ευκολότερα, γρηγορότερα και χωρίς πίεση.

- Αντιγηραντική δράση

Το σησάμι εμφανίζει σημαντικές αντιγηραντικές ιδιότητες λόγω της μεγάλης του περιεκτικότητας σε βιταμίνη Ε και της δράσης των λιγνανών, δηλαδή της σιζανόλης και της σιζαμίνης. Το σησάμι βρέθηκε να έχει ανασταλτική επίδραση στη γήρανση σε ποντίκια. Ποντίκια εσπευσμένης γήρανσης, στη διαίτα των οποίων έγινε προσθήκη 20% σκόνης σησαμιού, παρουσίασαν επιβράδυνση και αναστολή της γήρανσης, ιδιαίτερα σε σχέση με ορισμένους δείκτες, όπως οι περιοφθαλμικές κακώσεις, η γυαλάδα του τριχωτού και η τραχύτητα του δέρματος. Στα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε κανονική διαίτα, οι παραπάνω δείκτες γήρανσης αυξήθηκαν από το 20 μήνα, ενώ αντίθετα, στα ποντίκια που χορηγήθηκε σησάμι, η γήρανση επιβραδύνθηκε και αναστάλθηκε. Η βιταμίνη Ε αναγνωρίζεται ως συστατικό των τροφίμων με αντιγηραντική δράση.

- επίδραση της σεσαμίνης στις λειτουργίες του ήπατος

Η σεσαμίνη βρέθηκε ότι βελτιώνει τη δράση ενός αριθμού ενζύμων του ήπατος. Τα ένζυμα αυτά σχετίζονται με την ικανότητα του ήπατος να διασπά τοξικές ουσίες του αίματος. Χορήγηση σεσαμίνης και α-τοκοφερόλης μειώνει σημαντικά την αιθανόλη στο αίμα. Στην Ιαπωνία κυκλοφορούν στο εμπόριο σκευάσματα που περιέχουν τις παραπάνω δύο ουσίες και προορίζονται για χρήση μετά από κατανάλωση αλκοολούχων ποτών.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1 Ένζυμα

Η εφαρμογή των ενζύμων έχει εξελιχθεί ραγδαία τα τελευταία πενήντα χρόνια και διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη νέων επιστημονικών κλάδων. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα ένζυμα εμπλέκονται σχεδόν σε όλες τις διεργασίες παραγωγής βιοπροϊόντων, επεξεργασίας βιολογικών και συνθετικών υλικών, και παροχής καλύτερων υπηρεσιών στη γεωργία και την ιατρική. Έχουν χαρακτηριστεί περίπου 2500 διαφορετικά ένζυμα και υπολογίζεται ότι αυτά αποτελούν μόνο το 10% των ενζύμων που υπάρχουν στη φύση.

Τα ένζυμα (*enzymes*) είναι βιολογικοί καταλύτες με πρωτεϊνική σύσταση. Γενικά, κάθε ένζυμο δρα σε συγκεκριμένη ένωση ή ομάδα ενώσεων, τα υποστρώματα και σχηματίζει συγκεκριμένο προϊόν ή προϊόντα. Ωστόσο, στη φύση απαντούν και βιολογικοί καταλύτες με ολιγονουκλεοτιδική σύσταση, τα ριβόζυμα. Η πλειοψηφία των χημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σε έναν οργανισμό καταλύεται από ένζυμα και μόνο ένα μικρό ποσοστό αντιδράσεων, που σχετίζονται με την ωρίμανση των μορίων RNA, είναι αυτοκαταλύομενες ή καταλύονται από άλλα μόρια RNA που εκδηλώνουν καταλυτική δράση.

Η σωστή λειτουργία ενός κυττάρου εξαρτάται από την συντονισμένη δράση των ενζύμων που περιέχει. Χαρακτηριστικά, τα ένζυμα του πρώτου σταδίου της οξειδωσης της γλυκόζης (διαδικασία γλυκόλυσης) βρίσκονται στο κυτόπλασμα, ενώ εκείνα που εμπλέκονται κατά το σχηματισμό του ακέτυλο- CoA από το πυροσταφυλικό οξύ και τη μετέπειτα οξειδωσή του μέσω του κύκλου του Krebs περιορίζονται στα μιτοχόνδρια. Επιπρόσθετα, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι με την ανάπτυξη κατάλληλων τεχνικών μπορεί να επιτευχθεί παραγωγή ενζύμων με χαμηλό κόστος και μοριακή σταθερότητα. Συγκεκριμένα αυτό πραγματοποιείται με την καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχουν τροποποιημένο (ανασυνδιασμένο) DNA. Καθώς και με χημική ή μηχανική ακινητοποίηση των ενζύμων πάνω σε αδρανή υλικά, γεγονός που επιτρέπει τη σταθεροποίηση του μορίου τους, ώστε η καταλυτική τους ικανότητα να παραμένει υψηλή για μεγάλο χρονικό διάστημα και να είναι δυνατή η επαναχρησιμοποίησή τους.

2.2 ΠΗΓΕΣ ENZYΜΩΝ

Ανάλογα με την ποσότητα ενζύμου που απαιτείται, η επιλογή του αρχικού υλικού κρίνεται σπουδαία. Ως πηγές ενζύμων μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ιστοί θηλαστικών (ήπαρ) ή υγρά θηλαστικών (πλάσμα) τα οποία αποτελούν φθηνά υλικά. Το μειονέκτημα που παρουσιάζεται στις παραπάνω πηγές, είναι ότι η συγκέντρωση των ενζύμων που περιέχουν δεν είναι αρκετά υψηλή. Επιπλέον, ένας σημαντικός αριθμός ενζύμων που καθαρίζονται σε μεγάλη κλίμακα προέρχεται από μικροοργανισμούς. Συνήθως είναι ένζυμα εξωκυττάρια που εκκρίνονται στο υγρό ανάπτυξης, τα οποία απομονώνονται εύκολα και είναι αρκετά καθαρά. Επίσης φθηνή πηγή αποτελούν οι φυτικοί ιστοί, όπου τα ένζυμα που περιέχουν καθαρίζονται βιομηχανικά και έχουν χαμηλό κόστος. Τέλος, πολλά ένζυμα βρίσκονται στο εσωτερικό υποκυτταρικών στοιχείων ή είναι εγκλωβισμένα σε μεμβράνες. Σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητο να γίνει η θραύση των κυττάρων και στη συνέχεια η εκχύλιση των ενζύμων.

2.2.1 Ένζυμα ως βιοκαταλύτες

Η εφαρμογή των ενζύμων αποτελεί σήμερα ίσως το μεγαλύτερο ενδιαφέρον των βιοτεχνολόγων. Έχουν χαρακτηριστεί περίπου 2500 διαφορετικά ένζυμα και υπολογίζεται ότι αυτά αποτελούν μόνο το 10% των ενζύμων που υπάρχουν στη φύση. Αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται σαν αντιδραστήρια για αναλυτικούς σκοπούς (π.χ. ουρικήση) ή για βιολογικά πειράματα (π.χ. παραγωγή πρωτοπλαστών, ή ανασυνδιασμένου DNA, ή ως βιοχημικοί καταλύτες) δεν ξεπερνούν τα 200.

2.2.2 Ένζυμα του πλάσματος

Όταν απαιτούνται μεγάλες ποσότητες ενζύμων η επιλογή του αρχικού υλικού είναι πολύ σπουδαία. Ιστοί θηλαστικών (ήπαρ αγελάδας) ή υγρά θηλαστικών (πλάσμα) είναι φθηνά υλικά αλλά η συγκέντρωση ενζύμων που περιέχουν δεν είναι υψηλή.

2.2.3 Ένζυμα του γάλακτος

Το γάλα περιέχει ενδογενή ένζυμα τα οποία αποτελούν προϊόντα της εκκριτικής δραστηριότητας του μαστού. Ορισμένα από αυτά όπως είναι οι λιπάσες και οι πρωτεάσες ενεργούν επί των υποστρωμάτων που υπάρχουν στο γάλα ενώ άλλα

σε ξένων προς αυτό. Εκτός από τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος, υπάρχουν και ένζυμα βακτηριακής προελεύσεως που εισέρχονται στο γάλα μετά ή πριν τη διαδικασία αλμύξεως. Ωστόσο είναι δύσκολο να διαπιστωθεί αν η ενζυματική δραστηριότητα οφείλεται στα ενδογενή ένζυμα ή σε βακτηριακή δράση.

2.3 ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΕΝΖΥΜΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Το γάλα περιέχει ένα μεγάλο αριθμό ενδογενών ενζύμων με διαφορετικές λειτουργίες και σταθερότητα στη μεταποίηση, με αποτέλεσμα να έχει αντίκτυπο στην υγιεινή και τεχνολογία των γαλακτοκομικών προϊόντων και στην ασφάλεια του καταναλωτή (π.χ. αντιμικροβιακά ένζυμα). Τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος προέρχονται κυρίως από το αίμα του ζώου, από τα σωματικά κύτταρα ή από τα γαλακτικά κύτταρα και μπορεί να βρίσκονται ή να είναι συνδεδεμένα με τα διαφορετικά δομικά στοιχεία του γάλακτος. Συγκεκριμένα στον ορό του γάλακτος εντοπίζονται η λακτοϋπεροξειδάση και οι λυσισωμικές πρωτεϊνάσες. Στα καζεϊνικά μικκύλια βρίσκονται η πλασμίνη και η λιποπρωτεϊνική λιπάση ενώ στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων η αλακαλική φωσφατάση και η οξειδάση ξανθίνης. Παρά τη μεγάλη ποικιλία ενζύμων που περιέχει, το γάλα δεν αλλοιώνεται εύκολα από αυτά, γιατί τα περισσότερα ανιχνεύονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και μερικά από αυτά δεν βρίσκονται στην ενεργή τους μορφή. Επιπλέον, οι συνθήκες στο γάλα δεν ευνοούν γενικά τη δράση τους. Η δραστηριότητα των περισσότερων ενδογενών ενζύμων του γάλακτος διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών ζώων και για το ίδιο είδος διαφέρει σημαντικά μεταξύ μεμονωμένων ζώων, καθώς και κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου. Οι περισσότερες μελέτες αφορούν κυρίως το αγελαδινό ενώ είναι περιορισμένες εκείνες που αναφέρονται στο αίγαιο και πρόβειο γάλα.

Σύμφωνα με την μελέτη των (Kelly *et al.*, 2005) έχουν αναγνωρισθεί στο αγελαδινό γάλα 70 ενδογενή ένζυμα (Fox *et al.*, 2003). Όπου μετά από ένα μεγάλο εύρος μελετών, αποδείχθηκε ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ποιότητα του γάλακτος αλλά και στα προϊόντα του. Τα πιο σημαντικά ένζυμα που έχουν μελετηθεί στο γάλα παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα:

N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση	Όξινη φωσφατάση,
Αλκαλική φωσφατάση	Αμυλάση

Χολικά άλατα διεγερμένης λιπάσης	Λακτουπεροξειδάση (LPO)
α – L- φουκοζιδάση	γ- γλουταμυλική τρανσφεράση
Υπεροξειδάση γλουταθειόνης	Λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL)
Λυσοζύμη	Ριβονουκλεάση
Σουλφυδρυλοξειδάση	Οξειδάση ξανθίνης (XO)
Πλασμίνη	Δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD)
Καταλάση (CAT)	

Πίνακας 2. Ενδογενή ένζυμα του γάλακτος

Όσον αφορά τα παραπάνω ένζυμα έχει μελετηθεί από τους Haddadi *et al.*, 2006; Leitner *et al.*, 2006) ότι τα ένζυμα που περιέχονται στο γάλα και προέρχονται από τα κύτταρα του μαστού ή απομονώνονται από το πλάσμα του αίματος δεν παρουσιάζουν σταθερή δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, επηρεάζονται από τη φυσιολογική κατάσταση του ζώου, το διατροφικό επίπεδο, το στρες και την εμφάνιση μαστίτιδας. Το γάλα που προέρχεται από ζώα που πάσχουν από μαστίτιδα μπορεί να ανιχνευθεί από τη δραστηριότητα του ενζύμου καταλάση, καθώς αυξάνεται κατά 10-15 φορές (Kitchen *et al.*, 1970).

Οι Fox *et al.*, (2005), αναφέρουν ότι με εξαίρεση την οξειδάση της ξανθίνης και την α-λακταλβουμίνη τα περισσότερα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος δεν έχουν φανερό φυσιολογικό ρόλο στη βιοσύνθεση και στην έκκριση του γάλακτος και μόνο μερικά από αυτά έχουν φανερή λειτουργία μετά την έκκριση του. Ωστόσο, θα αποτελούσε παράλειψη να μην να επισημανθούν ορισμένες από τις ιδιότητες τους, που τα καθιστούν τόσο σημαντικά. Η διατήρηση της ποιότητας του γάλακτος οφείλεται στη λακτοϋπεροξειδάση, δισμουτάση του υπεροξειδίου και στη σουλφυδρυλοξειδάση. Επίσης, η καταλάση, η όξινη φωσφατάση και η N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση αποτελούν δείκτες σε περίπτωση λοίμωξης του μαστικού αδένου. Η λυσοζύμη εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση όπως και η λακτοϋπεροξειδάση. Ορισμένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εμπορικές πηγές ενζύμων όπως π.χ. ριβονουκλεάση και λακτουπεροξειδάση (LPO). Τέλος, για την ανίχνευση της

αλλοίωσης του γάλακτος χρησιμοποιούνται η λιποπρωτεϊνική λιπάση, η όξινη φωσφατάση και η οξειδάση της ξανθίνης.

2.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

2.4.1 Ορισμός

Οι δραστικές ρίζες αποτελούν προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού, είναι γνωστές ως προοξειδωτικά και παίζουν διττό ρόλο, άλλοτε είναι ευεργετικές για τα κύτταρα και τους οργανισμούς και άλλοτε βλαπτικές. Οι ευεργετικές δράσεις των ελευθέρων ριζών οξυγόνου παρατηρούνται σε χαμηλές/μέτριες συγκεντρώσεις και αφορούν σε φυσιολογικούς ρόλους στην κυτταρική απόκριση στο stress, στη μεταγωγή σήματος, στην κυτταρική διαφοροποίηση, στη μεταγραφή γονιδίων, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στη φλεγμονή και στην απόπτωση. Οι βλαβερές δράσεις των δραστικών ριζών οξυγόνου ασκούνται στα βιομόρια, στις πρωτεΐνες, στα νουκλεϊνικά οξέα, στα λιπίδια και μπορεί να προκαλέσουν κυτταρική/ιστική βλάβη, από την οποία ο οργανισμός προστατεύεται με μια σειρά αντιοξειδωτικών ουσιών.

Ως οξειδωτικό stress ορίζεται η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών ουσιών του κυττάρου και οφείλεται είτε σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου είτε σε ανεπάρκεια των κυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Το οξειδωτικό stress ενοχοποιείται στην παθοφυσιολογία πολλών νοσημάτων καθώς και στη διεργασία της γήρανσης, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον η προσπάθεια φαρμακολογικής τροποποίησης της απόκρισης των οργανισμών στο οξειδωτικό stress.

2.4.1 Γενικά για το οξειδωτικό stress

Τα αίτια των δηλητηριωδών ιδιοτήτων του οξυγόνου ήταν άγνωστα πριν από τη δημοσίευση της θεωρίας των Gershman *et al.*, το 1954, σύμφωνα με την οποία η τοξικότητα του οξυγόνου οφειλόταν σε μερικώς αναχθείσες μορφές οξυγόνου. Η παρουσία δραστικών ριζών οξυγόνου στα βιολογικά υλικά περιγράφηκε για πρώτη φορά πριν από 50 χρόνια περίπου. Λίγο αργότερα, ο Denham Harman διατύπωσε την υπόθεση ότι οι ρίζες οξυγόνου μπορεί να παράγονται *in vivo* ως παραπροϊόντα των

βιολογικών αντιδράσεων. Το 1956, περιέγραψε ότι οι δραστικές ρίζες είναι υπεύθυνες για την κυτταρική βλάβη, τη μεταλλαξιογένεση, τον καρκίνο και τις εκφυλιστικές διεργασίες βιολογικής γήρανσης.

Η περίσσεια των δραστικών ριζών προκαλεί βλάβες στα κυτταρικά λιπίδια, τις πρωτεΐνες ή το DNA, αναστέλλοντας έτσι τη λειτουργία τους. Κατά συνέπεια, το οξειδωτικό stress ενοχοποιείται στην παθοφυσιολογία πολλών νοσημάτων καθώς και στη διεργασία της γήρανσης. Η λεπτή ισορροπία ανάμεσα στις ευεργετικές και τις βλαβερές δράσεις των δραστικών ριζών έχει ιδιαίτερη σημασία για τους ζώντες οργανισμούς και διαφυλάσσεται με μηχανισμούς γνωστούς ως «οξειδοαναγωγική ρύθμιση» (*redox regulation*).

Η οξειδοαναγωγική ρύθμιση διατηρεί την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση και προστατεύει τους ζώντες οργανισμούς από το οξειδωτικό stress. Σύμφωνα μάλιστα με ένα νέο ορισμό, που έχει πρόσφατα προταθεί, το οξειδωτικό stress μπορεί να οριστεί ως η διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ρύθμισης.

2.5 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS)

Η ελεύθερη ρίζα ορίζεται ως ένα άτομο ή μόριο με δυνατότητα αυτοδύναμης ύπαρξης, το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η έννοια του ασύζευκτου ηλεκτρονίου υποδηλώνει ότι ένα ηλεκτρόνιο κινείται μόνο του σε μία τροχιά, γύρω από τον πυρήνα του ατόμου, σε αντίθεση με το σύνηθες φαινόμενο της ύπαρξης δύο ηλεκτρονίων, σε κάθε τροχιά, τα οποία παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή ή spin (μαγνητική ροπή που δημιουργείται από την περιστροφή του ηλεκτρονίου γύρω από τον άξονά του). Η παρουσία ασύζευκτου ηλεκτρονίου προσδίδει στις ρίζες οξυγόνου ιδιαίτερη δραστικότητα και μπορούν είτε να δώσουν ένα ηλεκτρόνιο είτε να λάβουν ηλεκτρόνιο από άλλα μόρια, συμπεριφερόμενες έτσι ως οξειδωτικές ή αναγωγικές ουσίες. Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από το οξυγόνο αποτελούν τη σπουδαιότερη ομάδα ελευθέρων ριζών στους ζώντες οργανισμούς. Υπάρχουν όμως και κάποιες ενώσεις του οξυγόνου, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το μοριακό οξυγόνο, οι οποίες αν και δεν είναι ελεύθερες ρίζες συμπεριφέρονται όπως αυτές, επειδή χημικά είναι πολύ δραστικές και μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών.

2.5.1 Ανιόν του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$)

Η προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στο μοριακό οξυγόνο δημιουργεί την ελεύθερη ρίζα του ανιόντος του υπεροξειδίου. *In vivo*, το ανιόν του υπεροξειδίου παράγεται

τόσο ενζυμικά όσο και μη ενζυμικά. Τα μιτοχόνδρια φαίνεται να αποτελούν την κύρια κυτταρική πηγή. Στις ενζυμικές πηγές συμπεριλαμβάνονται οι NADPH οξειδάσες που εντοπίζονται στην κυτταρική μεμβράνη των πολυμορφοφυρήνων, των μακροφάγων και των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και οι εξαρτώμενες από το κυτόχρωμα P450 οξυγενάσες. Μια άλλη ενζυμική πηγή του ανιόντος του υπεροξειδίου και H_2O_2 (και κατά συνέπεια αποτελεί πηγή και του $\cdot OH$) αποτελεί η πρωτεολυτική μετατροπή της αναγωγάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης.

Η μη ενζυμική παραγωγή του ανιόντος του υπεροξειδίου γίνεται όταν μονήρες ηλεκτρόνιο μεταφέρεται άμεσα στο οξυγόνο είτε από αναχθέντα συνένζυμα είτε από προσθετικές ομάδες (π.χ. ομάδες σιδήρου, θείου) ή από ξενοβιοτικά, τα οποία προηγουμένως έχουν αναχθεί από ορισμένα ένζυμα. Η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων διαθέτει πολλά οξειδοαναγωγικά κέντρα, από τα οποία μπορούν να διαφύγουν ηλεκτρόνια προς το οξυγόνο συνιστώντας έτσι την κύρια πηγή ανιόντων υπεροξειδίου για τους περισσότερους ιστούς.

Ο ρυθμός παραγωγής του ρυθμίζεται από τη δράση των μαζών και έτσι αυξάνεται όταν μειώνεται η ροή των ηλεκτρονίων (και κατά συνέπεια αυξάνονται οι διαθέσιμοι δότες ηλεκτρονίων) αλλά και όταν αυξάνεται η συγκέντρωση του οξυγόνου. Ως πιθανές μιτοχονδριακές πηγές του O_2^- έχουν προταθεί συστατικά των αναπνευστικών συμπλόκων αλλά και μεμονωμένα ένζυμα. Το ανιόν του υπεροξειδίου παράγεται στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, στη θεμέλια ουσία αλλά και στις δύο πλευρές της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων.

Το ανιόν του υπεροξειδίου, το οποίο παράγεται είτε από τις μεταβολικές διεργασίες είτε από την ενεργοποίηση του οξυγόνου διά της φυσικής ακτινοβολίας, θεωρείται η κύρια ελεύθερη ρίζα οξυγόνου και μπορεί στη συνέχεια να αντιδράσει με άλλα μόρια και να οδηγήσει στη γένεση δευτερογενών δραστικών ριζών οξυγόνου είτε άμεσα, είτε κυρίως μέσω διεργασιών που καταλύονται από μέταλλα και ένζυμα.

2.5.2 Ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$)

Η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$) είναι ιδιαίτερα δραστική, με χρόνο ημιζωής *in vivo* περίπου 10^{-7} s. Συνεπώς, όταν παράγεται *in vivo*, αντιδρά πλησίον της θέσης σχηματισμού της. Η οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου συνδέεται στενά με τα οξειδοαναγωγικά ζεύγη σιδήρου και χαλκού. Η ρύθμιση του σιδήρου έχει ως στόχο την απουσία ελεύθερου σιδήρου στον ενδοκυττάριο χώρο. Παρόλα αυτά, υπό συνθήκες stress, η περίσσεια ριζών του ανιόντος του υπεροξειδίου ελευθερώνει σίδηρο από τις πρωτεΐνες που περιέχουν σίδηρο. Συνεπώς, υπό συνθήκες stress το

ανιόν του υπεροξειδίου ως οξειδωτική ουσία για τα μεταλλοένζυμα και διευκολύνει την παραγωγή $\cdot\text{OH}$ από το H_2O_2 , παρέχοντας ιόντα σιδήρου για την αντίδραση Fenton. Το $\text{O}_2^{\cdot-}$ συμμετέχει στην αντίδραση Haber-Weis ($\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$), η οποία συνδυάζει την αντίδραση Fenton με την αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου από το ανιόν του υπεροξειδίου προς δισθενή σίδηρο και μοριακό οξυγόνο ($\text{Fe}^{+3} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{Fe}^{+2} + \text{O}_2$).

Ο απελευθερούμενος σίδηρος μπορεί να συμμετάσχει στην αντίδραση Fenton (αντίδραση μεταξύ του H_2O_2 και των αλάτων σιδήρου), η οποία οδηγεί στην παραγωγή ιδιαίτερα δραστικών ριζών υδροξυλίου, ικανών να οξειδώσουν μεγάλο αριθμό οργανικών υποστρωμάτων. Πρέπει βέβαια να σημειωθεί, ότι η αντίδραση Fenton είναι γνωστό ότι συμβαίνει *in vitro*. Η σπουδαιότητά της υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν είναι σαφής, ιδιαίτερα εάν ληφθεί υπόψη η αμελητέα ποσότητα ελευθέρων ιόντων μετάλλων, τα οποία μπορούν να δράσουν καταλυτικά λόγω της επιτυχούς δέσμευσής τους από τις μεταλλοπρωτεΐνες.

Άλλες δραστικές ρίζες οξυγόνου που μπορούν να παραχθούν στους ζώντες οργανισμούς είναι οι ρίζες υπεροξειδίου $\text{ROO}\cdot$. Η απλούστερη ρίζα υπεροξειδίου είναι η $\text{HOO}\cdot$, η οποία είναι η πρωτονιωμένη μορφή του ανιόντος του υπεροξειδίου και είναι γνωστή ως ρίζα υδροϋπεροξειδίου και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Η ρίζα υδροϋπεροξειδίου είναι υπεύθυνη για την έναρξη της υπεροξειδωσής των λιπιδίων.

2.5.3 Δραστικές ρίζες του αζώτου

Η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ($\text{NO}\cdot$) αποτελεί ένα μικρό μόριο, το οποίο περιέχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και συνεπώς αποτελεί ελεύθερη ρίζα. Συντίθεται κατά την οξείδωση της L-αργινίνης προς κιτρουλίνη, με μια διεργασία που καταλύεται από τις συνθετάσες του NO (NOSs). Το NO αποτελεί σημαντικό μόριο μεταγωγής σήματος σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών διεργασιών, όπως η νευρομεταβίβαση, η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, η χάλαση των λείων μυϊκών ινών, η ανοσία. Μπορεί να μετατραπεί σε πολλές άλλες δραστικές ρίζες αζώτου, π.χ. NO^+ .

2.5.4 Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)

Η απευθείας αναγωγή του μοριακού οξυγόνου με δυο ηλεκτρόνια παράγει στα υπεροξεισωμάτια, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, ένα αδρανές στοιχείο, που όμως διαχέεται εύκολα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης (Παπαγεωργίου Γ., κ.ά., 2005).

Άλλος τρόπος παραγωγής τους είναι είτε η αυτόματη αντίδραση δυο μορίων σουπεροξειδίου, ή μέσω της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD). Το υπεροξείδιο του υδρογόνου δεν έχει ασύζευκτα ηλεκτρόνια, άρα δεν αποτελεί ελεύθερη ρίζα. Η σπουδαιότητα του όμως αφορά την εύκολη διάσπασή του στην δραστική υδροξυλική ρίζα (HO⁻).

2.5.5 Υπεροξειδική ρίζα (ROO⁻)

Η προσθήκη του μοριακού οξυγόνου σε οργανικές ελεύθερες ρίζες με κέντρο τον άνθρακα σχηματίζει υπεροξειδικές ρίζες. Διάφορα ιόντα και σύμπλοκα μετάλλων, όπως το Fe⁺² και Cu⁺ προκαλούν διάσπαση των υπεροξειδικών ριζών και παράγουν αλκοξυλικές ρίζες (RO⁻), ενώ περεταίρω διάσπαση δίνει την μαλονική διαλδεύδη που αποτελεί δείκτη της λιπιδικής υπεροξειδωσης και του οξειδωτικού stress (Botsoglu *et al.*, 1994; Grekas *et al.*, 1996).

2.6 Οξειδωτική βλάβη στα βιομόρια

2.6.1 Μηχανισμός δράσης ελεύθερων ριζών

Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι δυνητικά βλαπτικές για τα συστατικά του κυττάρου. Ενοχοποιούνται για εκτεταμένη οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων των μεμβρανών, του DNA, των πρωτεϊνών, καθώς και για υπεροξειδωση των λιποπρωτεϊνών. Η ρίζα υδροξυλίου αντιδρά με όλα τα συστατικά του μορίου του DNA, προκαλεί βλάβες στις βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης, αλλά και στο σκελετό δεοξυριβόζης. Η μόνιμη τροποποίηση του γενετικού υλικού από αυτή την οξειδωτική βλάβη αποτελεί το πρώτο βήμα στην καρκινογένεση, τη μεταλλαξιογένεση και τη γήρανση.

2.6.2 Επίδραση σε λιπίδια

Ιδιαίτερα ευάλωτα στην επίδραση των δραστικών ριζών οξυγόνου είναι τα υπολείμματα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, τα οποία χαρακτηρίζονται από μεγάλη ευαισθησία στην οξείδωση. Μόλις σχηματιστούν, οι ρίζες υπεροξειδίου μπορούν να μετατραπούν μέσω διεργασίας κυκλοποίησης σε ενδο-υπεροξείδια (πρόδρομες μορφές της μαλονδιαλδεύδης), ενώ τελικό προϊόν της υπεροξειδωσης αποτελεί η μαλονδιαλδεύδη (MDA).

Εκτός από τη μαλονδιαλδεΐδη, το άλλο κύριο προϊόν της υπεροξειδωσής των λιπιδίων είναι η αλδεΐδη 4-υδροξυ-2-νονενάλη (HNE). Η MDA έχει μεταλλαξιογόνο δράση στα κύτταρα των βακτηρίων και των θηλαστικών, ενώ είναι καρκινογόνος ουσία για τους επίμυες. Η HNE έχει ήπια μεταλλαξιογόνο δράση, αλλά φαίνεται να είναι το κύριο τοξικό προϊόν της υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Η οξείδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης προκαλεί διαταραχή της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα την απώλεια ουσιών μέσω αυτής (Schafer and Buettner, 2000).

2.6.3 Επίδραση σε πρωτεΐνες

Οι μηχανισμοί που συμμετέχουν στην οξείδωση των πρωτεϊνών από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου έχουν γίνει γνωστοί από μελέτες στις οποίες αμινοξέα, απλά πεπτίδια και πρωτεΐνες εκτέθηκαν σε ιονίζουσα ακτινοβολία υπό συνθήκες που οδήγησαν στο σχηματισμό ριζών υδροξυλίου ή μείγματος ριζών υδροξυλίου/ανιόντος υπεροξειδίου. Οι πλάγιες άλυστοι των αμινοξέων κυστεΐνης και μεθειονίνης είναι ιδιαίτερα ευάλωτες στην οξείδωση από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου/αζώτου. Η οξείδωση των υπολειμμάτων κυστεΐνης μπορεί να οδηγήσει σε αναστρέψιμο σχηματισμό μεικτών δισουλφιδίων ανάμεσα στις ομάδες θειόλης των πρωτεϊνών (-SH) και τις μικρού μοριακού βάρους θειόλες, ιδιαίτερα τη γλουταθειόνη.

Η συγκέντρωση των ομάδων καρβονυλίων, που παράγονται με πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς, αποτελούν καλό μέτρο της προκαλούμενης από τις ελεύθερες ρίζες οξείδωσης των πρωτεϊνών. Ιδιαίτερα ευαίσθητες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση των ομάδων καρβονυλίων των πρωτεϊνών.

2.6.4 Επίδραση σε νουκλεϊκά οξέα

Οι αζωτούχες βάσεις του DNA είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην επίδραση των ελεύθερων ριζών και το κύριο προϊόν είναι ο 8- υδροξυ-2-δεοξυγουανοσίδης (Kevin *et al.*, 2007). Η οξείδωση του DNA μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις, απαλοιφές και προσθήκες βάσεων, οι οποίες αφορούν τόσο το πυρηνικό όσο και το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό. Ειδικά το μιτοχονδριακό DNA, λόγω της εγγύτητας στους μηχανισμούς παραγωγής ενέργειας – και κατά συνέπεια και παραγωγής ελευθέρων ριζών- και της μικρότερης αναγεννητικής και επιδιορθωτικής του ικανότητας, είναι πιο ευαίσθητο στη βλαπτική επίδραση των ελευθέρων ριζών.

2.7 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Η συνεχής έκθεση στις βλαπτικές δράσεις των ελευθέρων ριζών έχει οδηγήσει τους οργανισμούς στην ανάπτυξη μιας σειράς προστατευτικών μηχανισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί αφορούν σε προληπτικούς μηχανισμούς, σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης, σε φυσικά μέτρα προστασίας και σε αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς.

Ως αντιοξειδωτικό μπορεί να χαρακτηριστεί οποιαδήποτε ουσία, η οποία, όταν είναι παρούσα σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες των υποστρωμάτων που πρόκειται να οξειδωθούν, καθυστερεί ή αναστέλλει την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων. Ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών, όπως προκύπτει από τον ορισμό, είναι η αποφυγή της βλάβης των κυτταρικών συστατικών, ως συνέπεια των χημικών αντιδράσεων από τις οποίες προκύπτουν ελεύθερες ρίζες και η διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης.

Τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε τρεις κύριες κατηγορίες: τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, τα αντιοξειδωτικά που διασπών τις αλυσιδωτές αντιδράσεις και τις πρωτεΐνες που δεσμεύουν τα μεταβατικά μέταλλα.

2.7.1 Αντιοξειδωτικά ένζυμα

Καταλύουν τη διάσπαση των ROS στο ενδοκυττάριο περιβάλλον.

2.7.2 Αναγωγή της γλουταθειόνης (GR)

Είναι μια φλαβοπρωτεΐνη, η δραστηριότητα της οποίας εξαρτάται από τη διαθέσιμη ποσότητα ενδοκυττάριας GSH και την ικανότητα των κυττάρων να χρησιμοποιήσουν τη GR για να ανάγουν την GSSG σε GSH (Halliwell and Gutteridge 1998). Τόσο η ενζυμική (διά των υπεροξειδασών της γλουταθειόνης) όσο και η μη ενζυμική αδρανοποίηση των ελευθέρων ριζών από την αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH) οδηγεί σε παραγωγή οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG).

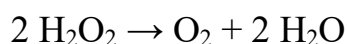
Η GSSG απομακρύνεται από το κύτταρο, με αποτέλεσμα μείωση της ολικής ενδοκυττάριας γλουταθειόνης. Προκειμένου η γλουταθειόνη να εκπληρώσει το ρόλο της ως αντιοξειδωτική ουσία, απαιτείται η διατήρηση υψηλής ενδοκυττάριας αναλογίας αναχθείσας (GSH) προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Αυτό επιτυγχάνεται με μια βιοχημική αντίδραση, η οποία εξαρτάται απόλυτα από τη

NADPH. Η δραστηριότητα της GR μπορεί να αυξηθεί με δύο μηχανισμούς: Αύξηση των επιπέδων/δραστηριότητας της GR ή αύξηση των επιπέδων NADPH.

2.7.3 Καταλάση (CAT)

Η καταλάση ανήκει στην κατηγορία των οξειδοοξειδοουκτασών ή οξειδοαναγωγασών πιο συγκεκριμένα στην υποκατηγορία των υπεροξειδασών. Οι οποίες χρησιμοποιούν ως δέκτη των αναγωγικών ισοδυνάμων το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Οι οξειδοαναγωγάσες (*Redox enzymes*) αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα ενζύμων που υπάρχουν στη φύση και καταλύουν αντιδράσεις οξειδώσεων και αναγωγών.

Η καταλάση απαντά στα αερόβια βακτήρια, στους μύκητες, στα κύτταρα των φυτών και των ζώων. Εντοπίζεται στα υπεροξεισώματα αλλά και στα μιτοχόνδρια της καρδιάς. Δεν ανευρίσκεται στα μιτοχόνδρια των κυττάρων άλλων ιστών. Απομονώνεται από μικροοργανισμούς (*Aspergillus*) φυτά, ήπαρ και αίμα. Το μοριακό της βάρος είναι μεγάλο, 225000-250000 και το βέλτιστο pH από 2 έως 7. Καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο σε δύο στάδια



Ένα μόριο καταλάσης μπορεί να μετατρέψει ένα εκατομμύριο μόρια υπεροξειδίου του υδρογόνου κάθε λεπτό. Ο προσδιορισμός της γίνεται είτε με τη μέτρηση του οξυγόνου που απελευθερώνεται μετά από τη δράση της για ένα ορισμένο χρόνο σε υπεροξειδίο του υδρογόνου κάτω από καθορισμένες συνθήκες είτε με τιτλοδότηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου που παραμένει αδιάσπαστο.

Η συγκέντρωση της καταλάσης στο γάλα θεωρείται χαμηλή σε σύγκριση με άλλες βιολογικές πηγές και παρουσιάζει ιδιαίτερη διακύμανση από την ατομικότητα του ζώου. Γενικά, το κανονικό γάλα περιέχει καταλάση επαρκή για να απελευθερώσει 5-20 ml οξυγόνο ανά 100 ml γάλακτος σε 2 ώρες στη θερμοκρασία των 25 °C. Ιδιαίτερα υψηλή παρουσιάζεται η περιεκτικότητά της στο πρωτόγαλα. Στο αποβουτυρωμένο γάλα η καταλάση ανευρίσκεται σε ποσοστό 40% σύμφωνα με την μελέτη των Lindmark-Manson *et al.*, (2000). Ενώ σε μη αποβουτυρωμένο σε ποσοστό 60% και αυτό οφείλεται, στη δέσμευσή της από την μεμβράνη των λιποσφαιριδίων με αποτέλεσμα να μην μπορεί να διαρρεύσει μέσα στο γάλα.

Κατά μέσο όρο η δραστηριότητα της καταλάσης στο ακατέργαστο γάλα παρατηρήθηκε ότι παρουσιάζει μια εποχική διακύμανση καθώς είναι υψηλότερη τον Απρίλιο σε σχέση με τον Νοέμβριο (Hirvi & Griffiths, 1998). Επιπλέον σύμφωνα με την μελέτη των (Kitchen *et al.*, 1970; Read *et al.*, 1969) η δραστηριότητα της καταλάσης παρουσίασε αύξηση σε δείγματα γάλακτος που το ζώο είχε προσβληθεί από μαστίτιδα σε σύγκριση με δείγματα γάλακτος από υγιές ζώο. Έτσι αποδεικνύεται ότι η δραστηριότητα της καταλάσης συσχετίζεται θετικά με την συγκέντρωση των σωματικών κυττάρων. Για το λόγο αυτό αποτελεί μέσο προσδιορισμού της ποιότητας του γάλακτος και ανίχνευσης προσβολών από μαστίτιδα. Ενώ, στη περίπτωση του παστεριωμένου γάλακτος η αύξησή της προσδίδεται στις κακές συνθήκες παστερίωσης (Εμ. Ανυφαντάκη).

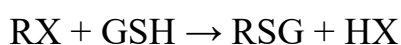
Η καταλάση είναι θερμοευαίσθητο ένζυμο και αδρανοποιείται σε θερμοκρασία 72 °C για 15s. (Ito & Akuzawa, 1983; Griffiths, 1986; Hirvi & Griffiths, 1998). Η φυσική καταλάση, που αποτελεί προϊόν των κυττάρων του μαστού, είναι πιο ευαίσθητη της μικροβιακής και σχεδόν αδρανοποιείται κατά την παστερίωση. Η θερμοκρασία αποτελεί σημαντικό ρόλο, γιατί το υπεροξειδίο του υδρογόνου που χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για την δράση της και αδρανοποιεί το ένζυμο σε ποσοστό που αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος και της θερμοκρασίας. Η άριστη θερμοκρασία για την δράση της είναι εκείνη των 37°C σε ουδέτερο περιβάλλον. Παρόλα αυτά όμως, εφικτή τιμή για τον προσδιορισμό της θεωρείται και εκείνη των 20-25 °C. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι δρα και σε χαμηλές θερμοκρασίες έως και μηδέν καθώς και σε μεγάλο εύρος pH, αν και οι πολύ όξινες και αλκαλικές δράσεις αποδείχθηκε ότι έχουν ανασχετική επίδραση. Ο προσδιορισμός της δράσεως της καταλάσης του γάλακτος γίνεται συνήθως στο pH του, χωρίς προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος.

Τέλος, σημαντική είναι η εφαρμογή της στην τεχνολογία των τροφίμων μαζί με την οξειδάση της γλυκόζης για τη διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου που σχηματίζεται από την οξειδάση. Χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση του H₂O₂ όταν αυτό προστίθεται ως συντηρητικό (στην επεξεργασία του γάλακτος για την παρασκευή τυριού) αλλά και για την αύξηση του οξυγόνου στην αερόβια ζύμωση, όπου το δεύτερο θεωρείται αντισυμβατικό.

2.7.4 Μεταφοράση της γλουταθειόνης (GSTs)

Οι s-μεταφοράσες του γλουταθείου (GSTs) είναι ένζυμα που συμμετέχουν στην αδρανοποίηση τοξικών ενδογενών ή εξωγενών ενώσεων (ηλεκτρονιόφιλες ενώσεις), μέσω της δημιουργίας ομοιοπολικού συμπλόκου μεταξύ αυτών και του γλουταθείου. Γενικά, οι s-μεταφοράσες του γλουταθείου είναι ευρέως διαδεδομένα

πολυλειτουργικά ένζυμα που βρίσκονται σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς και συμμετέχουν στο μηχανισμό της αποτοξίνωσης του κυττάρου αδρανοποιώντας εξωγενείς ή ενδογενείς τοξικούς παράγοντες (Hayes *et al.*, 2005). Στη συνέχεια παρουσιάζεται το γενικό σχήμα της αντίδρασης που καταλύουν. Συγκεκριμένα καταλύουν την νουκλεόφιλη προσβολή του τριπεπτιδίου γλουταθείου (GSH: γ -Glu-Cys-Gly) στο ηλεκτρονιόφιλο κέντρο (R) (θείου, αζώτου, άνθρακα) διαφόρων ενδογενών και ξενοβιοτικών ενώσεων (π.χ. φαρμάκων, φυτοφαρμακευτικών προϊόντων) (Chronopoulou *et al.*, 2012), σχηματίζοντας υδατοδιαλυτά σύμπλοκα με τη GSH σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση (Armstrong, 1997), όπου R μπορεί να είναι μια αλειφατική, αρωματική, ετεροκυκλική ή εποξειδική ομάδα και το X ποικιλία ανόργανων και οργανικών ομάδων:



Το προϊόν της αντίδρασης RSG είναι περισσότερο υδρόφιλο, μη τοξικό και αποβάλλεται ευκολότερα από το κύτταρο (Flora, 2006). Οι GSTs είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος ένζυμα για φαρμακολογικούς και τοξικολογικούς λόγους εφόσον αποτελούν στόχους για αντιασθματικές και κατά των όγκων θεραπείες (Evans *et al.*, 1991 ; Matsyshita *et al.*, 1998; Jakobsson *et al.*, 1999; Ruscoe *et al.*, 2001). Επίσης μεταβολίζουν χημειοθεραπευτικούς παράγοντες κατά του καρκίνου, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, καρκινογόνους παράγοντες και παραπροϊόντα του οξειδωτικού stress (Hayes *et al.*, 2005).

Η έκφραση των GSTs ρυθμίζεται θετικά με την έκθεση σε προοξειδωτικά σε θηλαστικά, ψάρια, φυτά, έντομα και μικροοργανισμούς (Desikan *et al.*, 2001; Kobayashi *et al.*, 2002; Veal *et al.*, 2002; Allocati *et al.*, 2003; Blackwell, 2003; Leiers *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2003). Η αύξηση της έκφρασης των GSTs παρατηρείται σε ζώα τα οποία υφίστανται παρατεταμένη αδράνεια ή λήθαργο σε σύγκριση με την έκφραση των εν λόγω ενζύμων σε κατάσταση εγρήγορσης των ζώων αυτών (Grundy and Storey, 1998). Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι η επαγωγή της έκφρασης των GSTs είναι μια εξελικτικά συντηρημένη αντίδραση των κυττάρων στο οξειδωτικό stress (Hayes *et al.*, 2005).

Οι GSTs διακρίνονται δομικά σε τέσσερις κατηγορίες: τις κυτταροπλασματικές, τις μιτοχονδρικές της τάξης κ, τις μεμβρανικές μικροσωματικές και τις GSTs που προσδίδουν ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό φωσφομυκίνη (Armstrong, 1997; Chronopoulou and Labrou, 2009).

Επιπρόσθετα μια άλλη λειτουργία των GSTs είναι η προστασία των κυττάρων από τις βλάβες που επιφέρει η οξειδωτική καταπόνηση. Αρκετά ένζυμα GSTs έχουν βρεθεί να έχουν δράση υπεροξειδωσης του γλουταθείου έναντι οργανικών υδρουπεροξειδίων λιπαρών οξέων που παράγονται κατά τον οξειδωτικό τραυματισμό (Bartling *et al.*, 1993; Board *et al.*, 1997; Roxas *et al.*, 1997; Cummins *et al.*, 1999). Όπου τα ένζυμα αυτά ανάγουν οργανικά υδροϋπεροξειδία λιπαρών οξέων, τα οποία απελευθερώνονται κατόπιν οξειδωτικής βλάβης των μεμβρανών, στις αντίστοιχες μονοδρόξυ-αλκοόλες, χρησιμοποιώντας γλουταθείο ως δότη ηλεκτρονίου σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



2.7.5 Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η οποία καταλύει τη μετατροπή ανιόντων υπεροξειδίου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ($2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$), αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά ενδοκυττάρια ενζυμικά συστήματα. Αν και το ένζυμο αυτό απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1939, μόλις το 1969 οι McCord και Fridovich απέδειξαν την αντιοξειδωτική δράση της SOD.

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου απαντά σε αρκετές ισομορφές, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη φύση του μετάλλου του ενεργού κέντρου, τη σύνθεση των αμινοξέων, καθώς και τον αριθμό των υπομονάδων, τους συμπαράγοντες και άλλα χαρακτηριστικά.

Το γάλα περιέχει χαμηλά επίπεδα δισμουτάσης του υπεροξειδίου. Η δισμουτάση του υπεροξειδίου διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην σταθερότητα του λίπους του γάλακτος έναντι στην οξείδωση που υφίσταται. Η τάση του λίπους του γάλακτος προς οξείδωση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου (Whitaken, Voragen, Wong, Handobook of enzymology pp 294-295).

Στον άνθρωπο απαντούν τρεις μορφές SOD, η κυτταροπλασματική CuZn-SOD, η μιτοχονδριακή MnSOD και η εξωκυττάρια SOD. Η SOD καταστρέφει τις O_2^- με απίστευτα υψηλές ταχύτητες αντίδρασης με τη διαδοχική οξείδωση και την αναγωγή του μετάλλου του ενεργού κέντρου.

Η CuZnSOD είναι ένα ένζυμο με μοριακό βάρος περίπου 32 kDa, το οποίο αποτελείται από δύο ταυτόσημες υπομονάδες. Φέρει στο ενεργό κέντρο ιόντα χαλκού

και ψευδαργύρου και η ενζυμική της δραστηριότητα είναι σχετικά ανεξάρτητη από το pH στο εύρος 5–9,5. Εκτός από το κυτταρόπλασμα απαντά και στο διάμεσο χώρο των μιτοχονδρίων.

Η MnSOD είναι ένα ομοτετραμερές, με μοριακό βάρος 95 kDa, το οποίο περιέχει από ένα άτομο μαγγανίου στο ενεργό κέντρο κάθε υπομονάδας. Απαντά στη θεμέλια ουσία των μιτοχονδρίων, όπου και απομακρύνει τις ρίζες O_2^- που σχηματίζονται τόσο στη θεμέλια ουσία όσο και στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων.

Η εξωκυττάρια SOD είναι μια τετραμερής γλυκοπρωτεΐνη, η οποία φέρει χαλκό και ψευδάργυρο στο ενεργό κέντρο και έχει υψηλή συγγένεια για ορισμένες γλυκοζαμινογλυ-κάνες, όπως η ηπαρίνη και η θειική ηπαράνη. Η ρύθμισή της στους ιστούς των θηλαστικών φαίνεται να διενεργείται από τις κυτταροκίνες και όχι από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου.

Ένα νέο συνένζυμο SOD, το οποίο περιέχει νικέλιο στο ενεργό κέντρο (Ni-SOD), απομονώθηκε πρόσφατα στο *Streptomyces* και στα κυανοβακτήρια. Η Ni-SOD είναι μια μικρή πρωτεΐνη, που αποτελείται από 117 αμινοξέα και δεν εμφανίζει ομολογία με τις άλλες SOD.

2.7.6 Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPxs)

Η δραστηριότητα υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης αναγνωρίστηκε από τον Mills το 1957 και αποδόθηκε το 1973 σε ένα σεληνοένζυμο από τους Flohe *et al.*, και Rotruck *et al.*, Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο μορφές του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. η μία μορφή εξαρτάται από το σελήνιο GPxs, ενώ η άλλη είναι ανεξάρτητη του σεληνίου (glutathione S-transferase GST). Αυτές οι δύο μορφές διαφέρουν ως προς τον αριθμό των υπομονάδων, τη φύση του δεσμού με το σελήνιο στο ενεργό κέντρο, καθώς και ως προς τους μηχανισμούς κατάλυσης. Σήμερα είναι πλέον γνωστές τέσσερις διαφορετικές GPxs (GPxs1-4) στα θηλαστικά, φέρουν όλες στην ενεργό θέση κυστεΐνη συνδεδεμένη με σελήνιο και συνεπώς η δράση τους εξαρτάται από την επάρκεια της τροφής σε σελήνιο. Για την αντιμετώπιση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων δρουν συνεργετικά τρία ένζυμα η SOD, CAT και η GPx. Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου ή των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων, χρησιμοποιώντας ως αναγωγική ουσία τη γλουταθειόνη ($2GSH+H_2O_2 \rightarrow GSSG+2H_2O$). Αν και η αναγωγή του H_2O_2 γίνεται και από την καταλάση, τα σχετικά επίπεδα GPxs και καταλάσης διαφέρουν από ιστό σε ιστό. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι ο εγκέφαλος

έχει πολύ χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας καταλάσης και υψηλά επίπεδα δραστηριότητας GPxs, ενώ το ήπαρ έχει υψηλά επίπεδα και των δύο ενζύμων. Τέλος, δεδομένου ότι η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης έχουν κοινό στόχο την απομάκρυνση του υπεροξειδίου του υδρογόνου δημιουργείται το ερώτημα ποια είναι πιο δραστική. Έπειτα από μελέτες διαπιστώθηκε ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις H₂O₂ στους ιστούς είναι πιο δραστική η καταλάση ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις του H₂O₂ η GPx (Jenkins *et al.*,1993).

2.7.7 Λακτοϋπεροξειδάση (LPO)

Η λακτοϋπεροξειδάση είναι μία οξειδάση που παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση στο γάλα παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων H₂O₂ και SCN⁻. Η αντιμικροβιακή δράση του συστήματος αυτού ενισχύεται και από την δράση του ενζύμου ξανθίνη- οξειδάση. Η λακτοϋπεροξειδάση είναι ανθεκτική στη παστερίωση του γάλακτος αλλά καταστρέφεται σε υψηλότερες συνθήκες θέρμανσης. Χρησιμοποιείται ως δείκτης θερμικής επεξεργασίας σε συνθήκες εντονότερες από αυτές της παστερίωσης. Είναι το ένζυμο με την υψηλότερη συγκέντρωση στο γάλα και αποτελεί περίπου 0,5 % των πρωτεϊνών του ορού (περίπου 0,1% των συνολικών πρωτεϊνών)

2.7.8 Ένζυμο της οδού της φωσφορικής πεντόζης

Καταλύουν τις βιοχημικές αντιδράσεις της μεταβολικής οδού της φωσφορικής πεντόζης, η οποία αποτελεί την κύρια ενδοκυττάρια πηγή της NADPH.

2.7.9 Υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης και αναγωγή της θειορεδοξίνης.

Η υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης ανάγει τόσο το H₂O₂ όσο και τα αλκυλ-υδροϋπεροξείδια σε συνδυασμό με την αναγωγή της θειορεδοξίνης, τηθειορεδοξίνη και τη NADPH.

2.7.10 Συνένζυμο Q

Αποτελεί πηγή ανιόντων υπεροξειδίου όταν είναι μερικώς αναχθέν υπό τη μορφή της ημικινόνης, ενώ έχει αντιοξειδωτική δράση όταν έχει αναχθεί πλήρως.

2.7.11 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση

Όταν μια δραστική ρίζα αντιδρά με ένα μόριο παράγονται δευτερογενείς ρίζες, οι οποίες στη συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με άλλους στόχους προς παραγωγή ακόμη περισσότερων ριζών. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί η αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξειδωσίας των λιπιδίων, η οποία συνεχίζεται έως ότου δύο ρίζες ενωθούν προς σταθερό προϊόν ή εξουδετερωθούν από τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά.

Τα λιποδιαλυτά και τα υδατοδιαλυτά μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση είναι μικρά μόρια, π.χ. γλουταθειόνη, βιταμίνη E, που μπορούν να λάβουν ηλεκτρόνιο από μια ρίζα ή να δώσουν ηλεκτρόνιο προς σχηματισμό σταθερών παραπροϊόντων.

Η αντίδραση οδηγεί σε οξείδωση του αντιοξειδωτικού, το οποίο πρέπει να αναγεννηθεί ή να αντικατασταθεί. Εξ' ορισμού, η αντιοξειδωτική ρίζα είναι σχετικά αδρανής και δεν μπορεί να αντιδράσει με άλλα μόρια.

2.7.12 Γλουταθειόνη

Η γλουταθειόνη, ένα τριπεπτίδιο με αναγωγικές και νουκλεόφιλες ιδιότητες, αποτελεί την κύρια αντιοξειδωτική θειόλη και τον κύριο ρυθμιστή της ενδοκυττάριας οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης. Απαντά είτε ως αναχθείσα (GSH) είτε ως οξειδωμένη (GSSG) μορφή και συμμετέχει στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις μέσω της αναστρέψιμης οξείδωσης της ενεργού θειόλης της. Ο λόγος GSH/GSSG αποτελεί αξιόπιστο μέτρο του οξειδωτικού stress ενός οργανισμού.

Σε κύτταρα που δεν έχουν υποβληθεί σε stress, το μεγαλύτερο μέρος (99%) αυτού του οξειδοαναγωγικού ρυθμιστή βρίσκεται σε αναχθείσα μορφή. Η γλουταθειόνη συντίθεται στο κυτταρόπλασμα από τα αμινοξέα L-γλουταμικό, L-κυστεΐνη και γλυκίνη σε δύο διαδοχικά βήματα, που καταλύονται από τα ένζυμα συνθετάση του διπεπτιδίου γ-γλουταμυλ-κυστεΐνη (Gsh1) και συνθετάση της γλουταθειόνης (Gsh1).

Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση της γλουταθειόνης κυμαίνεται ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και απαντά σε αφθονία στο κυτταρόπλασμα (0,5–11 mM), στον πυρήνα (3–15 mM) και στα μιτοχόνδρια (5–11 mM), όπου αποτελεί και την κύρια διαλυτή αντιοξειδωτική ουσία. Στον πυρήνα, η γλουταθειόνη διατηρεί την

οξειδοαναγωγική κατάσταση των πρωτεϊνών που φέρουν σουλφυδρυλικές ομάδες και είναι απαραίτητες για την επιδιόρθωση και την έκφραση του DNA.

Οι κύριες προστατευτικές δράσεις της γλουταθειόνης στο οξειδωτικό stress είναι οι εξής:

- Η γλουταθειόνη δρα ως συνένζυμο πολυάριθμων ενζύμων που συμμετέχουν στην προστασία του κυττάρου, όπως υπεροξειδάσες γλουταθειόνης, τρανσφεράσες γλουταθειόνης, τρανσφεράσες θειόλης, αφυδρογονάση φορμαλδεϋδης, γλυοξαλάση

- Συμμετέχει στη μεταφορά αμινοξέων διά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

- Δεσμεύει άμεσα τη ρίζα υδροξυλίου και το μονήρες οξυγόνο και εξουδετερώνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου και τα υπεροξείδια των λιπιδίων με την καταλυτική δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης

- Έχει την ικανότητα να επαναφέρει στην ενεργό μορφή τις σημαντικές αντιοξειδωτικές ουσίες, βιταμίνη C και βιταμίνη E, άμεσα ή έμμεσα. Η ικανότητα αυτή της γλουταθειόνης καθορίζεται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του ζεύγους GSH/2GSSG.

2.7.13 Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E είναι λιποδιαλυτή και απαντά σε οκτώ διαφορετικές μορφές. Η α-τοκοφερόλη είναι η πλέον δραστική μορφή της βιταμίνης E και αποτελεί ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία. Αποταμιεύεται στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό. Οι σημαντικότερες πηγές της είναι η χλωρά νομή, τα έμβρυα των δημητριακών καρπών και τα ελαιούχα σπέρματα.

Η κύρια αντιοξειδωτική της δράση αφορά στην προστασία κατά της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Προσλαμβάνει το οξυγόνο από το υπεροξείδιο του υδρογόνου ή από τις ελεύθερες ρίζες ή από τα υπεροξείδια, με αποτέλεσμα, αφενός μεν, να αποτρέπει την αυτοοξειδωση των ΑΚΛΟ των λιπιδίων των βιολογικών μεμβρανών, αφετέρου δε, να προστατεύει τις SH-ομάδες των πρωτεϊνών από οξείδωση. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζει την ακεραιότητα των βιολογικών μεμβρανών και μέσω αυτής, τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και των ιστών. Επιπλέον, φαίνεται ότι το ασκορβικό οξύ και η βιταμίνη E λειτουργούν μαζί ως

αντιοξειδωτικές ουσίες σε μια κυκλικού τύπου αντίδραση (Richter *et al.*, 1987; Buettner *et al.*, 1993; Gutteridge *et al.*, 1995).

2.7.14 Καροτινοειδή

Πρόκειται για χρωστικές, που απαντούν στα φυτά και σε μικροοργανισμούς, αλλά δεν συντίθενται από τα ζώα. Ευθύνονται για το ερυθρό, το κίτρινο και το πορτοκαλί χρώμα των φρούτων και των λαχανικών. Στη φύση απαντούν περίπου 600 καροτινοειδή και ταξινομούνται στα καροτίνη, τα ξανθόφιλα (περιέχουν οξυγόνο) και το λυκοπένιο (Edge *et al.*, 1997).

2.7.15 Μεταλλοθειονίνες

Φαίνεται ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση ανάμεσα στα ιόντα μετάλλων και στην αντίσταση στο οξειδωτικό stress. Αυτή η συσχέτιση ερμηνεύεται βιολογικά με βάση το ρόλο των ιόντων μετάλλων, ιδίως του Cu^{+2} και του Zn^{+2} , στην παραγωγή οξειδωτικών ουσιών. Οι μεταλλοθειονίνες είναι μια ομάδα μικρών πρωτεϊνών, πλούσιων σε κυστεΐνη, οι οποίες έχουν την ιδιότητα να συνδέουν διαφορετικά ιόντα μετάλλων. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν ιδιαίτερη σημασία στην αντιμετώπιση της τοξικότητας των μετάλλων, όπως ο Cu.

2.8 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ENZYMΩΝ

2.8.1 Πηγές αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον τρόπο παραγωγής τους, διακρίνονται σε φυσικά και συνθετικά. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά έχουν πρόσφατα κερδίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, αφού υπάρχει η πεποίθηση ότι είναι καλύτερα και πιο υγιεινά από τα συνθετικά (Yanishlieva *et al.*, 2001; Artajo *et al.*, 2006).

Στην κατηγορία των βιολογικών αντιοξειδωτικών περιλαμβάνεται η βιταμίνη E, η οποία αποτρέπει την αυτοοξείδωση των ΑΚΛΟ των λιπιδίων των βιολογικών μεμβρανών εξασφαλίζοντας έτσι την φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και των

ιστών. Οι τοκοφερόλες προστατεύουν βιολογικά συστήματα όπως κύτταρα ή όργανα από βλάβες οι οποίες προκαλούνται από την έκθεσή τους σε συνθήκες αυξημένου stress (Γάλαρης και Δούλιας, 2001). Επίσης, ανήκει και η βιταμίνη C, όπου σταθεροποιεί τα οξειδοαναγωγικά συστήματα των κυττάρων και σε συνεργασία με την βιταμίνη E προστατεύει τα κύτταρα από την οξειδωτική καταστροφή που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες.

Επιπρόσθετα στην παραπάνω κατηγορία ανήκουν οι πολυφαινόλες και τα καροτενοειδή. Όσον αφορά την δράση των φαινολικών αντιοξειδωτικών, αυξάνεται όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό καλείται συνέργεια ή συνεργισμός και χρησιμοποιείται για την συντήρηση των φυσικών λιπών (Μπόσκου, 1997). Τα καροτενοειδή δρουν ως αποσβέστες διεγερμένου οξυγόνου.

2.8.2 Βιταμίνη E, σελήνιο (Se)

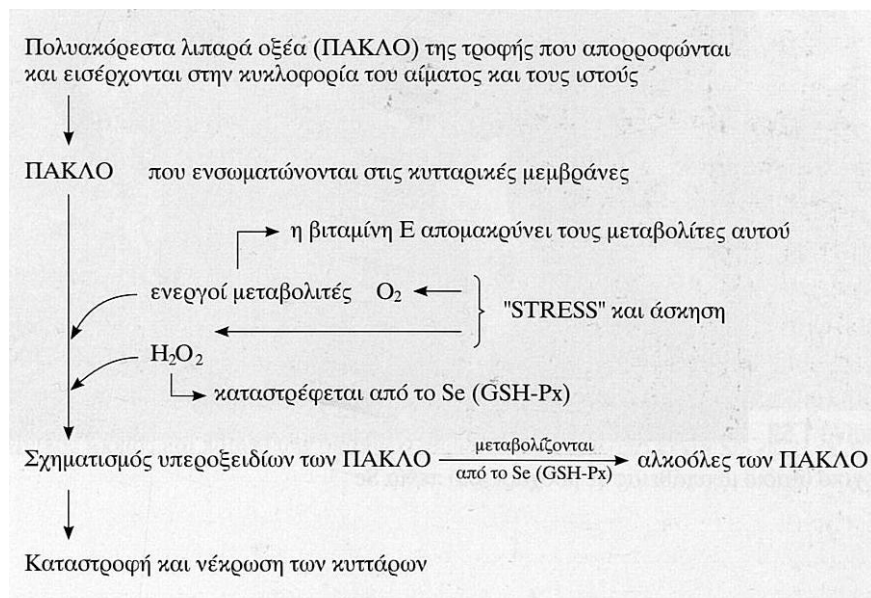
Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη και ασκεί τον φυσιολογικό της ρόλο κυρίως ως βιολογικό αντιοξειδωτικό. Οι σημαντικότερες πηγές της, είναι η χλωρά νομή (τα φύλλα έχουν περισσότερη από ότι τα στελέχη), τα έμβρυα των δημητριακών καρπών και τα ελαιούχα σπέρματα. Τα ζωικής προέλευσης προϊόντα είναι πτωχά σε βιταμίνη E και η περιεκτικότητά τους εξαρτάται από το επίπεδό της στο σιτηρέσιο.

Μαζί με το Se-ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης προστατεύουν τα κύτταρα από την οξειδωτική καταστροφή που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Η βιταμίνη E προσλαμβάνει το O_2 από το H_2O_2 ή από τις ελεύθερες ρίζες ή από τα υπεροξειδία, με αποτέλεσμα να αποτρέπει την αυτοοξείδωση των ΑΚΛΟ των λιπιδίων των βιολογικών μεμβρανών (Ciooiciu *et al.*, 2007). Για το λόγο αυτό στη μελέτη των Ibrahim *et al.*,(1999) πρότειναν μια αυξημένη ποσότητα συμπληρωμάτων βιταμίνης E για να ανασταλεί η κυτταρική υπεροξειδωση των λιπιδίων των ΑΚΛΟ.

Επιπρόσθετα η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E με το σιτηρέσιο, στα ζώα παρέχει προστασία έναντι των προσβολών από παθογόνους μικροοργανισμούς. Σύμφωνα με την μελέτη των Rizzo *et al.*,(2008) η χορήγηση φαρμακολογικών δόσεων βιταμίνης E μπορεί να μειώσει τους δείκτες πλάσματος του οξειδωτικού στρες και να διαφοροποιήσει τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Επιπλέον παρατηρήθηκε από τους Bernier-Dodier *et al.*, (2010), ότι η άπαξ ημερήσια άμελξη προκαλεί αυξημένη απόπτωση των μαστικών κυττάρων και παραδόξως και πολλαπλασιασμό τους. Αυτή η απόπτωση, μπορεί να δημιουργήσει κατάσταση οξειδωτικού στρες, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ελεύθερων ριζών οξυγόνου, που

συσχετίζεται με την βλάβη των ιστών. Πράγματι, Lauzon *et al.*,(2005) πρότειναν ότι τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι αποτελεσματικά εργαλεία για την προστασία του μαστικού ιστού έναντι των ουδετερόφιλων που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες.

Το Se αποτελεί βασικό συστατικό του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης μαζί με την δισμουτάση του υπεροξειδίου, την καταλάση, την βιταμίνη E και άλλες ενώσεις αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας των κυττάρων των θηλαστικών έναντι οξειδωτικών παραγόντων, διακόπτοντας την παραγωγή των ελεύθερων ριζών από τα υδρουπεροξειδία. Οι λειτουργικές σχέσεις μεταξύ σεληνίου και βιταμίνης E φαίνονται στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα 1. Ζέρβας, Γ.Π.,2005. Φυσιολογία Θρέψης Παραγωγικών Ζώων, Κεφ.1, Εκδόσεις, Σταμούλη.

Η χαμηλή περιεκτικότητα των ζωοτροφών σε σεληνίου ή σε βιταμίνη E με την ταυτόχρονη παρουσία ΑΚΛΟ, που δίνουν εύκολα υπεροξειδία των λιπιδίων, είναι τα αίτια που προκαλούν το σοβαρό νόσημα των μηρυκαστικών μυϊκή δυστροφία ή νόσος των λευκών μυών.

2.8.3 Βιταμίνη C

Η βιταμίνη C γνωστή και ως β-ασκορβικό οξύ, είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη η οποία συντίθεται στον οργανισμό των ζώων από την d-γλυκόζη. Αποτελεί

ισχυρό αντιοξειδωτικό (Lu and Liu, 2002), και έχει την ικανότητα να αναγεννά την βιταμίνη E από τη ριζική της μορφή (Benzie *et al.*, 1999), και να επαναφέρει τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες (Niki *et al.*, 1985; Lee and Dabrowski, 2003; Huang and May, 2003).

Σύμφωνα με την μελέτη των Judge *et al.* (2008), η προσθήκη βιταμίνης C και E προκαλεί μείωση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, της οξειδωσης των πρωτεϊνών και των επιπτώσεων των παραπάνω προστατεύοντας τους ιστούς από το οξειδωτικό στρες, που προκύπτει από την πρόσληψη ΠΑΚΛΟ. Συγκεκριμένα στην έρευνα των Shireen *et al.*, (2008), αποδεικνύουν πως η επίδραση των αυξημένων επιπέδων της βιταμίνης C, E αλλά και ο συνδυασμός τους με σογιέλαιο δρα σημαντικά στις αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των ενζύμων, αποτρέποντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων.

Στο πείραμα που πραγματοποίησαν σε ποντίκια, τα οποία διατρέφονταν με προσθήκη βιταμινών E,C ξεχωριστά αλλά και με τον συνδυασμό τους με σογιέλαιο παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάσης (CAT), ρεδουκτάσης της γλουταθειόνης (GR) και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx). Όσον αφορά το ένζυμο δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση με την προσθήκη των βιταμινών ή τον συνδυασμό τους με αποτέλεσμα να μην γίνει κάποια βελτίωση στους οξειδωτικούς παράγοντες (Otto- Duessel *et al.*, 2007; Mittal and Flora, 2007). Στο ίδιο αποτέλεσμα κατέληξαν και Shireen *et al.*, (2008) αλλά και Mentha *et al.*, (1999) όπου απέδειξαν ότι η δραστηριότητα του ενζύμου SOD στην ομάδα επέμβασης με την προσθήκη των δυο βιταμινών, ήταν παρόμοια η τιμή της, με την ομάδα του μάρτυρα.

Επιπλέον, σημαντικό είναι να αναφερθεί πως η ενεργότητα των ενζύμων καταλάσης, ρεδουκτάσης της γλουταθειόνης και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης δεν παρουσίασαν κάποια μεταβολή στην προσθήκη βιταμινών στο σιτηρέσιο τους σε ορισμένα είδη ζώων σύμφωνα με τους Ibrahim *et al.*, (1997), Gadenas *et al.*, (1995), Rojas *et al.*, (1996). Ωστόσο, στην περίπτωση των ινδικών χοιριδίων παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων καταλάσης και δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Suresh *et al.*, 1999; Reddy and Lokesh, 1994).

Συμπερασματικά, η προσθήκη βιταμίνης E,C στο σιτηρέσιο έχει σημαντική επίδραση στην δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, αλλά ο συνδυασμός τους αποδεικνύεται ότι επηρεάζει περισσότερο θετικά την δράση τους μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών που συσχετίζονται με το οξειδωτικό στρες.

2.8.4 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες είναι μία ομάδα χημικών ουσιών που βρίσκονται στα φυτά. Οι ταννίνες, οι λιγνίνες και τα φλαβονοειδή είναι υποκατηγορίες των πολυφαινολών (Watson *et al.*, 2013). Ένα πολυφαινολικό αντιοξειδωτικό είναι ένας τύπος αντιοξειδωτικού που περιέχει μία πολυφαινολική δομή. Σε σχέση με την ανθρώπινη υγεία αυτές οι ενώσεις, που απαριθμούν πάνω από 4000 διαφορετικά είδη, θεωρούνται σημαντικές για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες, ένα σύνδρομο που είναι η αιτία για κάποιες νευροεκφυλιστικές ασθένειες και καρδιοπάθειες.

Η κύρια πηγή για τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά είναι η διατροφή, μιας και οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε ποικιλίες τροφίμων που περιέχουν φυτοθρεπτικά συστατικά. Τα περισσότερα ελαιούχα σπέρματα, όσπρια, φρούτα (όπως μήλα, μούρα, πεπόνι, κεράσια, βακκίνια, σταφύλια, αχλάδια, δαμάσκηνα, βατόμουρα, και φράουλες), και λαχανικά (όπως μπρόκολο, λάχανο, σέλινο, κρεμμύδι και μαϊντανός) είναι πλούσια σε πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά.

Τα σπέρματα του σησαμιού περιέχουν όπως έχει προαναφερθεί φυτοχημικές ουσίες με ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως λιγνάνες (σησαμίνη και σησαμινόλη) (Ikeda *et al.*, 2013). Η σησαμίνη και η σησαμινόλη ασκούν σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητα των σπερμάτων σησαμιού (Xu *et al.*, 2005). Πολλές μελέτες που έχουν διεξαχθεί με αυτές έχουν δείξει ότι δρουν προστατευτικά στον οργανισμό (Hsu *et al.*, 2008; Ide *et al.*, 2009; Mohdaly *et al.*, 2011; Yeo *et al.*, 2011). Ακόμα πλήθος μελετών έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση σπερμάτων σησαμιού το οποίο περιέχει τις παραπάνω λιγνάνες έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης στο πλάσμα και την ενίσχυση της δράσης της βιταμίνης E. Καθώς και την μείωση της δράσης του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) το οποίο σχετίζεται με την υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (Kato *et al.*, 1998; Ikeda *et al.*, 2003).

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να εξολοθρεύουν τις ελεύθερες ρίζες και να ανάγουν ορισμένες χηλικές αντιδράσεις: τα δραστικά ιόντα που περιέχουν οξυγόνο (ελεύθερες ρίζες) πρέπει να αφαιρούνται από τα κύτταρα συνεχώς για να διατηρηθεί ο σωστός μεταβολισμός. Η ύπαρξη μιας πληθώρας από πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν:

Να μειώσουν τις φλεγμονώδεις επιδράσεις, όπως της στεφανιαίας νόσου, και να βελτιώσουν την υγεία των ενδοθηλίων περιορίζοντας την οξείδωση την χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL).

Να συμβάλλουν στην πρόληψη του καρκίνου – οι πολυφαινόλες που αναφέρονται για την πρόληψη του καρκίνου είναι η κατεχίνη επιγαλλοκατεχίνη γαλλικού εστέρα.

Να καθυστερήσουν την διαδικασία της γήρανσης.

Να προστατεύσουν τις λιπομεμβράνες των κυττάρων, τις πρωτεΐνες και το DNA ως εξολοθρευτές ριζών οξυγόνου και αζώτου.

Να δράσουν ως δεσμευτές μεταλλικών ιόντων (π.χ. σίδηρος), τα οποία ορισμένες φορές ευθύνονται για τη δημιουργία των ελεύθερων ριζών.

Να προκαλέσουν την αναγέννηση της βιταμίνης E (Χίου ,2003).

Τέλος, φυτά που είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά (πολυφαινόλες), μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διατροφή των ζώων ως προστατευτικά από μεταβολικές ασθένειες (π.χ. κέτοση).

2.8.5 Βοσκή

Η βοσκή είναι πλούσια σε βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) και βιταμίνη A (β-καροτίνη). Οι παραπάνω βιταμίνες δεν συντίθενται στον οργανισμό των ζώων και η παρουσία τους στο γάλα αλλά και στα γαλακτοκομικά προϊόντα προκύπτει από την διατροφή των ζώων (Elgersma *et al.*, 2006; Slots *et al.*,2009). Όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως η βιταμίνη E και A ενεργούν ως βιολογικά ισχυρά αντιοξειδωτικά περιορίζοντας τις δράσεις των ελεύθερων ριζών (Lindmark-Mansson *et al.*, 2000) αποτρέποντας την διαδικασία της οξείδωσης (Noziere *et al.*, 2006; Olsen, 1996).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατανάλωση βοσκής από τα ζώα καθώς,τα θρεπτικά συστατικά της περνάνε στο γάλα, ενισχύοντάς το με πολυακόρεστα λιπαρά οξέα DHA (Glover *et al.*, 2012) και CLA (Chilliard *et al.*, 2001). Επίσης άλλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση του γάλακτος ως προς τις λιποδιαλυτές βιταμίνες, είναι η βοτανική σύνθεση των βοσκοτόπων, η ωριμότητα των φυτών, ο χρόνος βόσκησης και η εποχή (Marino *et al.*, 2012; Noziere *et al.*, 2006). Σύμφωνα με την μελέτη των Ballet *et al.*,(2000), αποδεικνύεται ότι η φυλλώδης βλάστηση επηρεάζει τη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης και β-καροτινίου καθώς περιέχει υψηλά επίπεδα και των δυο. Τα ψυχανθή αποτελούν καλύτερες πηγές β-καροτινίου σε σύγκριση με την χορτονομή. Ακόμη, οι Agabriel *et al.*, (2007) και οι Ellis *et al.*, (2007) επιβεβαιώνουν ότι το γάλα που προέρχεται από αγελάδες που διατρέφονταν με χλωρά νομή είναι πλουσιότερο σε βιταμίνες E,A σε σχέση με ζώα που εκτρέφονταν εντατικά και κατανάλωναν ενσιρωμένες ζωοτροφές. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι ενσιρωμένες ζωοτροφές περιέχουν λιγότερα αντιοξειδωτικά λόγω του μαρασμού και της ενσίρωσης. Σύμφωνα με την παραπάνω διαπίστωση ήταν και οι Glover *et al.*, (2012), όπου σύγκριναν την αντιοξειδωτική ικανότητα της βοσκής σε σχέση με σιτηρέσιο ολικής ανάμειξης XZ και ΣZ (total mixed ration TMR).

Στη συνέχεια έχει παρατηρηθεί ότι κατά τη φάση της έντονης ανάπτυξης της χλωράς νομής η συγκέντρωση των ΠΑΚΛΟ αυξάνεται σημαντικά. Υπό κανονικές συνθήκες τα ΠΑΚΛΟ στη μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών ζώων υδρογονώνονται

και κορέννυνται. Στα βόσκοντα όμως μηρυκαστικά, ιδιαίτερα στην αρχή της άνοιξης, η συγκέντρωση των ΠΑΚΛΟ στο πλάσμα του αίματος, και συγκεκριμένα του λινολενικού οξέος, δεκαπλασιάζεται σε διάστημα 12 ημερών από την έναρξη βόσκησης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται και ο κίνδυνος οξειδωτικής καταστροφής των ιστών.

Ο εντεινόμενος μεταβολισμός, οι λοιμώξεις, η ύπαρξη διαφόρων παραγόντων καταπόνησης (στρες), όπως και η απότομη έξοδος των ζώων στη βοσκή, αντίξοες καιρικές συνθήκες, παρατεταμένη άσκηση των ζώων κλπ., αποτελούν παράγοντες που αυξάνουν τις ανάγκες του οργανισμού σε α-τοκοφερόλη και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSHPx), ανάγκες που διαμορφώνονται βασικά από τη διατροφή, τη φυλή των ζώων και τον τρόπο διαχείρισής τους.

2.8.6 Επίπεδο διατροφής

Ο υποσιτισμός αποτελεί συνήθες φαινόμενο στα μικρά μηρυκαστικά ζώα. Η μακρόχρονη έλλειψη ενέργειας προκαλεί κινητοποίηση των αποθεμάτων του λίπους και αύξηση των κετονοσωμάτων (Ives *et al.*, 2000; Sahlu *et al.*, 1999). Η μη επαρκής πρόσληψη ενέργειας έχει ως αποτέλεσμα την αποβολή των μιτοχονδριακών ηλεκτρονίων, τα οποία συσχετίζονται θετικά με τις οξειδωτικές ρίζες του οξυγόνου (Brookes, 1998; Papa and Skulachev, 1997; Tanaka and Andro, 1990). Η μείωση της κατανάλωσης του κυτταρικού οξυγόνου προκαλεί απώλεια στα μόρια του οξυγόνου που παράγονται στα μιτοχόνδρια (Jamme *et al.*, 1995; Ramsey *et al.*, 2000). Παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί ότι ο οργανισμός κάτω από φυσιολογικές συνθήκες διαθέτει αντιοξειδωτικά αποθέματα για να αντιμετωπίσουν την παραγωγή των ελεύθερων ριζών (Castillo *et al.*, 2011), οι οποίες παράγονται συνεχώς κατά την διάρκεια του μεταβολισμού.

Σύμφωνα με τους Walsh *et al.*, (2013) ο υποσιτισμός είναι ένας τρόπος προστασίας ενάντια σε ασθένειες και μια μέθοδος παράτασης της διάρκειας ζωής σε πολλαπλά είδη. Επομένως, μπορεί να θεωρηθεί ότι επιδρά στο οξειδωτικό στρες μειώνοντας τις επιπτώσεις του. Πρέπει να σημειωθεί ότι, η επίδραση του υποσιτισμού στο οξειδωτικό στρες είναι πολύπλοκη και πιθανόν να επηρεάζονται και από άλλους παράγοντες όπως την ηλικία, το φύλο, το είδος, τον ιστό που εξετάζεται και το είδος των ελεύθερων ριζών. Στην περίπτωση της ηλικίας έχει αποδειχθεί από τους Cirilo *et al.*, (2013) ότι επηρεάζει την οξειδωτική κατάσταση και την υπεροξειδωση των λιπιδίων.

Οι Oztabak *et al.*, (2005), έδειξαν ότι αυξήθηκε η δραστηριότητα ορισμένων οξειδωτικών δεικτών στο τελευταίο στάδιο της εγκυμοσύνης προβατινών, που είχαν υποσιτιστεί. Στη συνέχεια, στην μελέτη των Rezapour *et al.*, (2011), που πραγματοποιήθηκε σε προβατίνες που βρισκόταν στο τελευταίο στάδιο της εγκυμοσύνης και είχαν υποσιτιστεί, δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων υπεροξειδάση της δισμουτάσης (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx). Η μικρή αύξηση στη δραστηριότητα των παραπάνω ενζύμων υποδεικνύει την παρουσία οξειδωτικού στρες.

Επομένως, σύμφωνα με τη πρόσφατη βιβλιογραφία ο διατροφικός αυτός περιορισμός είχε μικρή επίδραση στην αντιοξειδωτική δράση των ενζύμων αλλά και μειωμένη οξειδωτική βλάβη στην πλειοψηφία των περιπτώσεων.

2.8.7 Έλαια και ελαιούχα σπέρματα- σησαμάλευρο

Στα σπέρματα του σησαμιού υπάρχει ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σύστημα, αποτελούμενο κυρίως από τρεις ουσίες, τη σησαμίνη, τη σησαμινόλη και τη βιταμίνη E (με μορφή γ-τοκοφερόλης). Οι ουσίες αυτές παρουσιάζουν ισχυρότατη αντιοξειδωτική δράση, εμποδίζοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων στον οργανισμό (Kamal-Eldin, Moazzami and Washi, 2011). Επιπρόσθετα το ιχνοστοιχείο σελήνιο που περιέχεται σε σημαντική συγκέντρωση στο σησάμι, έχει τα τελευταία χρόνια συσχετιστεί με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στον οργανισμό, καθώς αποτελεί συστατικό ενός σημαντικού αντιοξειδωτικού συστήματος - της οξειδάσης της γλουταθειόνης - το οποίο αποτελεί ένα από τα κυριότερα αμυντικά συστήματα του οργανισμού έναντι της δράσης των ελευθέρων ριζών.

Οι Cristiano Cortest *et al.*,(2012) μελέτησαν την επίδραση, της προσθήκης περιβλημάτων λιναριού και λινελαίου στο σιτηρέσιο των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, στην ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και δεσμουτάση της γλουταθειόνης. Παρατήρησαν, ότι τα περιβλήματα λιναριού είναι πλούσια σε λιγνίνες και συμβάλλουν στην προστασία ενάντια του οξειδωτικού στρες. Ακόμη παρουσιάστηκε ότι η αντιοξειδωτική δράση των λιγνινών είναι υψηλότερη σε σύγκριση με εκείνη της βιταμίνης E (Rajesha *et al.*, 2006).

Στην έρευνα των Cortes *et al.*, (2012), αποδείχθηκε ότι δεν υπήρχε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των αγελάδων που διεδράφηκαν με περιβλήματα λιναριού με εκείνα που έγινε ταυτόχρονη ενσωμάτωση λινελαίου και περιβλήματα λιναριού. Είναι φανερό πως και στις δυο περιπτώσεις αυξήθηκε η δραστηριότητα των

αντιοξειδωτικών ενζύμων στο πλάσμα και στα κύτταρα του μαστικού αδένου. Με εξαίρεση την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπου, είχε τη τάση προς μείωση στο πλάσμα, με την προσθήκη λινελαίου. Οι διαφορές μεταξύ των επιδράσεων των επεμβάσεων στην ενεργότητα των ενζύμων ίσως μπορούν να εξηγηθούν από τη διαφορετική βιοδιαθεσιμότητα και απορρόφηση των πολυφαινολικών μεταβολιτών μεταξύ των ιστών.

Οι Shireen *et al.*(2008), παρατήρησαν ότι ο συνδυασμός βιταμίνης E και C με σογιέλαιο, είχε θετική επίδραση στην ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάσης (CAT), υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) και ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης (GR) του ήπατος των επιμυών. Προστατεύοντας έτσι τους ιστούς από τις ελεύθερες ρίζες που προκαλούν οξείδωση κατά την πρόσληψη PUFA (Judge *et al.*, 2008; Ullegaddi *et al.*, 2006).

Επιπλέον στη μελέτη των Cortes *et al.*,(2012) που πραγματοποιήθηκε σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες, η προσθήκη λινελαίου είχε θετική επίδραση στην ενεργότητα των ενζύμων CAT, SOD GPx στο μαστικό αδένου. Ωστόσο παρατηρήθηκε ότι η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στο πλάσμα του αίματος είχε την τάση προς μείωση, με την προσθήκη λινελαίου. Το λινάρι σύμφωνα με τους Mazur *et al.*,(1996) αποτελεί πλούσια πηγή λιγνινών, οι οποίες είναι φυσικά αντιοξειδωτικά. Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των λιγνινών είναι μεγαλύτερη από εκείνη της βιταμίνης E (Prasad K., 2000). Επιπρόσθετα, οι Rajesha *et al.* (2006), σε πείραμα που έγινε σε ποντίκια δήλωσαν ότι οι λιγνίνες του λιναριού, ρυθμίζουν την έκφραση των ηπατικών γονιδίων των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάσης, υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και υπεροξειδάσης της δισμουτάσης. Απέδειξαν ότι η προσθήκη λιγνινών λιναριού αύξησε την ενεργότητα των παραπάνω ενζύμων, τα οποία εμπλέκονται σε μηχανισμούς άμυνας ενάντια στο οξειδωτικό στρες.

Σε αντίθεση με το σογιέλαιο οι Ohara *et al.* (2009), έδειξαν ότι η προσθήκη ελαίου ελαιοκράμβης μείωσε την ενεργότητα των ενζύμων καταλάσης, υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και υπεροξειδάσης της δισμουτάσης στο πλάσμα αίματος επιμυών. Η διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα μειώνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης στο αίμα καθώς, και της ρεδοκτάσης, της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της καταλάσης (Hsu *et al.*,2011). Στην ίδια μελέτη όμως αποδεικνύεται, πως η προσθήκη ιχθυελαίου αυξάνει την ενεργότητα των ενζύμων ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και της καταλάσης σε σχέση με την διατροφή που είναι πλούσια σε λιπαρά οξέα. Τέλος, ο συνδυασμός του ιχθυελαίου με βιταμίνη E επιφέρει μεγαλύτερη δραστηριοποίηση των παραπάνω αντιοξειδωτικών ενζύμων. Στη συνέχεια σύμφωνα με την μελέτη των Miyasaka *et al.*,

(1998), που πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια που διατρέφονταν με σογιέλαιο και ιχθυέλαιο ξεχωριστά, μελετήθηκε η ενεργότητα των ενζύμων καταλάσης, υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και δισμουτάσης του υπεροξειδίου, στο ήπαρ και σε λεμφοειφή όργανα. Με την επέμβαση του σογιελαίου παρατηρήθηκε μείωση της καταλάσης στο θύμο αδένα ενώ με την επέμβαση του ιχθυελαίου δεν υπήρχε επίδραση στην ενεργότητα των ενζύμων SOD και CAT. Η μόνη επίδραση που παρατηρήθηκε ήταν στην ενεργότητα της GPx η οποία μειώθηκε στον σπλήνα. Τέλος, οι Ibrahim *et al.*, (1999) σε μελέτη που έγινε σε ποντίκια όπου διατρέφονταν με διάφορα έλαια, πρότεινε ότι τα διαιτητικά λίπη παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της κυτταρικής ευαισθησίας στο οξειδωτικό στρες.

Από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι οι περισσότερες μελέτες (Cortes *et al.*, 2012; Shireen *et al.*, 2008; Ohara *et al.*, 2009; Matsushita *et al.*, 2007; Chilliard *et al.*, 2003 κ.ά.) αναφέρονται στην επίδραση της προσθήκης ελαιούχων σπερμάτων ή ελαίου στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Επιπλέον, έχουν πραγματοποιηθεί σε αγελάδες και ελάχιστες αναφέρονται σε μικρά μηρυκαστικά (αίγες). Ως επί τω πλείστον, αναφέρονται στο προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος (Ζέρβας κ.ά, 1990 Chilliard *et al.*, 2007; Tsiplakou *et al.*, 2006; Kelsey *et al.*, 2003; Dhiman *et al.*, 2005; Chilliard & Ferlay, 2004 κ.ά.) και λίγες στα αντιοξειδωτικά ένζυμα του πλάσματος και του γάλακτος (Cortes *et al.*, 2012; De Marchi *et al.*, 2015; Schogor *et al.*, 2013; Casconcelo *et al.*, 2007). Επομένως, ο λόγος για τον οποίο επιλέχθηκε να γίνει προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη E, στα σιτηρέσια των αιγών είναι διότι, αποτελεί μία νέα πρόκληση του κλάδου της διατροφής των αγροτικών ζώων, η οποία δεν έχει διερευνηθεί αρκετά στις αίγες. Ακόμα, το σησαμάλευρο θεωρείται υψηλής διατροφικής αξίας ζωοτροφή καθώς, στα σπέρματα του υπάρχει ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σύστημα (βιταμίνη E- σησαμίνη- σησαμινόλη) το οποίο εμποδίζει την οξείδωση των λιπαρών οξέων (Moazzami and Washi, 2011). Με αποτέλεσμα, να αποτελεί ένα από τα κυριότερα αμυντικά συστήματα του οργανισμού έναντι της δράσης των ελευθέρων ριζών (Sankar *et al.*, 2016; Hirata *et al.*, 1996 κ.ά). Έτσι, απώτερος στόχος μέσω της διατροφικής επέμβασης είναι να γίνει βελτιστοποίηση του προφίλ των λιπαρών οξέων του γάλακτος (αύξηση των ΠΑΚΛΟ και μείωση των ΚΛΟ). Επίσης, να επιτευχθεί μέσω της θρεπτικής σύστασης του, ένα προϊόν υψηλής διαιτητικής αξίας προς τον καταναλωτή. Αλλά και μεγιστοποίηση του χρόνου ζωής του προϊόντος αποτρέποντας την αυτοοξείδωση των λιπαρών οξέων μέσω των φυσικών αντιοξειδωτικών που περιέχονται σε αυτό.

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Σκοπός του πειράματος

Ο σκοπός του πειράματος ήταν να διερευνηθεί η επίδραση της προσθήκης σησαμαλεύρου, στο σιτηρέσιο αιγών στη χημική σύσταση του γάλακτος, στο προφίλ των ΛΟ του γάλακτος και του αίματος καθώς και στην δραστικότητα ορισμένων αντιοξειδωτικών ενζύμων: αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR), δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), σε δείγματα γάλακτος και αίματος. Ο προσδιορισμός της δραστικότητας της λακτουπεροξειδάσης (LPO) πραγματοποιήθηκε μόνο σε δείγματα γάλακτος ενώ ο προσδιορισμός της δραστικότητας των ενζύμων (GST) μεταφοράσης της γλουταθειόνης, καταλάσης (CAT) και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) σε δείγματα πλάσματος του αίματος.

3.2 Πειραματικός σχεδιασμός

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στη πειραματική εγκατάσταση του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής Αγροτικών Ζώων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, σύμφωνα με τα ισχύοντα σχετικά με την ευζωία των πειραματόζωων (Κανονισμός 86/609/EEC).

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν πέντε ομάδες αιγών (ομάδα Α,Β,Γ,Δ,Ε) εκ των οποίων η μια αποτελούσε τον μάρτυρα (ομάδα Α) και οι λοιπές την ομάδα επέμβασης με προσθήκη 10% σησαμάλευρου. Συγκεκριμένα, στην ομάδα Β πραγματοποιήθηκε προσθήκη μόνο 10% σησαμαλεύρου στο σιτηρέσιο των ζώων ενώ στις υπόλοιπες, ομάδα Γ έγινε προσθήκη 10% σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με Βιταμίνη Ε, στην ομάδα Δ προσθήκη 10% σησαμαλεύρου και Σεληνίου και τέλος στην ομάδα Ε προσθήκη 10% σησαμαλεύρου, Βιταμίνης Ε και Σεληνίου.(πίνακας 1) Η διατροφή των ζώων ήταν ομαδική με ίδια αναλογία ΧΖ/ΣΖ (40:60) στο σιτηρέσιο ώστε να καλύπτονται οι διατροφικές τους ανάγκες. Η εξέλιξη του σωματικού βάρους τους παρακολουθούταν εβδομαδιαίως. Επίσης, σε καθημερινή βάση γινόταν παρακολούθηση ανά ομάδα μάρτυρα και επέμβασης η συνολική παραγόμενη ποσότητα γάλακτος.

Πίνακας 1. Συγκέντρωση σεληνίου και βιταμίνης E (mg/kg ΣΖ) στα σιτηρέσια των ομάδων του πειράματος.

ΟΜΑΔΑ	ΣΕΛΗΝΙΟ (Se) mg/kg ΣΖ	ΒΙΤΑΜΙΝΗ E mg/kg ΣΖ
ΟΜΑΔΑ Α	0,1	60
ΟΜΑΔΑ Β	0,1	60
ΟΜΑΔΑ Γ	0,1	120
ΟΜΑΔΑ Δ	0,2	60
ΟΜΑΔΑ Ε	0,2	120

Ο διαχωρισμός στις πέντε ομάδες έγινε με βάση τη γαλακτοπαραγωγή, τη χημική σύσταση του γάλακτος και το σωματικό βάρος του κάθε ζώου, έτσι ώστε οι πέντε ομάδες να είναι ισοδύναμες. Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 30 γαλακτοπαραγωγικές αίγες, ηλικίας 2 έως 3 ετών. Οι αίγες βρισκόταν στο μέσο της γαλακτικής περιόδου όταν ξεκίνησε το πείραμα. Ακόμα, κατά την διάρκεια της πειραματικής φάσης είχαν στη διάθεσή τους, σε 24ωρη βάση, νερό.

Το πείραμα ολοκληρώθηκε εντός 38 ημερών. Πριν την έναρξη της πειραματικής φάσης, προηγήθηκε για 7 ημέρες η προπειραματική περίοδος για την προσαρμογή των ζώων. Στην αρχή υπήρξε άρνηση κατανάλωσης τροφής από τα ζώα. Έτσι, για διάστημα 7 ημερών όπως αναφέρθηκε παραπάνω, υπήρξε διάστημα προσαρμογής, μέχρις ότου όλα τα ζώα να καταναλώνουν την χορηγηθείσα ποσότητα του σιτηρεσίου που αντιστοιχούσε στην κάλυψη των αναγκών τους.

Επιπρόσθετα και στις πέντε ομάδες των ζώων χρησιμοποιήθηκε σανός μηδικής ως ΧΖ. Όσον αφορά στις ΣΖ, για την μεν ομάδα του μάρτυρα χρησιμοποιήθηκε καρπός αραβοσίτου, καρπός κριθής, σογιάλευρο, πίτυρα σίτου και ισορροπιστής ανόργανων στοιχείων και βιταμινών, ενώ για τις ομάδες της επέμβασης χρησιμοποιήθηκε καρπός αραβοσίτου, καρπός κριθής, σογιάλευρο, σιγαμάλευρο

πίτυρα σίτου και ισορροπιστής ανόργανων στοιχείων και βιταμινών. Η σύνθεση του μίγματος των ΣΖ παρουσιάζεται στο πίνακα 3.

Πίνακας 3. Εκατοστιαία σύνθεση μιγμάτων συμπυκνωμένων ζωοτροφών

ΖΩΟΤΡΟΦΗ	ΟΜΑΔΑ				
	ΜΑΡΤΥΡΑ (Α)	ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ			
		Β	Γ	Δ	Ε
Καρπός Αραβοσίτου (%)	30	30	30	30	30
Καρπός Κριθής (%)	35	35	35	35	35
Σογιάλευρο (%)	20	10	10	10	10
Πίτυρα Σίτου (%)	12	12	12	12	12
Σησαμάλευρο (%)	-	10	10	10	10
Ισορροπιστής (%)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Μαρμαρόσκονη	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Αλάτι	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Στη διάρκεια του πειράματος τα ζώα διατρεφόταν ομαδικά με σιτηρέσια που καταρτίστηκαν σύμφωνα με τις ανάγκες συντήρησης και γαλακτοπαραγωγής του κάθε ζώου (Ζέρβας κ.ά., 2007), λαμβάνοντας υπόψη το σωματικό βάρος, την

παραγόμενη ποσότητα και τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος. Οι διατροφικές επεμβάσεις κάλυπταν το 100% των αναγκών των ζώων, ώστε να αποφευχθεί μεταβολή του σωματικού τους βάρους.

Το σιτηρέσιο χορηγούνταν ομαδικά στα ζώα δυο φορές την ημέρα σε δύο ίσα γεύματα, στις 8:00 π.μ και στις 17:00μ.μ.. Όλες οι αίγες αμέλγονταν δύο φορές την ημέρα με αμελκτική μηχανή καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Σε καθημερινή βάση καταγράφονταν η συνολική ποσότητα γάλακτος ανά ομάδα.

3.3. Δειγματοληψίες

Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες αίματος και γάλακτος (12^η , 25^η και 33^η ημέρα) για κάθε ζώο ξεχωριστά, με σκοπό να ελεγχθεί η ποσότητα γάλακτος που παρήγαγε ατομικά η κάθε αίγα, το προφίλ των ΛΟ και η δραστηριότητα των ενζύμων αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR), δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), σε δείγματα γάλακτος και αίματος. Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της λακτοϋπεροξειδάσης (LPO) πραγματοποιήθηκε μόνο σε δείγματα γάλακτος ενώ ο προσδιορισμός της δραστηριότητας των ενζύμων (GST) μεταφοράσης της γλουταθειόνης, καταλάσης (CAT) και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) σε δείγματα πλάσματος του αίματος. Την ίδια ημέρα που γινόταν ατομική γαλακτομέτρηση λαμβάνονταν και ατομικά δείγματα γάλακτος για τη χημική ανάλυση, ακολουθώντας πάντα τους κανόνες δειγματοληψίας (ανάμειξη της πρωινής και της απογευματινής ποσότητας αμελχθέντος γάλακτος και λήψη δείγματος σε ποσοστό 10% της εκάστοτε αμελχθείσας ποσότητας). Όλες οι αίγες ζυγίζονταν σε εβδομαδιαία βάση και καταγράφονταν τα σωματικά τους βάρη.

Οι δειγματοληψίες για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης του γάλακτος των αιγών πραγματοποιήθηκαν την 1^η, 12^η, 25^η και 33^η ημέρα του πειράματος

3.4. Προσδιορισμοί

Στις αίγες προσδιορίζονταν:

A. το σωματικό τους βάρος κάθε εβδομάδα με ζυγό ακριβείας 0,1 kg.

B. η χημική σύσταση του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη, ολικά στερεά άνευ λίπους και ολικά στερεά) με Milcoscan 133.

Γ. τα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος, του πλάσματος του αίματος και των ζωοτροφών με αέριο χρωματογράφο (GC), Agilent.

Δ. η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων GR, SOD, GPx, GST, CAT σε δείγματα αίματος και γάλακτος (LPO, GR, SOD).

Η χημική ανάλυση των ζωοτροφών που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου έγινε με την αναλυτική τακτική Weende. Με την αναλυτική τακτική Weende προσδιορίστηκαν σε ποσοστό %, η ξηρά ουσία (ΞΟ), η τέφρα (Τ), οι αζωτούχες ουσίες (ΑΟ), οι λιπαρές ουσίες (ΛΟ) και οι ινώδεις ουσίες (ΙΟ).

Η χημική σύσταση του γάλακτος (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη, ολικά στερεά άνευ λίπους και ολικά στερεά) πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών με Milcoscan 133.

3.4.1. Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο γάλα

Α. Παραλαβή λίπους του γάλακτος

Για την παραλαβή του λίπους του γάλακτος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Jiang κ.ά. (1996). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε δοκιμαστικό σωλήνα τύπου falcon τοποθετούνται 8,5 ml ισοπροπανόλης και 11,25 ml εξανίου τα οποία αναδεύονται σε αναδευτήρα (vortex) για 3 λεπτά. Κατόπιν τοποθετούνται για φυγοκέντρηση στις 4000 rpm (2520g) για 5 λεπτά στους 5°C. Μετά τη φυγοκέντρηση παρατηρείται διαχωρισμός δύο φάσεων. Στη συνέχεια, παραλαμβάνονται 10 ml από το υπερκείμενο και τοποθετούνται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα. Στο υπερκείμενο προστίθενται 11,25 ml εξανίου και μετά από ανάδευση (vortex) φυγικεντρείται εκ νέου στις ίδιες συνθήκες. Συλλέγονται εκ νέου 10 ml από το υπερκείμενο και ακολουθεί και νέα έκπλυση με 11,25 ml εξανίου. Έπειτα, στις συλλεχθείσες υπερκείμενες φάσεις προστίθενται 7,5 ml διαλύματος θειικού νατρίου (Na_2SO_4) 0,47 Μ και επέρχεται διαχωρισμός φάσεων. Συλλέγονται 20 ml από το υπερκείμενο και τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως. Το ποτήρι ζέσεως μεταφέρεται σε κλίβανο στους 30 °C για την παραλαβή του λίπους μετά την εξάτμιση του εξανίου (περίπου 20 ώρες).

B. Μεθυλεστεροποίηση του λίπους του γάλακτος

Για την μεθυλεστεροποίηση του λίπους του γάλακτος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Kelly κ.ά. (1998). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 40 mg λίπους, 2 ml εξανίου και 40 ml οξαλικού μεθυλίου. Ακολουθεί καλή ανάδευση (vortex). Στη συνέχεια, προστίθενται 40 ml αντιδραστηρίου που παρασκευάζεται με την εξής αναλογία: 1,75 ml μεθανόλης και 0,4 ml μεθυλικού νατρίου (sodium methylate) 5,4 M. Αφού αναμειχθούν αφήνονται για επώαση για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθενται 60 ml διαλύματος που παρασκευάζεται διαλύοντας 1gr οξαλικού οξέος σε 30 ml διαιθυλαιθέρα. Κατόπιν γίνεται φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 5000 στροφές. Παραλαμβάνονται 90 ml από την υγρή φάση και μαζί με 10 ml εσωτερικού προτύπου διαλύματος (standard) σφραγίζονται κατάλληλα για ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο.

3.4.2 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο πλάσμα του αίματος.

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων του πλάσματος του αίματος εφαρμόστηκε η μέθοδος των Bondia-Pons et al. (2004). Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου, σε πυρίμαχο δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 1 ml πλάσμα αίματος, 10 ml εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (standard) και 2 ml μεθυλικού νατίου (0,5% w/v) τα οποία θερμαίνονται στους 100 °C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, αφού ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθενται 2 ml τριφθορικού βαρίου και θερμαίνονται εκ νέου στους 100 °C για 15 λεπτά. Έπειτα αφού ψυχθούν ξανά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθενται 1 ml εξανίου και ακολουθεί ανάδευση για 15 λεπτά. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 2 ml κορεσμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και ακολουθεί φυγοκέντρηση για 8 λεπτά σε 5000g. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης ακολουθεί προσθήκη άνυδρου θειικού νατρίου και παραλαβή υπερκειμένου. Τέλος γίνεται εξάτμιση με ήλιο και προσθήκη 100 ml εξανίου κ αποθήκευση σε vials τα οποία είναι κατάλληλα για ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο.

3.4.3 Μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων των ζωοτροφών (O' Fallon USA).

Σύμφωνα με τη μέθοδο (O'Fallon et al., 2007) σε σωλήνα Falcon τοποθετούνται 1 γρ. αλεσμένου δείγματος ζωοτροφής, 700 ml διαλύματος KOH (10 N), 5,3 ml μεθανόλης και 1 ml εσωτερικού standard C13:0. Ο σωλήνας αναδεύεται κάθε 20 λεπτά και τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 55 °C για 90 λεπτά. Έπειτα, ακολουθεί ψύξη και προσθήκη 0,58 ml H₂SO₄ (24N). Επαναλαμβάνεται ανάδευση του σωλήνα κάθε 20

λεπτά και τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 55 °C για 90 λεπτά. Μετά το πέρας των 90 λεπτών ψύχεται και γίνεται προσθήκη 3 ml εξανίου. Ακολουθεί ανάδευση σε vortex για 5 λεπτά και φυγοκέντρωση για 5 λεπτά. Τέλος γίνεται παραλαβή του υπερκείμενου στρώματος του εξανίου που περιέχει τους μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων και με γυάλινη πιπέτα pasteur τοποθετείται σε μπουκαλάκι του GC τα οποία είναι κατάλληλα για ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο

3.4.4. Ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος, αθηρωματικός δείκτης και έμμεσος προσδιορισμός της Δ-9 αφυδρογονάσης.

Οι ομαδοποιήσεις των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος έγιναν ως εξής:

Μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (MIA) = C6:0 + C8:0 + C10:0 + C11:0

Μεσσαίας αλύσου λιπαρά οξέα (MEA) = C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0

Μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (MA) = C18:0 + C20:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0

Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ΠΑΚΛΟ) = CLA + C18:2n6c + C18:2n6t + C18:3n3c + C18:3n6c + C20:2 + C20:3n3c + C20:4 + C20:5 + C22:2

Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MONA) = C14:1 + C15:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1 + VA + C20:1

Ακόρεστα λιπαρά οξέα (A) = ΠΑΚΛΟ + MONA

Κορεσμένα / Ακόρεστα (K/A) = (MIA + MEA + MA) / (ΠΑΚΛΟ + MONA)

CLA: cis-9, trans -11 C18:2 και

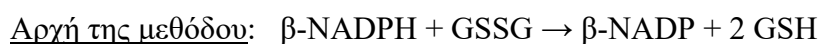
VA: trans-11 C18:1

Ο αθηρωματικός δείκτης (ΑΔ) υπολογίστηκε ως (C12:0 + 4 C14:0 + C16:0) / A, όπως περιγράφεται από τους Ulbricht and Southgate (1991).

Ο προσδιορισμός της Δ-9αφυδρογονάσης γίνεται έμμεσα, μέσω των λόγων των λιπαρών οξέων: C14:1 / C14:0, C16:1 / C16:0, C18:1 / C18:0 και cis-9, trans-11 CLA / VA.

3.4.5 Ενζυμικός προσδιορισμός αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR)

Ο ενζυμικός προσδιορισμός της ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης έγινε με βάση τη μέθοδο των Mavis, R.D. and Stellwagen, E. (1968).



Όπου: $\beta\text{-NADPH}$ Φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενο-δινουκλεοτίδιο, ανηγμένη μορφή, $\beta\text{-NADP}$: Φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενο-δινουκλεοτίδιο, οξειδωμένη μορφή, GSSG: γλουταθειόνη, οξειδωμένη μορφή, GSH: γλουταθειόνη, ανηγμένη μορφή

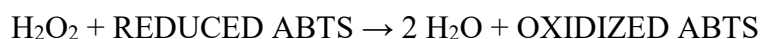
3.4.6 Ενζυμικός προσδιορισμός μεταφοράσης της γλουταθειόνης (GST)

Ο ενζυμικός προσδιορισμός της μεταφοράσης της γλουταθειόνης έγινε με βάση τη μέθοδο των Habig *et al.*,(1974), Mannrvik *et al.*, (1985) & Boyland *et al.*,(1969).

3.4.7 Ενζυμικός προσδιορισμός λακτοϋπεροξειδάσης (LPO)

Ο ενζυμικός προσδιορισμός της λακτοϋπεροξειδάσης έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Keeseey *et al.*, (1987) και Pütter and Becker, (1983).

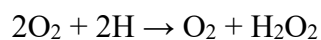
Αντίδραση:



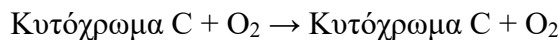
3.4.8 Ενζυμικός προσδιορισμός δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD)

Ο ενζυμικός προσδιορισμός της SOD έγινε με βάση τη μέθοδο των McCord, J. M. and Fridovich, I. (1969).

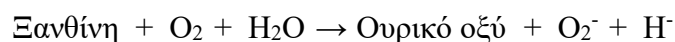
Η δισμουτάση του σουπεροξειδίου καταλύει την αντίδραση:



Η δραστηριότητα της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου μετριέται ως αναστολή του ρυθμού της μείωσης του κυτοχρώματος C από το σουπεροξειδικό ανιόν, που παρατηρείται στα 550nm.



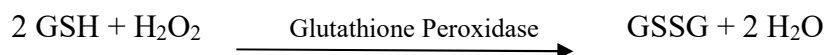
Το ανιόν του σουπεροξειδίου παράγεται ενζυμικά από την αντίδραση (με τη δράση της οξειδάσης της ξανθίνης):



3.4.9 Ενζυμικός προσδιορισμός υπεροξειδάσης γλουταθειόνης (GPx)

Ο ενζυμικός προσδιορισμός της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης έγινε με βάση τη μέθοδο των Wendel (1980).

Αντίδραση:



3.4.10 Bradford

Ο προσδιορισμός της μεθόδου Bradford έγινε με βάση τη μέθοδο Bradford (1976).

3.4.11 FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Η μέθοδος προσδιορισμού της ικανότητας των αντιοξειδωτικών να ανάγουν το Fe(III) στο σύμπλοκο σιδηρο-2,4,6, τριπυδιδυλ-s-τριαζίνης (Fe(III)- TPTZ) σε Fe(II) στο αντίστοιχο σιδηρο-σύμπλοκο (Fe(II)- TPTZ) σε όξινο περιβάλλον σύμφωνα με τους Benzie *et al.*, (1996).



3.4.12 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω εκτίμησης της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS^{•+} (ABTS).

Ο προσδιορισμός της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του δείγματος έγινε με βάση τη μέθοδο των Pellegrini *et al.*, (1999).

3.4.13 Προσδιορισμός λιπιδικής υπεροξειδωσης (MDA)

Ο προσδιορισμός της οξείδωσης των λιπιδίων υπολογίζοντας της συγκέντρωση της μαλονδιαλδεύδης (MDA) έγινε με βάση την μέθοδο Heather and Packer (1968).

3.4.14 Προσδιορισμός πρωτεϊνικής οξείδωσης (πρωτεϊνικά καρβονύλια PC)

Ο προσδιορισμός της οξείδωσης των πρωτεϊνών υπολογίζοντας την συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων έγινε με βάση τη μέθοδο των Patsoukis *et al.*, (2004).

3.4.15. Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα που ακολουθούν παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (\pm SEM) των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το γραμμικό μοντέλο (GLM) των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures) της ανάλυσης διασποράς (ANOVA). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS.

ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

4.Αποτελέσματα

Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται η χημική ανάλυση των μιγμάτων ΣΖ και του σανού μηδικής. Το μίγμα Α αντιστοιχεί στην ομάδα του μάρτυρα και δεν περιέχει καθόλου σισαμάλευρο ενώ τα υπόλοιπα μίγματα περιέχουν. Επιπρόσθετα το μίγμα Γ περιέχει βιταμίνη Ε και το μίγμα Ε βιταμίνη Ε και Σελήνιο.

Πίνακας 1. Χημική ανάλυση ζωοτροφών κατά την αναλυτική τακτική WEENDE.

ΖΩΟΤΡΟΦΗ	Ξ.Ο. %	% ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ			
		Τέφρα	ΑΟ	ΛΟ	ΙΟ
ΜΙΓΜΑ Α	91,87	6,88	19,03	3,01	5,28
ΜΙΓΜΑ Β	92,46	7,86	18,44	4,23	4,03
ΜΙΓΜΑ Γ	92,12	7,38	17,59	4,28	4,16
ΜΙΓΜΑ Ε	92,08	7,17	17,05	4,73	4,82
ΣΑΝΟΣ ΜΗΔΙΚΗΣ	92,47	8,61	14,51	1,67	31,16

Ξ.Ο: ξηρά ουσία, ΑΟ: αζωτούχες ουσίες, ΛΟ: λιπαρές ουσίες, ΙΟ: ινώδεις ουσίες

Στο πίνακα 2 παρουσιάζεται η επίδραση της διατροφής και του χρόνου στο σωματικό βάρος των αιγών. Η διαφορά του σωματικού βάρους μεταξύ των ομάδων παρόλου που παρουσιάζει μια τάση προς αύξηση, δεν είναι στατιστικώς σημαντική

($P < 0,05$). Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου παρατηρείται στατιστικώς σημαντική αύξηση μεταξύ της 2^{ης} και 3^{ης} δειγματοληψίας σε σχέση με την 1^η.

Πίνακας 2: Επίδραση της διατροφής και του χρόνου στο σωματικό βάρος των αιγών (Kg).

ΔΙΑΤΡΟΦΗ (D)				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)				ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ		
A	B	Γ	E	12 ^η	25 ^η	36 ^η	RMSE	D	T	D x T
44.17	48.73	42.86	52.36	46.54 ^A	47.72 ^B	47.81 ^B	3.447	0.3222	0.051 *	0,270

Πίνακας 3: Χημική σύσταση του αίγιου γάλακτος. Παραγόμενη ποσότητα γάλακτος των αιγών (g/ημέρα/ζώο) στις διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η γαλακτοπαραγωγή αναφέρεται σε διορθωμένη λιποπεριεκτικότητα 4%. $\Delta 4\% = (0,4 + 0,15\lambda) \times \Gamma$, όπου λ = λιποπεριεκτικότητα γάλακτος και Γ = γαλακτοπαραγωγή. Μέση λιποπεριεκτικότητα (%) του γάλακτος των αιγών. Μέση πρωτεϊνοπεριεκτικότητα % του γάλακτος των αιγών. Μέση περιεκτικότητα % σε λακτόζη του γάλακτος των αιγών.

ΔΙΑΤΡΟΦΗ (D)				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)				ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ				
	A	B	Γ	E	1 ^η	12 ^η	25 ^η	33 ^η	D	T	D x T	RMSE
ΓΑΛΓΗ	1673.8	1543.0	1676.3	1386.3	1905.3 ^C	1633.6 ^B	1438.3 ^A	1244.9 ^A	0.950	<0.001	0.880	295.21
ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	3.57	3.69	3.65	3.90	3.99	3.70	3.83	3.44	0.816	0.009	0.546	0.236
ΠΡΩΤΕΪΝΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	3.28	2.99	2.89	3.21	2.86^A	2.97 ^{AB}	3.28^B	3.15 ^{AB}	0.797	0.049	0.448	0.258
ΛΑΚΤΟΖΗ	4.39	4.54	4.50	4.45	4.71 ^B	4.71 ^B	4.36 ^A	4.21 ^A	0.897	<0.001	0.794	0.161

Στον πίνακα 3 παρουσιάζεται η επίδραση της διατροφής και του χρόνου στη γαλακτοπαραγωγή των αιγών. Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης δεν παρουσίασε κάποια ιδιαίτερη μεταβολή στην παραγόμενη ποσότητα γάλακτος μεταξύ

των ομάδων επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου στην μέση παραγόμενη ποσότητα γάλακτος των αιγών βαίνει μειούμενη στατιστικώς σημαντική ($P < 0,001$) συγκεκριμένα των 3 πρώτων δειγματοληψιών. Στη συνέχεια, η εξέλιξη της μέσης λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος των αιγών παρατηρείται μία τάση προς αύξηση στις ομάδες επέμβασης Β,Γ,Ε σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα Α, χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική με την επίδραση του παράγοντα της διατροφής. Επιπλέον, η μέση εκατοστιαία περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του γάλακτος των αιγών παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική αύξηση όσον αφορά τον χρόνο δειγματοληψίας, με αύξηση στην 2 σε σύγκριση με την 1. Τέλος, Η μέση εκατοστιαία περιεκτικότητα σε λακτόζη του γάλακτος των αιγών παρατηρείται οριακή αύξηση της περιεκτικότητας της λακτόζης στις ομάδες επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει στατιστικώς σημαντική μείωση της περιεκτικότητας της, των δυο τελευταίων δειγματοληψιών σε σύγκριση με τις δυο πρώτες.

Πίνακας 4. Προφίλ λιπαρών οξέων των ζωοτροφών (% των ολικών ΛΟ)

	C14:0	C16:0	C18:0	Cis-9 C18:1	cis C18:2	C18:3n3
Μείγμα Α (μάρτυρας)	0,12	15,50	2,02	20,72	56,48	4,11
Μείγμα Β	0,09	13,27	3,32	29,18	50,90	2,27
Μείγμα Γ	0,09	13,27	3,32	29,18	50,90	2,27
Μείγμα Ε	0,09	13,27	3,32	29,18	50,90	2,27
Σανός Μηδικής	1,40	23,40	4,43	13,79	36,11	15,97

Πίνακας 5. Μέση καταναλωθείσα ποσότητα ΛΟ μέσω της τροφής από τις αίγες (g/ημέρα/ζώο).

	C14:0	C16:0	C18:0	<i>Cis-9</i> C18:1	<i>cis</i> C18:2	C18:3n3
Μείγμα Α (μάρτυρας)	0,04	4,67	0,61	6,24	17,00	1,24
Μείγμα Β	0,04	5,61	1,40	12,34	21,53	0,96
Μείγμα Γ	0,04	5,68	1,42	12,49	21,79	0,97
Μείγμα Ε	0,04	6,28	1,57	13,80	24,08	1,07
Σανός Μηδικής	0,23	3,91	0,74	2,30	6,03	2,67

Πίνακας 6 : Προφίλ ΛΟ του αίματος των αιγών (% ολικών λιπαρών οξέων) στις διατροφικές επεμβάσεις και στις τρεις δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια του πειράματος.

ΛΟ	ΟΜΑΔΑ				ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ				ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	Α	Β	Γ	Ε	12^η	25^η	33^η	RMSE	Δ	Tα	Δ*Γ
C14:0	8.74	8.84	9.03	10.18	9.16	9.33	9.44	0.689	0.527	0.691	0.463
C14:1	0.50 ^b	0.35 ^{ab}	0.33 ^a	0.40 ^{ab}	0.33 ^A	0.46 ^B	0.38 ^A	0.051	0.198	0.007*	0.025*
C15:0	0.11	0.08	0.04	0.15	0.08	0.13	0.09	0.042	0.430	0.392	0.072
C15:1	0.52	0.41	0.42	0.52	0.44 ^A	0.53 ^B	0.45 ^A	0.053	0.407	0.043*	0.013*
C16:0	0.12	0.07	0.03	0.12	0.05 ^A	0.11 ^{AB}	0.15 ^B	0.042	0.242	0.028*	0.449
C16:1	16.17 ^b	15.07 ^a	15.21 ^{ab}	14.75 ^a	15.88 ^B	14.93 ^A	14.59 ^A	0.326	0.014*	<0.001***	0.035
C17:0	0.70	0.54	0.52	0.53	0.62 ^B	0.54 ^A	0.56 ^{AB}	0.058	0.190	0.078	0.058
C17:1	0.99 ^b	0.90 ^{ab}	0.77 ^a	0.84 ^{ab}	0.95 ^B	0.88 ^B	0.74 ^A	0.046	0.018*	0.003*	0.822
C18:0	0.46 ^b	0.31 ^{ab}	0.21 ^a	0.31 ^{ab}	0.30	0.33	0.37	0.053	0.028*	0.083	0.136

<i>Trans</i> C18:1	21.01	22.12	21.25	22.68	21.80	21.91	21.55	0.518	0.193	0.685	0.269
VA	0.48	0.55	0.56	0.50	0.51	0.54	0.53	0.039	0.543	0.558	0.280
<i>cis9</i> C18:1	16.98	18.61	17.37	17.77	18.03	17.44	17.81	0.697	0.574	0.188	0.001
<i>trans</i> C18:2	0.19	0.14	0.21	0.20	0.16	0.20	0.21	0.044	0.774	0.474	<0.001 ***
<i>cis</i> C18:2	22.20	19.92	23.12	20.22	22.82 ^C	21.32 ^B	19.91 ^A	1.002	0.181	<0.001 ***	0.198
C18:3n3	1.11 ^b	1.02 ^{ab}	0.88 ^a	1.01 ^{ab}	1.08 ^B	1.04 ^B	0.87 ^A	0.064	0.202	<0.001 ***	0.042 *
C20:0	0.23 ^b	0.18 ^{ab}	0.11 ^a	0.15 ^{ab}	0.18	0.18	0.16	0.032	0.137	0.569	0.063
C20:2	0.47	0.51	0.41	0.47	0.41	0.51	0.51	0.067	0.785	0.153	0.142
C20:3n3	4.70	4.38	5.09	5.20	5.18	4.65	4.60	0.380	0.581	0.074	0.696
C20:3n6	0.32	0.44	0.45	0.45	0.41	0.40	0.42	0.063	0.591	0.963	0.081
C22:2	1.30 ^{ab}	1.03 ^{ab}	0.78 ^a	1.41 ^b	1.18 ^B	1.20 ^B	0.98 ^A	0.166	0.100	0.051	0.346
C22:6	0.55	0.56	0.45	0.77	0.59	0.60	0.50	0.156	0.664	0.314	<0.001 ***
C24:0	9.74	11.87	10.41	10.56	7.87 ^A	10.93 ^B	13.65 ^C	0.818	0.413	<0.001 ***	<0.001 ***
C24:1	0.25	0.16	0.32	0.28	0.22	0.24	0.25	0.062	0.291	0.906	0.122

Στη συνέχεια, όσον αφορά τα λιπαρά οξέα του πλάσματος των αιγών με βάση την επίδραση του χρόνου παρατηρήθηκαν στατιστικώς χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα λιπαρά οξέα: C14:1, C16:1, C17:1, C18:0 και C18:3n3 και υψηλότερες στα C15:1, C24:0 C16:0 στις δύο τελευταίες δειγματοληψίες σε σύγκριση με την πρώτη. Όσον αφορά την επίδραση της διατροφής και του χρόνου στατιστικώς σημαντική επίδραση υπήρχε στα C14:1, C15:1, *trans* C18:2, *cis9* C18:1, C18:3n3 και C24:0. Επιπρόσθετα παρουσιάζεται μια τάση προς αύξηση στη συγκέντρωση των C14:0, *trans* C18:1, VA, *cis9* C18:1, *trans* C18:2, C20:3n6 και C24:0 στις ομάδες των επεμβάσεων σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Αντιθέτως, η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων C15:0, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:3n3 παρουσιάζουν μη στατιστικώς μείωση στην ομάδα των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα.

Πίνακας 7: Προφίλ ΛΟ του γάλακτος των αιγών (% ολικών λιπαρών οξέων) στις διατροφικές επεμβάσεις και στις τρεις δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια του πειράματος.

ΛΟ	ΟΜΑΔΑ				ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ				ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	12 ^η	25 ^η	33 ^η	RMSE	Δ	Tα	Δ*Τ
C4:0	2.88	3.22	3.28	2.82	3.03 ^A	3.21 ^B	3.09 ^{AB}	0.155	0.081	0.061	<0.001 ***
C6:0	2.89	3.12	3.01	2.73	2.98	3.03	2.91	0.160	0.460	0.550	0.392
C8:0	3.21	3.39	3.14	2.98	3.32	3.17	3.09	0.233	0.825	0.331	0.960
C10:0	11.56	10.24	9.75	9.12	11.10	9.79	9.53	0.774	0.319	0.077	0.781
C12:0	4.89	4.00	3.96	3.85	4.46	3.80	3.94	0.420	0.283	0.125	0.466
C14:0	11.14 ^b	9.06 ^a	9.06 ^a	8.63 ^a	9.22	9.35	9.54	0.506	0.017*	0.849	0.755
C14:1	0.43	0.39	0.34	0.41	0.32 ^A	0.40 ^B	0.48 ^C	0.030	0.246	<0.001 ***	0.014 *
C15:0	0.80	0.84	0.75	0.84	0.83	0.86	0.77	0.057	0.518	0.239	0.937
C15:1	0.26 ^{ab}	0.28 ^{ab}	0.20 ^a	0.32 ^b	0.23 ^A	0.30 ^B	0.29 ^B	0.027	0.034*	0.010 *	0.145
C16:0	27.56 ^b	23.67 ^a	25.10 ^{ab}	23.05 ^a	24.62	25.36	25.09	0.942	0.030*	0.664	0.609
C16:1	0.85	0.70	0.75	0.88	0.88 ^B	0.88 ^B	0.64 ^A	0.078	0.466	<0.001 ***	0.614
C17:1	0.25	0.24	0.22	0.26	0.25	0.23	0.25	0.026	0.730	0.632	0.253
C18:0	8.92 ^a	11.87 ^b	11.08 ^{ab}	13.15 ^b	10.86	11.47	11.70	0.913	0.061	0.360	0.469
<i>Trans</i> C18:1	0.33 ^a	0.65 ^b	0.59 ^b	0.51 ^{ab}	0.53	0.53	0.53	0.069	0.041 *	0.964	0.105
VA	0.80	1.28	1.28	1.22	1.21	1.15	1.07	0.229	0.539	0.298	0.641
<i>cis9</i> C18:1	19.56 ^a	23.49 ^b	23.38 ^b	25.29 ^b	22.16	22.78	23.48	1.174	0.043*	0.718	0.773
<i>trans</i> C18:2	0.23 ^a	0.33 ^b	0.30 ^{ab}	0.29 ^{ab}	0.27	0.30	0.29	0.024	0.139	0.300	0.596
<i>cis</i> C18:2	2.28	1.93	2.41	2.41	2.37	2.08	2.09	0.199	0.191	0.167	0.049 *
C18:3n3	0.24 ^b	0.18 ^a	0.21 ^{ab}	0.24 ^b	0.22 ^B	0.23 ^B	0.18 ^A	0.016	0.032*	0.018 *	0.978
C20:0	0.09 ^{ab}	0.12 ^b	0.07 ^a	0.13 ^b	0.09 ^A	0.11 ^B	0.11 ^B	0.013	0.060	0.049 *	0.766
CLA₁ + C_{20:0}	0.59	0.81	0.84	0.71	0.80	0.73	0.72	0.171	0.847	0.425	0.164
C20:3n3+ C22:1	0.23	0.18	0.23	0.24	0.21	0.22	0.22	0.024	0.460	0.548	0.333

Όσον αφορά τα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των αιγών των ομάδων επέμβασης του πειράματος παρατηρήθηκαν στατιστικώς χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα λιπαρά οξέα: C14:0, C16:0, C16:1, C18:3n3 και υψηλότερες στα C14:1, C15:1, C18:1 *trans*, C18:1 *cis*, C18:2 *cis*, C20:0 σε σχέση με το λίπος του γάλακτος των αιγών της ομάδας του μάρτυρα.

Συγκεκριμένα, όσον αφορά την συγκέντρωση του C6:0 λιπαρού οξέος δεν παρατηρείται καμία στατιστική διαφορά μεταξύ των ομάδων επέμβασης και εντοπίζεται μια τάση προς αύξηση σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα. Αντίθετα αποτελέσματα εμφανίζονται στις συγκεντρώσεις των C8:0, C10:0 και C12:0 λιπαρών οξέων όπου παρατηρείται μια τάση προς μείωση στις ομάδες των επεμβάσεων σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς να είναι στατιστικώς σημαντικά. Η συγκέντρωση του λιπαρού οξέος C14:0 μειώνεται στατιστικώς σημαντικά στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα, ομοίως και του C16:0. Στη συγκέντρωση του C18:3n3 παρατηρείται μια τάση προς αύξηση στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα ωστόσο παρουσιάζεται στατιστικώς σημαντική μείωση στην ομάδα Β σε σχέση με τον μάρτυρα. Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου παρουσιάζεται στατιστικώς σημαντική μείωση της συγκέντρωσής του στη 3^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η και 2^η.

Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση του C14:1 στις ομάδες Β και Γ της επέμβασης παρουσίασε μια τάση προς μείωση σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς να είναι στατιστικώς σημαντική. Από την άλλη πλευρά, η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική αύξηση του λιπαρού οξέος όμοια αποτελέσματα για την επίδραση του χρόνου εντοπίζονται και στο C15:1. Σε αντίθεση με τα ΛΟ C14:1 και C15:1 στο ΛΟ C16:1 παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική μείωση της συγκέντρωσής της του στη 3^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η και 2^η. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των C18:0, *trans* C18:1, VA, *cis* C18:1, *trans* C18:2 *cis* C18:2, C20:0, CLA₁+ C20:0 παρατηρήθηκε μια τάση προς αύξηση στις ομάδες της επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα με στατιστικώς σημαντικές διαφορές να εμφανίζονται στα ΛΟ *trans* C18:1, *cis* C18:1 και C20:0. Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του ΛΟ *cis* C18:2.

Πίνακας 8: Ομαδοποίηση ΛΟ (% ολικών λιπαρών οξέων) στο γάλα αιγών.

ΛΟ	ΟΜΑΔΑ				ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ				ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	12 ^η	25 ^η	33 ^η	RMSE	Δ	Tα	Δ*Τ
ΜΙΑ	17.66	16.75	15.94	14.83	17.43	15.99	15.52	1.078	0.519	0.129	0.818
ΜΕΑ	44.41 ^b	37.60 ^a	38.88 ^a	36.37 ^a	39.16	39.38	39.34	1.305	0.005 **	0.990	0.672
ΜΑ	9.01 ^a	11.99 ^b	11.16 ^{ab}	13.28 ^b	10.95	11.59	11.81	0.921	0.061	0.342	0.463
ΜΑΚΛΟ	23.07 ^a	27.83 ^b	27.60 ^b	29.52 ^b	26.38	27.01	27.45	1.297	0.035*	0.823	0.710
ΠΑΚΛΟ	3.57	3.43	3.98	3.89	3.87	3.56	3.50	0.319	0.559	0.228	0.043 *
ΚΛΟ	71.08 ^b	66.33 ^a	65.98 ^a	64.48 ^a	67.53	66.95	66.67	1.414	0.048*	0.895	0.708
ΑΚΛΟ	26.64 ^a	31.26 ^{ab}	31.58 ^b	33.41 ^b	30.25	30.57	30.95	1.512	0.068	0.936	0.608
Κ/Α	2.77 ^b	2.19 ^a	2.25 ^a	2.04 ^a	2.41	2.25	2.28	0.147	0.032 *	0.593	0.515
Α.Δ.	3.03 ^b	2.12 ^a	2.24 ^a	1.96 ^a	2.38	2.24	2.35	0.178	0.005 *	0.800	0.455
C14:1/C14:0	0.039 ^{ab}	0.044 ^{ab}	0.036 ^a	0.050 ^b	0.034 ^A	0.045 ^B	0.051 ^C	0.004	0.148	< 0.001 ***	0.258
C16:1/C16:0	0.031	0.030	0.031	0.039	0.037 ^B	0.035 ^B	0.026 ^A	0.003	0.421	0.005 **	0.509
C18:1/C18:0	2.31	2.03	2.15	1.94	2.10	2.05	2.09	0.142	0.398	0.876	0.037 *
CLA/VA	0.78 ^b	0.62 ^a	0.64 ^{ab}	0.64 ^{ab}	0.63	0.67	0.68	0.050	0.146	0.407	0.210

ΜΙΑ: Μικρής Αλύσου Λιπαρά Οξέα, ΜΕΑ: Μεσαίας Αλύσου Λιπαρά οξέα, ΜΑ: Μακράς Αλύσου Λιπαρά Οξέα, ΠΑΚΛΟ: Πολυακορεστα Λιπαρά Οξέα, ΜΑΚΛΟ: Μονοακόρεστα ΛΟ, ΚΛΟ: Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα, ΑΔ: Αθρωματικός Δείκτης

Οι συγκεντρώσεις των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων που παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές μειώσεις στις ομάδες των επεμβάσεων ήταν: ΜΕΑ και ΚΛΟ και οι λόγοι Κ/Α, C18:1/C18:0 καθώς και ο ΑΔ. Οι συγκεντρώσεις των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων που παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές αυξήσεις στις ομάδες των επεμβάσεων ήταν: ΜΑΚΛΟ, ΠΑΚΛΟ και ο λόγος C14:1/C14:0. Όσον αφορά τον λόγο C14:1/C14:0 παρατηρείται διαφορά μεταξύ της ομάδας Ε όπου παρουσιάζεται με μεγαλύτερη τιμή από ότι στην ομάδα Γ. Ακόμα στο λόγο CLA/VA εντοπίζεται μια τάση προς μείωση στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με τον μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Στατιστικώς σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στο λόγο C16:1/C16:0 στη 3^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η.

Επιπρόσθετα, εντοπίζεται στατιστικώς σημαντική διαφορά η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο δειγματοληψίας στο λόγο C18:1/C18:0 και στα ΠΑΚΛΟ. Τέλος, τα ομαδοποιημένα λιπαρά οξέα που παρουσίασαν τάση προς μείωση στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντικά είναι τα ΜΙΑ.

Πίνακας 9. Δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων (μεταφοράση της γλουταθειόνης (GTS), αναγωγή της γλουταθειόνης (GR), δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), καταλάσης (CAT)) δειγμάτων αίματος.

ENZY MA	ΟΜΑΔΑ				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)		RMSE	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	25 ⁿ	33 ⁿ		Δ	Tα	Δ*T
GTS (units/ml)	0.12	0.13	0.13	0.12	0.11 ^A	0.14 ^B	0.009	0.830	<0.001	0.702
GTS (units/mg protein)	0.0014	0.0016	0.0016	0.0014	0.0014 ^A	0.0016 ^B	0.0001	0.701	0.012	0.609
GR (units/ml)	0.049	0.054	0.056	0.052	0.052 ^A	0.055 ^B	0.003	0.684	0.046	0.225
GR (units/mg protein)	0.0006	0.0007	0.0007	0.0006	0.0006	0.0006	0.00004	0.537	0.594	0.339
SOD (units/ml)	16.53	16.47	16.95	15.91	16.49	16.49	0.566	0.782	0.983	0.402
SOD (units/mg protein)	0.195	0.202	0.201	0.187	0.205 ^B	0.188 ^A	0.008	0.745	0.007	0.915
GPx (units/ml)	2.40	2.61	2.84	2.52	2.58	2.65	0.265	0.721	0.746	0.328
GPx (units/mg protein)	0.028	0.032	0.034	0.029	0.032	0.030	0.003	0.601	0.527	0.314
CAT (units/ml)	92.68	117.11	87.50	106.32	101.53	109.44	14.033	0.366	0.175	0.004
CAT (units/mg protein)	1.09	1.44	1.05	1.28	1.26	1.25	0.166	0.378	0.866	0.013

Όσον αφορά την δραστικότητα της μεταφοράσης γλουταθειόνης και ρεδοκτάσης γλουταθειόνης παρουσιάζεται στατιστικώς σημαντική αύξηση στη 2^η δειγματοληψία σε σύγκριση με την 1^η. Επιπλέον όσον αφορά την επίδραση της διατροφής παρουσιάζεται μία τάση προς αύξηση στις ομάδες επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Η δραστικότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική μείωση όπως και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στη 2^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η. Η δραστικότητας τόσο της SOD όσο και της GPx στις ομάδες της επέμβασης παρουσίασαν μια τάση προς αύξηση χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντικές. Στη συνέχεια η δραστικότητα της ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης παρουσίασε στατιστικώς σημαντική αύξηση στη δεύτερη ημερομηνία δειγματολήψιας σε σύγκριση με την πρώτη. Ακόμα παρατηρήθηκε ότι στις ομάδες επέμβασης η δραστικότητά της είχε αύξουσα τάση σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα ένζυμα στη καταλάση η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Όπου παρατηρείται μια τάση προς αύξηση της δραστικότητά της στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με τον μάρτυρα. Η ομάδα Γ που περιείχε σησαμάλευρο σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε παρατηρήθηκε ότι η δραστικότητα του ενζύμου είχε ελαττωθεί σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, παρόλα αυτά ήταν στατιστικώς σημαντική.

Πίνακας 10. Υπολογισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω των μεθόδων FRAP ABTS σε δείγματα αίματος.

	ΟΜΑΔΑ				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)		RMSE	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	25 ^η	33 ^η		Δ	Tα	Δ*T
FRAP (μmol ascorbic acid)	1.22 ^a	1.36 ^{ab}	1.42 ^b	1.28 ^{ab}	1.30 ^A	1.37 ^B	0.042	0.019	0.049	0.065
ABTS (μM ascorbic acid)	33.54	33.06	33.00	32.82	35.16 ^B	31.40 ^A	0.803	0.843	<0.001	0.066

Επιπρόσθετα η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος που προσδιορίστηκε με την μέθοδο FRAP παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική αύξηση στη δεύτερη δειγματοληψία σε σύγκριση με την πρώτη. Ακόμα παρατηρείται στατιστικώς σημαντική αύξηση στην ομάδα της επέμβασης που περιείχε

σησαμάλευρο σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, με τις υπόλοιπες ομάδες επέμβασης δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ανα και εμφανίζεται τάση προς αύξηση. Αντίθετα αποτελέσματα εμφανίζονται με την μέθοδο ABTS όπου δεν παρατηρείται κάποια σημαντική μεταβολή μεταξύ των ομάδων επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Στατιστικώς σημαντική μείωση παρατηρείται μεταξύ της δεύτερης δειγματοληψίας σε σχέση με την πρώτη.

Πίνακας 11. Προσδιορισμός οξείδωσης των λιπιδίων μέσω της μεθόδου MDA (μM TMP) και προσδιορισμός οξείδωσης πρωτεϊνικών καρβονυλίων PC (nmol/mg protein) σε δείγματα πλάσματος αίματος και γάλακτος.

	ΟΜΑΔΑ				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)		RMSE	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	25 ^η	33 ^η		Δ	Ta	Δ^*T
MDA γάλα	0.020 ^b	0.019 ^b	0.019 ^b	0.015 ^a	0.022 ^B	0.014 ^A	0.001	0.012	<0.001 ***	0.511
PC γάλα	0.046	0.046	0.038	0.039	0.051	0.032	0.003	0.244	<0.001	0.363
MDA πλάσμα	0.017 ^{ab}	0.016 ^{ab}	0.017 ^{ab}	0.020 ^b	0.014 ^A	0.019 ^B	0.002	0.231	0.002	0.501
PC πλάσμα	0.029	0.028	0.028	0.029	0.022 ^A	0.035 ^B	0.003	0.910	<0.001	0.713

Στη συνέχεια τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της υπεροξείδωσης του πλάσματος υπολογίζοντας τη συγκέντρωση της MDA εμφανίζουν στατιστικώς σημαντική αύξηση μεταξύ της δεύτερης δειγματοληψίας σε σχέση με την πρώτη. Ο παράγοντας διατροφή δεν παρουσίασε κάποια μεταβολή μεταξύ των ομάδων επέμβασης σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα προσδιορισμού της οξείδωσης των πρωτεϊνών του πλάσματος υπολογίζοντας τη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων εμφανίζουν στατιστικώς σημαντική αύξηση της 2^{ης} δειγματοληψίας σε σύγκριση με την 1^η. Επιπλέον δεν παρατηρείται

μεταβολή στη συγκέντρωσης τους στις ομάδες επέμβασης σε συγκριση με τον μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της υπεροξειδωσης του λίπους του γάλακτος υπολογίζοντας τη συγκέντρωση της MDA εμφανίζουν στατιστικώς σημαντική μείωση μεταξύ της ομάδας επέμβασης E που είχε γίνει προσθήκη σιταμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη E και σελήνιο σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Επιπλέον δεν παρουσιάζεται κάποια αλλαγή στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των άλλων ομάδων σε σχέση με τον ομάδα του μάρτυρα. Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας εντοπίζεται στατιστικώς σημαντική μείωση στη συγκέντρωσή της στη 2^η δειγματοληψία σε σύγκριση με την 1^η.

Τέλος, τα αποτελέσματα προσδιορισμού της οξειδωσης των πρωτεϊνών του γάλακτος υπολογίζοντας τη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων εμφανίζουν στατιστικώς σημαντική μείωση της 2^{ης} δειγματοληψίας σε σύγκριση με την 1^η. Επιπλέον παρατηρείται μια πτωτική τάση της συγκέντρωσης τους στις ομάδες επέμβασης χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική.

Πίνακας 12. Δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων (λακτοϋπεροξειδάση (LPO), αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR), δεσμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)) του αίγιου γάλακτος.

ENZY MA	ΟΜΑΔΑ				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)		RMSE	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	25 ^η	33 ^η		Δ	Tα	Δ*T
LPO (units/ml)	0.49	0.43	0.43	0.44	0.42	0.43	0.057	0.416	0.723	0.633
LPO (units/mg protein)	0.013	0.012	0.012	0.011	0.011	0.012	0.002	0.499	0.882	0.762
GR (units/ml)	0.29	0.26	0.24	0.31	0.29	0.27	0.040	0.636	0.411	0.530
GR (units/mg protein)	0.007	0.007	0.007	0.008	0.008	0.007	0.001	0.429	0.209	0.454
SOD (units/ml)	64.78	74.55	76.45	79.13	76.30	73.24	5.413	0.346	0.254	0.575

SOD (units/mg protein)	1.75	2.09	2.09	2.09	2.12	1.92	0.118	0.198	0.107	0.924
---------------------------------------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	-------	-------

Όσον αφορά την δραστικότητα της λακτοϋπεροξειδάσης παρατηρείται μια τάση προς μείωση στις ομάδες επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Όμοια εικόνα παρουσιάζει η δραστικότητα της ρεδουκτάσης της γλουταθειόνης. Σε αντίθεση με την LPO και GR η δραστικότητα της δεσμουτάσης του υπεροξειδίου στις ομάδες επέμβασης παρουσιάζει μια τάση προς αύξηση σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική.

Πίνακας 13. Υπολογισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω των μεθόδων FRAP, ABTS σε δείγματα αίγιου γάλακτος.

	ΟΜΑΔΑ				ΗΜΕΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ (T)		RMSE	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ		
	A	B	Γ	E	25 ^η	33 ^η		Δ	Tα	Δ*T
FRAP (μmol ascorbic acid)	1.97 ^a	2.60 ^{ab}	2.60 ^{ab}	2.71 ^b	2.73 ^B	2.26 ^A	0.218	0.189	0.001 **	0.083
ABTS (μM ascorbic acid)	45.84	44.12	44.37	49.04	44.93	46.15	2.208	0.578	0.403	0.190

Επιπρόσθετα η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του γάλακτος που προσδιορίστηκε με την μέθοδο FRAP και ABTS παρουσιάζει μια τάση προς αύξηση στις ομάδες της επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μείωση μεταξύ της 1^{ης} και 2^{ης} δειγματοληψίας που προσδιορίστηκαν με την μέθοδο FRAP .

ΜΕΡΟΣ ΠΕΜΠΤΟ

5.Σχολιασμός αποτελεσμάτων

5.1 Επίδραση της προσθήκης σησαμαλεύρου και βιταμίνης E στο σιτηρέσιο αιγών στο σωματικό βάρος, χημική σύσταση του γάλακτος και στην γαλακτοπαραγωγή.

Στη παρούσα μελέτη, όσον αφορά την επίδραση του χρόνου παρουσιάζεται στατιστικώς σημαντική μείωση της γαλακτοπαραγωγής (Πίνακας 3). Τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος όπως πρωτεΐνη, λίπος και λακτόζη δεν παρουσίασαν κάποια μεταβολή από την διατροφική επέμβαση. Η ποσότητα του λίπους του γάλακτος των αιγών στις ομάδες επέμβασης παρουσίασε μία τάση προς αύξηση, χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική (πίνακας 3). Τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος επηρεάζει σημαντικά το είδος, η σύσταση και η ποσότητα της προστιθέμενης στο σιτηρέσιο ζωοτροφής όπως για παράδειγμα τα ελαιούχα σπέρματα αυξάνουν την ποσότητα του λίπους του γάλακτος κατά 0,9 g/kg (Chilliard *et al.*,2003). Η πρωτεΐνοπεριεκτικότητα του γάλακτος των αιγών των ομάδων επέμβασης παρουσίασε τάση προς μείωση χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα (πίνακας 3). Τέλος όσον αφορά τη λακτόζη του γάλακτος των αιγών παρουσίασε μια τάση προς αύξηση σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Από την άλλη πλευρά η επίδραση του χρόνου παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μείωση. (Πίνακας 3) Επειδή η λακτόζη είναι το κύριο ωσμωτικό συστατικό του γάλακτος, αύξηση ή ελάττωση της παραγωγής της στο μαστό συνεπάγεται αντίστοιχη μεταβολή της παραγόμενης ποσότητας γάλακτος.

Σύμφωνα με την μελέτη των De Marchi *et al.*, (2015) οι οποίοι έκαναν προσθήκη λιναλεύρου στο σιτηρέσιο των γαλακτοπαραγωγικών αγελάδων παρατήρησαν ότι δεν υπήρχε καμία στατιστικώς σημαντική μεταβολή στην ομάδα της επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, όσον αφορά την γαλακτοπαραγωγή αλλά και την πρωτεΐνοπεριεκτικότητα του γάλακτος. Ομοίως και για την λακτόζη του γάλακτος. Από την άλλη πλευρα παρατηρήθηκε μείωση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος. Σε μελέτη των Schogor *et al.*, (2013) οι οποίοι ομοίως έκαναν προσθήκη λιναλεύρου με διαφορετικό ποσοστό συμμετοχής στα σιτηρέσια των αγελάδων παρατήρησαν μη στατιστικώς σημαντική μεταβολή στη γαλακτοπαραγωγή στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Παρόλα αυτά όμως υπήρξε μία τάση προς αύξηση της γαλακτοπαραγωγής στις ομάδες των επεμβάσεων. Ακόμα όσον αφορά την λιποπεριεκτικότητα και την πρωτεΐνοπεριεκτικότητα παρατήρησαν μια τάση προς μείωση στις ομάδες των

επεμβάσεων. Η περιεκτικότητα της λακτόζης στο γάλα σημείωσε αύξηση. Όμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στην παρούσα μελέτη όσον αφορά την επίδραση της διατροφικής επέμβασης, με τη διαφορά μόνο στην λιποπεριεκτικότητα που εμφάνισε τάση προς αύξηση στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα.

Το είδος της ζωοτροφής, αλλά κυρίως η σύστασή της, που προστίθεται στο σιτηρέσιο των μηρυκαστικών ζώων μπορεί να προκαλέσει αυξημένη περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη λόγω εξοικονόμησης ακετυλο-συνενζύμου-Α και γλυκόζης από τη μειωμένη *de novo* σύνθεση ΛΟ μακράς αλύσου στον μαστό. Άλλοι ερευνητές όμως διαπίστωσαν μείωση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε λακτόζη όταν πρόσθεσαν ελαιούχα σπέρματα σε σιτηρέσια αγελάδων, ή καμία απολύτως επίδραση από τη χορηγήσή τους σε αγελάδες, αίγες και πρόβατα.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες, οι οποίες αφορούσαν την προσθήκη αλεύρων από ελαιούχα σπέρματα σε σιτηρέσια αγών κατά την πρώτη φάση της γαλακτοπαραγωγής, η γαλακτοπαραγωγή και η ποσότητα της πρωτεΐνης του γάλακτος δεν μεταβλήθηκαν, ενώ η ποσότητα του λίπους του γάλακτος αυξήθηκε είτε επρόκειτο για την προσθήκη προστατευμένων σπερμάτων ηλίανθου (Morand-Fehr *et al.*, 1984), είτε εξωθημένων σπερμάτων σόγιας (Morand-Fehr *et al.*, 1984) ή ασβεστούχων αλάτων φοινικέλαιου (Martin *et al.*, 1999).

Επιπρόσθετα, σε μελέτη των Brito *et al.*, (2015) που πραγματοποιήθηκε σε αγελάδες ερεύνησαν τι αλλαγές προκλήθηκαν στην γαλακτοπαραγωγή αλλά και στη χημική σύσταση του γάλακτος μετά την χορήγηση τεσσάρων διαφορετικών σιτηρεσίων: 1.άλευρο καλαμποκιού σε συνδυασμό με σογιάλευρο και ηλιάλευρο, 2. αραβοσιτάλευρο σε συνδυασμό με λινάλευρο, 3.σογιάλευρο και ηλιάλευρο σε συνδυασμό με μελάσσα, και 4. λινάλευρο σε συνδυασμό με υγρή μελάσσα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης η προσθήκη λιναλεύρου μείωσε την γαλακτοπαραγωγή (-1.3 kg/d), την λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος (-90g/d) και τη λακτόζη (-60g/d). Σε αντίθεση με την σύγκριση των προηγούμενων συστατικών του γάλακτος η πρωτεΐνοπεριεκτικότητα του γάλακτος αυξήθηκε και εξηγείται λόγω της πτώσης της γαλακτοπαραγωγής. Παρόμοια αποτελέσματα εμφανίστηκαν και στη παρούσα μελέτη. Ακόμα παρατηρήθηκε μείωση της γαλακτοπαραγωγής μετά την προσθήκη αραβοσιτάλευρου και λινάλευρου στο σιτηρέσιο των αγελάδων και αύξηση της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας. Στη συνέχεια παρατήρησαν ότι πτώση της γαλακτοπαραγωγής παρουσιάστηκε και στην ομάδα των αγελάδων που διατρέφονταν με σογιάλευρο και ηλιάλευρο σε συνδυασμό με μελάσσα.

Σε μελέτη των Mansooriyar *et al.*, (2011) οι οποίοι χορήγησαν σε διαφορετικά ποσοστά ηλιόλευρο σε αγελάδες παρατήρησαν αύξηση της γαλακτοπαραγωγής την πρώτη εβδομάδα και στη συνέχεια διατηρήθηκε σε σταθερή τιμή. Όσον αφορά την περιεκτικότητα της πρωτεΐνης και του λίπους δεν υπήρξε κάποια στατιστικώς σημαντική μεταβολή αλλά γενικά υπήρχε μία τάση προς μείωση. Αναμενόμενο αφού υπάρχει μία αρνητική συσχέτιση της γαλακτοπαραγωγής μεταξύ της λιποπεριεκτικότητας και της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας. Οι Muia *et al.*, (2000) στην μελέτη τους παρουσίασαν όμοια αποτελέσματα με τους Brito *et al.*, (2015) όσον αφορά την γαλακτοπαραγωγή των αγελάδων που διατράφηκαν με ηλιόλευρο.

Στη συνέχεια οι Sharma *et al.*, (2003) με την προσθήκη ηλιαλεύρου σε διαφορετικά ποσότητα σε σιτηρέσια αγελάδων δεν παρατήρησαν κάποια στατιστικώς σημαντική μεταβολή στην γαλακτοπαραγωγή και στη χημική σύσταση του γάλακτος. Ωστόσο υπήρχε μία τάση προς αύξηση της λιποπεριεκτικότητας και της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας σε αντίθεση με την γαλακτοπαραγωγή. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Sharma *et al.*, (2003) είναι και οι Sihag *et al.*, (1997) και Nishino *et al.*, (1980).

Σε αντίθεση, με ότι παρατηρείται στις αγελάδες (Chilliard *et al.*, 2001), στις αίγες η προσθήκη ζωοτροφών που είναι πλούσιες σε ΠΑΚΛΟ, κατά το μέσο ή το τέλος της γαλακτοπαραγωγής δεν αύξησε την γαλακτοπαραγωγή, ενώ αύξησε την ποσότητα του λίπους του γάλακτος αδρά (Astrup *et al.*, 1985; Gelaye & Amoah 1988, Lu, 1993; Baldi *et al.*, 1992; Ferlay *et al.*, 1988; Hadjipanayiotou, 1999). Ακόμα, οι Bernard *et al.*, (2005) μελέτησαν την προσθήκη προστατευμένων σπερμάτων λιναρόσπορου και ελαϊκού οξέος από ηλιέλαιο σε σιτηρέσιο αγών με αναλογία ΧΖ:ΣΖ 55:45 και παρατήρησαν ότι τα προστατευμένα σπερματα λιναριού μείωσαν σημαντικά την ποσότητα γάλακτος και αύξησαν την λιποπεριεκτικότητα, την ποσότητα πρωτεΐνης του γάλακτος. Οι Zervas *et al.*, (1990) χορηγώντας ολόκληρα σπέρματα βαμβακόσπορου σε ποσοστό 30 % της ΞΟ του σιτηρεσίου γαλακτοπαραγωγικών προβάτων, παρατήρησαν αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος με παράλληλη μείωση της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας και καμία άλλη αλλαγή στην παραγόμενη ποσότητα γάλακτος.

Τέλος, πρέπει να επισημανθεί ότι περισσότερες εργασίες μελετούν την προσθήκη σογιάλευρου, αραβοσιτάλευρου, ηλιόλευρου και λιναλεύρου στο σιτηρέσιο γαλακτοπαραγωγικών αγελάδων. Από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι δεν υπάρχουν μελέτες που να αναφέρονται στη προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στο σιτηρέσιο των αγών. Με αποτέλεσμα να χρήζει περισσότερη έρευνα.

5.2 Επίδραση της προσθήκης σιτισμαλεύρου και βιταμίνης E στο σιτηρέσιο αιγών στο προφίλ λιπαρών οξέων του λίπους αίγειου γάλακτος.

Η προσθήκη ζωοτροφών πλούσιες σε ΠΑΚΛΟ στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών έχει σκοπό την τροποποίηση της σύστασης των λιπαρών οξέων του γάλακτος. Οι προσπάθειες τροποποίησης μιας κατηγορίας λιπαρών οξέων μπορεί να προκαλέσει αλλαγές σε άλλα λιπαρά οξέα, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ευεργετικό ή όχι για την υγεία του καταναλωτή. Επομένως, η μείωση των ΚΛΟ του γάλακτος και η αύξηση των ΑΚΛΟ μέσω της επίδρασης της διατροφής έχουν ως αποτέλεσμα, τη θετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Σύμφωνα με πλήθος ερευνητικών εργασιών, που έχουν μελετήσει τους παράγοντες που επηρεάζουν τη παραγωγή και το προφίλ των λιπαρών οξέων, στο λίπος του γάλακτος μηρυκαστικών ζώων (Chilliard *et al.*, 2003; Kelsey *et al.*, 2003; Dhiman *et al.*, 2005; Tsiplakou *et al.*, 2006a), η διατροφή θεωρείται ο σημαντικότερος παράγοντας.

Στη παρούσα μελέτη όσον αφορά τα λιπαρά οξέα του λίπους του γάλακτος των αιγών των ομάδων επέμβασης του πειράματος παρατηρήθηκαν στατιστικώς χαμηλότερα ποσοστά στα λιπαρά οξέα: C14:0, C16:0, C16:1, C18:3n3 και υψηλότερες στα C14:1, C15:1, *trans* C18:1, *cis*-9 C18:1, *cis* C18:2 *cis*, C20:0 σε σχέση με το λίπος του γάλακτος των αιγών της ομάδας του μάρτυρα. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των C18:0, *trans* C18:1, VA, *cis*9 C18:1, *trans* C18:2 *cis* C18:2, C20:0, CLA₁₊ C20:0 παρατηρήθηκε μια τάση προς αύξηση στις ομάδες της επέμβασης σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα με στατιστικώς σημαντικές διαφορές να εμφανίζονται στα ΛΟ *trans* C18:1, *cis*9 C18:1 και C20:0. Η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του ΛΟ *cis* C18:2. Όμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και από τους Hristov *et al.*, (2011), ιδιαίτερα στο ποσοστό του ΛΟ C18:0, οι οποίοι έκαναν προσθήκη αλευρου ελαιοκράμβης στο σιτηρέσιο αγελάδων.

Συνήθως, η προσθήκη ζωοτροφών, που είναι πλούσιες σε ΠΑΚΛΟ (π.χ. λινάλευρο, ηλιάλευρο, σιτισμαλεύρο), στα σιτηρέσια των μηρυκαστικών προκαλεί μείωση της αναλογίας των C₄-C₁₆ και αύξηση των μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (C₁₈-C_{18:3}) όπως συμβαίνει και στη παρούσα μελέτη. Η μείωση της αναλογίας των λιπαρών οξέων μικρού και μεσαίου μήκους αλύσου οφείλεται στη μείωση της *de novo* σύνθεσής τους από το μαστό, λόγω της επίδρασης των λιπαρών ουσιών (που περιέχονται στη ζωοτροφή) στα ζυμωτικά φαινόμενα της μεγάλης κοιλίας και της μείωσης ως εκ τούτου της διαθεσιμότητας του οξικού και του β- υδροξυβουτυρικού (BHBA) που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση των λιπαρών οξέων στο μαστό.

Επιπρόσθετα, σε μελέτη των Brito *et al.*, (2015) που πραγματοποιήθηκε σε αγελάδες ερέυνησαν τι αλλαγές προκλήθηκαν στο προφίλ των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος μετά την χορήγηση τεσσάρων διαφορετικών σιτηρεσίων: 1.αραβοσιτάλευρο σε συνδυασμό με σογιάλευρο και ηλιάλευρο, 2. αραβοσιτάλευρο σε συνδυασμό με λινάλευρο, 3.σογιάλευρο και ηλιάλευρο σε συνδυασμό με υγρή μελάσσα, και 4. λινάλευρο σε συνδυασμό με υγρή μελάσσα. Παρατήρησαν ότι μειώθηκε το ποσοστό των C4:0, C6:0 καθώς και των ΚΛΟ ενώ αυξήθηκε το ποσοστό των C18:0 όταν οι αγελάδες είχαν διατραφεί με λινάλευρο. Επιπλέον τάση προς αύξηση παρατήρησαν στα ΛΟ *cis*-8, *cis*-11, *cis*-14, *cis*17, C20:4 στο λίπος του γάλακτος των αγελάδων που είχε προστεθεί στο σιτηρέσιο τους λινάλευρο. Χαμηλότερο ήταν το ποσοστό των ΛΟ *cis*-9, *trans*-11 CLA και *trans*-11 C18:1 στο γάλα των αγελάδων που διετράφηκαν με λινάλευρο σε σύγκριση με το ηλιάλευρο και το σογιάλευρο.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Drackley and Schingoethe (1986) οι οποίοι σύγκριναν το προφίλ των ΛΟ του γάλακτος, από αγελάδες που είχαν διατραφεί με σογιάλευρο και από αγελάδες που διετράφηκαν με σπέρματα ηλίανθου διαπίστωσαν ότι οι αγελάδες που είχαν διατραφεί με σπέρματα ηλίανθου παρουσίασαν μεγαλύτερη μείωση των λιπαρών οξέων της μικράς και μεσσαίου αλύσσου καθώς και μεγαλύτερη συγκεντρώνση των C18:0 ΛΟ και των ΠΑΚΛΟ σε σύγκριση με αγελάδες που είχαν διατραφεί με σογιάλευρο. Ζωοτροφές που είναι πλούσιες σε ΑΚΛΟ και ΚΛΟ προκαλούν αύξηση του ελαϊκού και στεατικού οξέος με αντίστοιχη μείωση των λιπαρών οξέων μικρής αλύσου, ιδιαίτερα του παλμιτικού (Ζέρβας,2013).

Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων που παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές μειώσεις στις ομάδες των επεμβάσεων ήταν: ΜΕΑ και ΚΛΟ και οι λόγοι Κ/Α, C18:1/C18:0 καθώς και ο ΑΔ. Οι συγκεντρώσεις των ομαδοποιημένων λιπαρών οξέων που παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές αυξήσεις στις ομάδες των επεμβάσεων ήταν: ΜΑΚΛΟ, ΠΑΚΛΟ και ο λόγος C14:1/C14:0. Σε συμφωνία είναι και τα αποτελέσματα των Hurtaud and Peyraud (2007) οι οποίοι χορήγησαν άλευρο καμελίνας σε γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες. Ακόμα στο λόγο CLA/VA εντοπίζεται μια τάση προς μείωση στις ομάδες επέμβασης σε σχέση με τον μάρτυρα χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική. Στατιστικώς σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στο λόγο C16:1/C16:0 στη 3^η δειγματοληψία σε σχέση με την 1^η. Επιπρόσθετα, εντοπίζεται στατιστικώς σημαντική διαφορά η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο δειγματοληψίας στο λόγο C18:1/C18:0 και στα ΠΑΚΛΟ. Σύμφωνα με τους Hurtaud and Peyraud (2007) οι οποίοι πρόσθεσαν στο σιτηρέσιο των αγελάδων άλευρο και σπέρματα καμελίνας αυξήθηκαν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Συγκεκριμένα παρατήρησαν αύξηση του ποσοστού των *trans*-10 C18:1. Τάση προς μείωση παρατήρησαν στα ΛΟ C4:0-C16:0

Η Petit, (2015) χορηγώντας σε αγελάδες σιτηρέσιο που είχε διαφορετική αναλογία συμμετοχής λιναρόσπορου και λινάλευρου παρατήρησε ότι το προφίλ των ΛΟ του γάλακτος επηρεάστηκε. Συγκεκριμένα το ποσοστό των ΛΟ μικράς (C6:0, C8:0, C10:0, C11:0, C12:0) και μεσσαίας (C14:0, C15:0, C16:0) αλύσου μειώθηκε, όπως και στα αποτελέσματα της μελέτης. Από την άλλη πλευρά αύξηση παρουσίασαν τα ΛΟ C18:0, *cis*9-C18:1, *trans*9-C18:1, *cis*9, *trans*11-C18:2, *cis*9,12,15-C18:3 και C20:0. Στη συνέχεια παρατηρήθηκε ότι οι αγελάδες που διατρέφονταν με το μεγαλύτερο ποσοστό συμμετοχής λιναρόσπορου στο σιτηρέσιο, τα ΛΟ *cis*9, 12- 18:2, *trans*9, 12- 18:2 και 20:4 μειώθηκαν. Ακόμα εντοπίστηκε αύξηση των ΜΑΚΛΟ, ΠΑΚΛΟ και n-3 ΑΚΛΟ στο προφίλ των ΛΟ του γάλακτος και μείωση στα ΚΛΟ στις ομάδες που διατρέφονταν με λιναρόσπορο σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Επιπλέον, η προσθήκη βιταμίνης Ε μαζί με εξωθημένα σπέρματα λίνου και λινελαίου σε σιτηρέσια αγελάδων που είχαν ως βάση τους το ενσίρωμα αραβόσιτου απέτρεψε την μετατροπή του *trans*-11 σε *cis*-10. Αξίζει να επισημανθεί ότι αυτό παρατηρήθηκε μόνο όταν η βιταμίνη χορηγήθηκε στην αρχή της προσθήκης του λινόσπορου και όχι όταν προστέθηκε μια φορά που έλαβε τώρα η μετατροπή του *trans*-11 σε *trans*-10 (Pottier *et al.*,2006).

Επιπρόσθετα, στα αποτελέσματα της μελέτης παρατηρήθηκε αύξηση του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (*cis*-9, *trans*-11 C18:2) στις ομάδες των επεμβάσεων. Το συγκεκριμένο ισομερές κυριαρχεί ποσοτικά στο γάλα των μηρυκαστικών αφού αντιπροσωπεύει περίπου το 90% των ολικών ισομερών του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (Loor and Herbein, 2003). Σημειώνεται ότι το μεγαλύτερο μέρος του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος παράγεται εντός του μαστού από τη δράση της Δ⁹-αφυδρογονάσης χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα το βασσενικό οξύ (Almeida *et al.*,2013). Μικρότερα ποσά συζευγμένου λινελαϊκού οξέος παράγονται εντός της μεγάλης κοιλίας κατά την βιοϋδρογόνωση του λινελαϊκού οξέος και του λινολενικού οξέος τα οποία μεταφέρονται στο γάλα κατόπιν απορρόφησης στο αίμα (Almeida *et al.*,2013). Το γάλα αποτελεί μια σημαντική πηγή συζευγμένου λινελαϊκού οξέος αφού οι καταναλωτές λαμβάνουν το 75% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης από αυτό. Επιπλέον, λόγω των θεραπευτικών ιδιοτήτων του ενάντια σε ασθένειες όπως παχυσαρκία, αθηροσκλήρωση κ.ά. επιδιώκεται η μεγιστοποίηση της συγκέντρωσής του στο γάλα (Wahle *et al.*,2004).

Οι Ζέρβας κ.α., (1990) αναφέρουν ότι η προσθήκη βαμβακόσπορου σε σιτηρέσιο προβάτων σε ποσοστό 30% μείωσε την αναλογία του συνόλου των κορεσμένων λιπαρών οξέων κατά 6,6% με αντίστοιχη αύξηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και αύξηση του μεγάλου μοριακού βάρους λιπαρών οξέων, με 18 άτομα άνθρακα κατά 11%. Τα λιπαρά οξέα με C18 εμφάνιζαν μεγαλύτερη τιμή στην ομάδα που διατρέφονταν με βαμβακόσπορο. Επιπλέον οι Mele *et al.*,(2007)

μελέτησαν την προσθήκη εξωθημένου λινόσπορου σε σιτηρέσιο προβάτων και παρατήρησαν μείωση στα ΚΛΟ του γάλακτος και αύξηση στα *trans* λιπαρά οξέα, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και ω-3 ΠΑΚΛΟ. Οι συγκεντρώσεις των *cis*-9, *trans*-11 CLA και VA- *trans*-11 C18:1 παρουσίασαν αύξηση μετά την προσθήκη του λινόσπορου, όμοια είναι και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Επιπλέον, σε σύγκριση μεταξύ σιτηρεσίων που συνδυάζουν διαφορετικά ποσοστά ΧΖ, ΣΖ και ελαιούχων σπερμάτων φαίνεται ότι η υψηλή συγκέντρωση των C18:0 και *cis*-9 C18:1 επιτεύχθηκε είτε με την προσθήκη μη προστατευμένου ελαίου είτε με την προσθήκη ολόκληρων μη εξωθημένων ελαιούχων σπερμάτων σε πειράμα που διεξήχθη σε αίγες (Chilliard & Ferlay, 2004). Σύμφωνα με τους Schmidely *et al.*, (2005) τα εξωθημένα σπέρματα σόγιας αύξησαν τα *cis*-9 C18:1 και τα C18:0. Τέλος, σε ότι αφορά την αναλογία C18:1/C18:0 παρατηρείται ότι στις αίγες μειώνεται σημαντικά όταν γίνεται στο σιτηρέσιο προσθήκη εξωθημένων ελαιούχων σπερμάτων (Chilliard *et al.*, 2007). Αυτό υποδεικνύει ότι ο βαθμός αφυδρογόνωσης του C18:0 μειώνεται περισσότερο με σιτηρέσια που αυξάνουν περισσότερο τη διαθεσιμότητα των ΠΑΚΛΟ και των *trans* ΛΟ για τον μαστικό αδένα των αιγών, επειδή αυτά τα λιπαρά οξέα μπορεί να είναι πιθανοί παρεμποδιστές της Δ⁹ αφυδρογονάσης (Bernard *et al.*, 2007). Επιπρόσθετα ο λόγος της αφυδρογόνωσης μειώθηκε περαιτέρω με την προσθήκη βιταμίνης Ε μαζί με λινέλαιο ενώ αυξήθηκε η συγκέντρωση του *trans* C18:1 και C18:2 στο γάλα (Chilliard and Ferlay, 2004). Όσον αφορά τη συγκέντρωση του C18:3n3 στο γάλα υποδεικνύει ότι το C18:3n3 που προέρχεται από ολόκληρα μη επεξεργασμένα σπέρματα λίνου υδρογονώθηκε περισσότερο σε C18:0 σε σχέση με το C18:3n3 που προέρχεται από λινέλαιο. (Chilliard *et al.*, 2003).

Τέλος αξίζει να επισημανθεί ότι δεν υπάρχει αντίστοιχη αναφορά στη βιβλιογραφία σχετικά με την πιθανή επίδραση του σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στο προφίλ των ΛΟ του λίπους του γάλακτος αιγών. Επομένως, χρήζει περαιτέρω έρευνα.

5.3 Επίδραση της προσθήκης σησαμαλεύρου και βιταμίνης Ε στο σιτηρέσιο αιγών στο αντιοξειδωτικά ένζυμα του πλάσματος.

Ένας από τους στόχους της παρούσας μελέτης είναι να ερευνηθεί αν υπάρχει επίδραση στην δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων: μεταφοράση της γλουταθειόνης (GTS), αναγωγή της γλουταθειόνης (GR), δισμουτάσης του

υπεροξειδίου (SOD), υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και καταλάσης (CAT) με την προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στα σιτηρέσια αιγών, σε δείγματα πλάσματος αίματος αιγών. Επίσης αν υπάρχει οξείδωση του λίπους και των πρωτεϊνών προσδιορίζοντας την συγκέντρωση της MDA και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων.

Η χρήση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη διατροφή μελετήθηκε από τους Thorlaksdottir *et al.*, (2006) και Nirmala *et al.*, (2007) ότι αυξάνει τον κίνδυνο υπεροξειδωσής των λιπιδίων με αποτέλεσμα να προκαλεί οξειδωτική καταστροφή μέσω της αντίδρασης των ελεύθερων ριζών στις κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων και των ιστών. Οι δυσμενείς επιπτώσεις της οξειδωτικής καταστροφής στα προϊόντα διατροφής, π.χ. γάλα, είναι η δυσάρεστη γεύση και οσμή καθώς και η υποβάθμιση της ποιότητας τους (Jang Hyuk Ahn *et al.*, 2007).

Μια μέθοδος αποφυγής της υπεροξειδωσής των λιπιδίων είναι, η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικές ουσίες είτε φυσικών είτε συνθετικών πηγών. Σύμφωνα με την μελέτη των Shui and Leong (2006) η κατανάλωση φυσικών αντιοξειδωτικών επιβραδύνουν την διαδικασία τάγγισης των ελαίων συγκριτικά με τα συνθετικά. Ως φυσικά αντιοξειδωτικά θεωρούνται τα φλαβονοειδή, ταννίνες, λιγνάνες, φαινολικές ενώσεις κ.ά. που εμπεριέχονται σε φυτικά προϊόντα και ένας από τους στόχους τους είναι η προστασία των τροφίμων από την οξείδωση (Jeong *et al.*, 2004).

Στα σπέρματα του σησαμιού υπάρχει ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σύστημα, αποτελούμενο κυρίως από τρεις ουσίες, τη σησαμίνη, τη σησαμινόλη και τη βιταμίνη Ε (με μορφή γ-τοκοφερόλης). Οι ουσίες αυτές παρουσιάζουν ισχυρότατη αντιοξειδωτική δράση, εμποδίζοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων στον οργανισμό (Kamal-Eldin, Moazzami and Washi, 2011). Ακόμα πλήθος μελετών έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση σπερμάτων σησαμιού το οποίο περιέχει τις παραπάνω λιγνάνες έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης στο πλάσμα και την ενίσχυση της δράσης της βιταμίνης Ε. Καθώς και μείωση της συγκέντρωσης MDA η οποία σχετίζεται με την υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (Kato *et al.*, 1998; Ikeda *et al.*, 2003). Στη παρούσα μελέτη, ενώ το αναμενόμενο ήταν να μειωθεί η συγκέντρωση της MDA λόγω του ισχυρού αντιοξειδωτικού συστήματος που περιέχουν τα σπέρματα του σησαμιού, παρατηρήθηκε απροσδόκητη στατιστικώς σημαντική αύξηση μεταξύ της δεύτερης δειγματοληψίας σε σύγκριση με την πρώτη. Στη συνέχεια, σύμφωνα με την μελέτη των Rizzo *et al.*, (2008) η χορήγηση φαρμακολογικών δόσεων βιταμίνης Ε μπορεί να μειώσει τους δείκτες πλάσματος του οξειδωτικού στρες. Η αντιοξειδωτική της δράση ασκείται μέσω της προσφοράς του υδρογόνου του αρωματικού υδροξυλίου με αποτέλεσμα οι ρίζες που παράγονται κατά την υπεροξειδωση των Λ.Ο. να προσλαμβάνουν το άτομο του υδρογόνου και να μετατρέπονται σε λιποϋδροϋπεροξειδία τερματίζοντας την περαιτέρω οξείδωσή τους (Silva *et al.*, 2010; Packer *et al.*, 1995).

Επιπρόσθετα το ιχνοστοιχείο σελήνιο που περιέχεται σε σημαντική συγκέντρωση στα σπέρματα του σησαμιού, έχει τα τελευταία χρόνια συσχετιστεί με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στον οργανισμό, καθώς αποτελεί συστατικό ενός σημαντικού αντιοξειδωτικού συστήματος - της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης - το οποίο αποτελεί ένα από τα κυριότερα αμυντικά συστήματα του οργανισμού έναντι της δράσης των ελευθέρων ριζών. Ιδιαίτερα ευάλωτα στην επίδραση των δραστικών ριζών οξυγόνου είναι τα υπολείμματα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, τα οποία χαρακτηρίζονται από μεγάλη ευαισθησία στην οξείδωση. Μόλις σχηματιστούν, οι ρίζες υπεροξειδίου μπορούν να μετατραπούν μέσω διεργασίας κυκλοποίησης σε ενδο-υπεροξειδία (πρόδρομες μορφές της μαλονδιαλδεΐδης), ενώ τελικό προϊόν της υπεροξειδωσίας αποτελεί η μαλονδιαλδεΐδη (MDA). Η οξείδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης προκαλεί διαταραχή της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα την απώλεια ουσιών μέσω αυτής (Schafer and Buettner, 2000). Η συγκέντρωση των ομάδων καρβονυλίων, που παράγονται με πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς, αποτελούν καλό μέτρο της προκαλούμενης από τις ελεύθερες ρίζες οξείδωσης των πρωτεϊνών. Ιδιαίτερα ευαίσθητες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση των ομάδων καρβονυλίων των πρωτεϊνών. Στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αύξηση ($P < 0.001$) της συγκέντρωσης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μεταξύ της δεύτερης και τρίτης δειγματοληψίας. Από τη μία θεωρείται λογικό καθώς τα σιτηρέσια των επεμβάσεων ήταν πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά οξέα όποτε ήταν λογικό να προκληθεί αυτοοξείδωση των λιπιδίων και στη συνέχεια οξειδωτικό στρες από την άλλη πλευρά όμως θα έπρεπε να μειωθεί η τιμή τους λόγω του ισχυρού αντιοξειδωτικού συστήματός του σησαμιού αλλά και της βιταμίνης E.

Επομένως, λόγω του ισχυρού αντιοξειδωτικού συστήματος που αναφέρθηκε παραπάνω είναι αναμενόμενη η μείωση της δραστηριότητας της SOD, GPx. Από την άλλη πλευρά παρατηρείται αύξηση της δραστηριότητας της CAT, GR και GST στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Σύμφωνα με τους Casado *et al.*, (1995) η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων σχετίζεται θετικά με το επίπεδο των υποστρωμάτων τους. Πιθανόν αυτή η αύξηση να οφείλεται στο ότι οι συγκεντρώσεις των δραστικών μορφών οξυγόνου να ήταν υψηλότερες στις ομάδες των επεμβάσεων αν και το σησαμάλευρο σε συνδυασμό με τη βιταμίνη E χαρακτηρίζεται από ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Άρα, η αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα της CAT, GR και GPx συνεπάγεται και αυξημένη αντιοξειδωτική προστασία από τις δραστικές μορφές οξυγόνου αλλά μπορεί να ειπωθεί και η θεωρία προετοιμασίας του οργανισμού για το οξειδωτικό στρες.

Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα άλλων μελέτων που έγινε προσθήκη λιναλεύρου και ηλιελαίου στο σιτηρέσιο των αγελάδων μελετώντας την

επίδρασή τους, στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Σύμφωνα με τους De Marchi *et al.*, (2015) αυξήθηκε η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD, GPx και CAT στο πλάσμα του αίματος στην ομάδα που διατέφονταν με λιναλεύρο όπου σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες που προκλήθηκε. Όμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη παρούσα μελέτη. Σε μελέτη των Schogor *et al.*, (2013) που έγινε επίσης προσθήκη λιναλεύρου στο σιτηρέσιο των αγελάδων δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικώς σημαντική μεταβολή στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD, CAT GPx πριν και μετά την κατανάλωση λιναλεύρου. Ωστόσο παρατηρήθηκε μια τάση προς αύξηση της δραστηριότητας της GPx.

Σύμφωνα με τους Cortes *et al.*,(2012) μελέτησαν την επίδραση, της προσθήκης περιβλημάτων λιναριού και λινελαίου στο σιτηρέσιο των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, στην δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και δεσμουτάση της γλουταθειόνης. Το λινάρι σύμφωνα με τους Mazur *et al.*,(1996) αποτελεί πλούσια πηγή λιγνανών, οι οποίες είναι φυσικά αντιοξειδωτικά. Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των λιγνανών είναι μεγαλύτερη από εκείνη της βιταμίνης E (Prasad K., 2000) και συμβάλλουν στην προστασία ενάντια του οξειδωτικού στρες. Στην έρευνά τους, αυξήθηκε η δραστηριότητα των παραπάνω αντιοξειδωτικών ενζύμων στο πλάσμα και στα κύτταρα του μαστικού αδένου. Με εξαίρεση την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπου, είχε τη τάση προς μείωση στο πλάσμα, με την προσθήκη λινελαίου. Παρόμοια αποτελέσματα υπήρχαν και στην παρούσα μελέτη με τη μόνη διαφορά στην δραστηριότητα της GPx η οποία είχε τάση προς αύξηση στις ομάδες επέμβασεις σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, αυτό ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι η δράση της εξαρτάται από την επάρκεια της τροφής σε σελήνιο πράγμα που η συγκέντρωση του, στα σπέρματα σησαμιού είναι υψηλή. Οι διαφορές μεταξύ των επιδράσεων των επεμβάσεων στην δραστηριότητα των ενζύμων ίσως μπορούν να εξηγηθούν από τη διαφορετική βιοδιαθεσιμότητα και απορρόφηση των πολυφαινολικών μεταβολιτών μεταξύ των ιστών.

Επιπρόσθετα, οι Rajesha *et al.* (2006), σε πείραμα που έγινε σε ποντίκια δήλωσαν ότι οι λιγνάνες του λιναριού, ρυθμίζουν την έκφραση των ηπατικών γονιδίων των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάσης, υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και υπεροξειδάσης της δισμουτάσης. Απέδειξαν ότι η προσθήκη λιγνανών λιναριού αύξησε την ενεργότητα των παραπάνω ενζύμων, τα οποία εμπλέκονται σε μηχανισμούς άμυνας ενάντια στο οξειδωτικό στρες.

Ακόμα, οι Shireen *et al.*(2008), παρατήρησαν ότι ο συνδυασμός βιταμίνης E και C με σογιέλαιο, είχε θετική επίδραση στην ενεργότητα των αντιοξειδωτικών

ενζύμων καταλάσης (CAT), υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) και ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης (GR) του ήπατος των επιμυών. Προστατεύοντας έτσι τους ιστούς από τις ελεύθερες ρίζες που προκαλούν οξείδωση κατά την πρόσληψη PUFA (Judge *et al.*, 2008; Ullegaddi *et al.*, 2006).

Τέλος όσον αφορά την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος εκφραζόμενη ως τιμή FRAP (ascorbic acid $\mu\text{mol/ml}$ πλάσματος) επηρεάστηκε θετικά από την διατροφική επέμβαση ($P < 0.05$). Αυτό οφείλεται στην αντιοξειδωτική δράση των λιγνάνων των σπερμάτων του σησαμιού αλλά και της δράσης της βιταμίνης E. Καθώς οι φυτικές λιγνάνες μεταβολίζονται από τους μικροοργανισμούς της μεγάλης κοιλίας σε λιγνάνες οι οποίες μεταφέρονται στο αίμα και στο γάλα (Cortes *et al.*, 2009). Ακόμα σύμφωνα με τους Prasad *et al.*, 2000 η εντερολακτίνη και η εντεροδιόλη αναστέλλουν την δράση των δραστικών ριζών οξυγόνου στο αίμα.

5.4 Επίδραση της προσθήκης σησαμαλεύρου και βιταμίνης E στο σιτηρέσιο αιγών στο αντιοξειδωτικά ένζυμα του γάλακτος.

Επόμενος στόχος της παρούσας μελέτης είναι να ερευνηθεί αν υπάρχει επίδραση στην δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων λακτοϋπεροξειδάσης (LPO), αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) και δεσμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) με την προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη E στα σιτηρέσια αιγών, σε δείγματα γάλακτος. Αξίζει να επισημανθεί ότι, πρόσφατες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, λίγες είναι εκείνες που αναφέρονται σε παραγωγικά ζώα, ακόμα δεν υπάρχει κάποια αντίστοιχη μελέτη με προσθήκη σησαμαλεύρου. Τέλος, οι αναλύσεις που έγιναν εφαρμόστηκαν σε μυϊκούς ιστούς και δευτερευόντως στο πλάσμα και στο γάλα.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι ορισμένα ένζυμα στο γάλα προσφέρουν προστατευτική λειτουργία κατά του οξειδωτικού στρες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιοξειδωτικοί δείκτες. Το οξειδωτικό στρες προκαλείται όταν μεταξύ οξειδωτικών και αναγωγικών λαμβάνει χώρα μια ανισοροπία είτε σε κυτταρικό επίπεδο είτε σε ατομικό (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Επιπλέον το οξειδωτικό στρες σχετίζεται με την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (στις οποίες συμπεριλαμβάνονται υπεροξειδία και ελεύθερες ρίζες) ή με μια σημαντική μείωση στην αποτελεσματικότητα της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού (Schaffer and Buettner, 2001). Η προσθήκη αντιοξειδωτικών ενζύμων στο γάλα παρέχει την δυνατότητα να βελτιωθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα, όμως το κόστος

τέτοιων εφαρμογών είναι υψηλό (Aurand *et al.*, 1977). Ωστόσο, το γάλα περιέχει ένα μεγάλο αριθμό ενδογενών ενζύμων όπου μετά από μελέτες (Fox *et al.*, 2003; Kelly *et al.*, 2005; Haddadi *et al.*, 2006 κ.ά) αποδείχθηκε ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του γάλακτος αλλά και των προϊόντων του.

Η λακτοϋπεροξειδάση αποτελεί ένα αντιοξειδωτικό ένζυμο που παράλληλα εμφανίζει αντιμικροβιακές ιδιότητες ενώ συντίθεται από τα επιθηλιακά κύτταρα των αδενοκυψελίδων και τα ουδετερόφιλα (Isobe *et al.*, 2011). Η SOD είναι ένα ένζυμο που καταλύει την αντίδραση της αναγωγής των ριζών υπεροξειδίου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου (Lindmark- Mansson and Akesson, 2000) και επομένως απαλλάσσει τον οργανισμό από τις επιβλαβείς ρίζες (Fox and Kelly, 2006). Ο κύριος ρόλος της δεσμουτάσης του υπεροξειδίου είναι προστατευτικός έναντι της οξείδωσης. Στο γάλα η SOD προστατεύει τα λιπίδια από οξείδωση που ευθύνονται ρίζες του υπεροξειδίου.

Στην παρούσα μελέτη, όπως αναφέρθηκε εκτενώς, στο σχολιασμό των αντιοξειδωτικών ενζύμων του πλάσματος, τα σπέρματα του σησαμιού περιέχουν ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σύστημα. Επομένως, λόγω των αντιοξειδωτικών συστατικών (σησαμίνη, σησαμινόλη, Βιταμίνη Ε) που περιέχονται σε αυτό, μπορεί να δικαιολογηθεί η τάση προς μείωση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων LPO και GR στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα, στα δείγματα του γάλακτος. Αλλά και της συγκέντρωσης της MDA και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Ακόμα παρατηρήθηκε μια τάση προς αύξηση της δραστηριότητας της SOD στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Πιθανόν, αυτή η αύξηση, μπορεί να εξηγηθεί με τη θεωρία της προετοιμασίας για το οξειδωτικό στρες (Buzadzic *et al.*, 1990; Hermes-Lima and Zenteno-Savin, 2000). Σύμφωνα με την θεωρία αυτή, η αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων, όταν η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου μειώνεται, αποτελεί μια εξελικτική προσαρμογή και έναν προστατευτικό μηχανισμό προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η βλάβη από το οξειδωτικό στρες, όταν η κατανάλωση οξυγόνου αυξηθεί πάλι.

Σύμφωνα με την μελέτη των Schogor *et al.*, (2012) που πραγματοποιήθηκε σε αγελάδες έγινε πρόσθηκη λιναλεύρου στο σιτηρέσιο τους και ερευνήθηκε η ενζυμική δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD GPx και CAT στο γάλα. Με βάση τα αποτελέσματα τους διαπιστώθηκε πως η δραστηριότητα της SOD δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα αλλά είχε μία τάση προς αύξηση στην ομάδα της επέμβασης που διατράφηκε με λινάλευρο. Όμοια αποτελέσματα παρουσιάζονται και στην παρούσα μελέτη. Στη συνέχεια σε μελέτη των De Marchi *et al.*, (2015) όπου ερευνήθηκε το ίδιο αντικείμενο δεν παρουσιάστηκε επίδραση της διατροφής στην δραστηριότητα των ενζύμων CAT GPx και SOD στο

γάλα. Επιπρόσθετα οι Cortes *et al.*, (2012) μελέτησαν την επίδραση, της προσθήκης περιβλημάτων λιναριού και λινελαίου στο σιτηρέσιο των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων, στην δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και δεσμουτάση της γλουταθειόνης. Το λινάρι σύμφωνα με τους Mazur *et al.*,(1996) αποτελεί πλούσια πηγή λιγνάνων, οι οποίες είναι φυσικά αντιοξειδωτικά. Στην έρευνά τους, αυξήθηκε η δραστηριότητα των παραπάνω αντιοξειδωτικών ενζύμων στο πλάσμα και στα κύτταρα του μαστικού αδένου. Οι διαφορές μεταξύ των επιδράσεων των επεμβάσεων στην δραστικότητα των ενζύμων ίσως μπορούν να εξηγηθούν από τη διαφορετική βιοδιαθεσιμότητα και απορρόφηση των πολυφαινολικών μεταβολιτών μεταξύ των ιστών.

Η ευαισθησία των διαφόρων συστατικών του γάλακτος στην οξείδωση όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και οι βιταμίνες είναι ουσιώδους σημασίας κυρίως για τους για τους μεταποιητές γάλακτος (Smet *et al.*, 2008). Αυτό αποδίδεται στη δημιουργία των οξειδωμένων μη επιθυμητών γεύσεων στο γάλα που επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του γάλακτος και κατά συνέπεια των προϊόντων που λαμβάνουν οι καταναλωτές. Η ευαισθησία του γάλακτος στην οξείδωση μπορεί να εκτιμηθεί με προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Smet *et al.*, 2008), δεδομένου ότι η οξείδωση συμβαίνει μόνο όταν υπάρχει ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών παραγόντων και αντιοξειδωτικών αμυνών (Halliwell, 1996). Μια μέθοδος προσδιορισμού της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας αποτελεί η FRAP όπου σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επηρεάστηκε θετικά από την προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη E στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα. Αυτό ίσως οφείλεται στην αντιοξειδωτική δράση των λιγνάνων των σπερμάτων του σησαμιού αλλά και της δράσης της βιταμίνης E. Καθώς οι φυτικές λιγνάνες μεταβολίζονται από τους μικροοργανισμούς της μεγάλης κοιλίας σε (mammalian) λιγνάνες οι οποίες μεταφέρονται στο αίμα και στο γάλα (Cortes *et al.*,2009).

Τέλος πρέπει να επισημανθεί ότι δεν υπάρχει αντίστοιχη αναφορά στη βιβλιογραφία σχετικά με την πιθανή επίδραση του σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη E στην ενζυμική δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων που μελετήθηκαν σε δείγματα πλάσματος και γάλακτος αιγών. Επομένως, χρήζει περαιτέρω έρευνας για την εξήγηση πώς ορισμένα ένζυμα επηρεάστηκαν θετικά από την παρούσα διατροφική παρέμβαση και πώς ορισμένα δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική μεταβολή.

6. Συμπεράσματα

Η προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στα σιτηρέσια των αιγών δεν προκάλεσε στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στην δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων στις ομάδες των επεμβάσεων σε σύγκριση με την ομάδα του μάρτυρα όσον αφορά τα δείγματα γάλακτος. Η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μείωση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP), στην συγκέντρωση της MDA καθώς και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC). Όσον αφορά τα δείγματα του πλάσματος του αίματος η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντική αύξηση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP), στην συγκέντρωση της MDA, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC), της δραστικότητας του ενζύμου αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) και μεταφοράσης της γλουταθειόνης (GSTs). Από την άλλη πλευρά η δραστικότητα των ενζύμων δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) μειώθηκε. Αξίζει να αναφερθεί ότι η επίδραση της διατροφικής επέμβασης με το χρόνο δειγματοληψίας παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη δραστικότητα της καταλάσης (CAT) στα δείγματα του πλάσματος του αίματος. Τα κορεσμένα ΛΟ παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική μείωση ($P < 0,05$) και τα ακόρεστα στατιστικώς σημαντική αύξηση ($P < 0,05$). Σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε στα ΜΑΚΛΟ (C14:1, C15:1) αλλά και στη συγκέντρωση του βασενικού οξέος (VA-*trans*-11 C18:1) και του *cis*-9, *trans*-11 C18:2. Τέλος, η προσθήκη σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με τη βιταμίνη Ε προκάλεσε στατιστικώς σημαντική μείωση στα ΜΕΑ, στην αναλογία Κ/Α και στον αθηρωματικό δείκτη, ενώ επέφερε στατιστικώς σημαντική αύξηση στα ΠΑΚΛΟ και ΜΑΚΛΟ.

Συμπερασματικά για τη μέτρηση του οξειδωτικού στρες καμία μέθοδος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα και να διασφαλίσει την αξιοπιστία του αποτελέσματος, για το λόγο αυτό ένας συνδυασμός δεικτών προϊόντων οξείδωσης και αντιοξειδωτικών φαίνεται να είναι επιβεβλημένος. Στην παρούσα μελέτη από τους παραπάνω δείκτες μετρήθηκε η δραστικότητα της CAT, GR, SOD, GPx, GST και LPO για να εκτιμηθεί η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην ενζυμική αντιοξειδωτική ικανότητα. Η εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης και της πρωτεϊνικής οξείδωσης που προκλήθηκε βασίστηκε στη μέτρηση της συγκέντρωσης της MDA και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, αντίστοιχα. Τέλος για μία συνολική εικόνα προσδιορίστηκε η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα δείγματος (FRAP, ABTS). Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση όσον αφορά την επίδραση σησαμαλεύρου σε συνδυασμό με βιταμίνη Ε στη δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων στα μικρά μηρυκαστικά και ιδιαιτέρως στις αίγες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Ανυφαντάκης Ε., 1994. Χημεία και ανάλυση του γάλακτος. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Γαλιώτου-Παναγιώτου Μ., 1998. Ενζυμολογία Τροφίμων. Πανεπιστημιακές εκδόσεις.
- Γιαννακοπούλου Ε., 2009. Oxidative stress- Antioxidant mechanism: Clinical implications. Archives of Hellenic Medicine. 26(1):23-35.
- Γεωργιάτσος Ι., 2001. Ενζυμολογία. Εκδόσεις Ζητη.
- Διαμαντίδης Γ., 2007. Εισαγωγή στη Βιοχημεία. Τρίτη έκδοση, Εκδόσεις University studio Press.
- Διαμαντίδης, Γ., 1994. Εισαγωγή στη Βιοχημεία. Εκδόσεις University Studio Press. Θεσσαλονίκη.
- Ζέρβας Γ., 2013. Διατροφή Μηρυκαστικών ζώων. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Ζέρβας Γ., 2005. Φυσιολογία Θρέψης Παραγωγικών ζώων. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Ζέρβας, Γ. (2007). Κατάρτιση Σιτηρεσίων Παραγωγικών Ζώων. *Εκδ. Αθ. Σταμούλης*
- Ζέρβας, Γ., Καλαϊσάκης, Π., Φεγγερός, Κ. (2004). Διατροφή Αγροτικών Ζώων. *Εκδ. Αθ. Σταμούλης*
- Καμιναρίδης Σ., Μοάτσου Γ., 2009. Γαλακτοκομία. Εκδόσεις Έμβρυο.
- Κλώνης Ι., 2007. Ενζυμολογία. Εκδόσεις Έμβρυο.
- Κλώνης Ι., 1997. Ενζυμική βιοτεχνολογία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Κυριακίδης Δ., 1991. Εφαρμοσμένη ενζυμολογία. Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαπούλη.
- Μάντη Α., 2011. Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη.
- Νήτας, Δ., Πετρίδου, Α., Καραλάζος, Β., Μούγιος, Β., Σινάπης, Ε., Μίχας, Β., Άμπας, Ζ., κ Νήτα, Σ., 2007. Επίδραση ακατέργαστων και κατεργασμένων σπερμάτων σόγιας στη χημική σύσταση, στο

προφίλ των λιπαρών οξέων και στο CLA πρόβειου γάλακτος. Επιθεώρηση Ζωοτεχνικής Επιστήμης, Ειδική Έκδοση, 33:106

Νήτας, Δ., Πετρίδου, Α., Καραλάζος, Β., Μούγιος, Β., Σινάπης, Ε., Μίχας, Β., Άμπας, Ζ., Νήτα, Σ. και Καραλάζος, Α., 2009. Επίδραση ακατέργαστου και αλεσμένου βαμβακόσπορου στη χημική σύσταση, στο προφίλ των λιπαρών οξέων και στο CLA πρόβειου γάλακτος. Επιθεώρηση Ζωοτεχνικής Επιστήμης, 39:3-22

Παπαγεωργίου Γ., 2005. Βιοχημεία Ελεύθερων ριζών- Αντιοξειδωτικά και λιπιδική υπεροξειδωση. Εκδόσεις University Studio Press.

Σπάης Α., Χρηστάλη Ε., Φλώρου Π., 2002. Ζωοτροφές και Σιτηρέσια. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία.

Τρακατέλλη Α., 2001. Βιοχημεία. Εκδόσεις Αφοι Κυριακίδη.

Τσιπλάκου, Ε., Μουντζούρης, Κ., Ζαρζούρας, Ι. και Ζέρβας, Γ., 2005. Παραγωγή CLA σε τέσσερις φυλές προβάτων κάτω από ίδιες συνθήκες διαχείρισης και ιδιαίτερα διατροφής. Επιθεώρηση Ζωοτεχνικής Επιστήμης, Ειδική Έκδοση, 30:48

Χατζηπαναγιώτου Α., 1996. Εισαγωγή στη Βιοχημεία της Ζωϊκής Παραγωγής. Εκδόσεις Πήγασος. Θεσσαλονίκη.

Belitz H., Grosch W., Schieberle P., 2006. Χημεία Τροφίμων, Τρίτη έκδοση. Εκδόσεις Τζιόλα.

Ξένη Βιβλιογραφία

AbuGhazaleh, A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen and E.K. Kalscheur, 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profile. *J. Dairy Sci.*, 86: 944-953.

Abu-Ghazaleh, A.A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen and L. A. Whitlock, 2002. Feeding Fish Meal and Extruded Soybeans Enhances the Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content of Milk. *J. Dairy Sci.*, 85:624-631.

Adler, S.A., A.V.Dahl, S.K.Jensen, E.Thuen, A.-M.Gustavsson, H. Steinshamn, 2013. Fatty acid composition, fat-soluble vitamin concentrations and oxidative stability in bovine milk produced on two pastures with different botanical composition. *Livestock Science* 154(2013)93-102.

Aldai, N., B.E. Murray, A.I. Najera, D.J. Troy. and K. Osoro, 2005. Review: Derivation of fatty acids and its application for conjugated linoleic acid studies in ruminant meat lipids. *J. Sci. Food Agric.*, 85:1073-1083.

Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M. J., Juarez, M. (1999). Fatty acid composition of caprina milk: Major, branched-chain, and trans fatty acids. *J. Dairy Res*, 48, 247-252.

Andrade, P. V., & Schmidely, P. (2006). Influence of percentage of concentrate in combination with rolled canola seeds on compositions in dairy goats. *Livest. Sci*, 104, 77-90.

- Arieli, A., 1998. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 72:97–110.
- Ascherio, A. and W.C. Willet, 1995. New directions in physical studies on Coronary Heart Disease. *J. Nutr.*, 125:647S-655S.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis*. Vol. II. 15th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Bauman, D.E., Perfield I, J.W., and Lock, A.L., 2004. Effect of trans fatty acids on milk fat and their impact on human health.
- Barber, M. C., Clegg, R. A., Travers, M. T., & Vernon, R. G. (1997). Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim. Biophys. Acta*, 1347, 101-126.
- Barbosa, De'cio Sabbatini, Rubens Cecchini, Mirian Zebian El Kadri, Maria Aparecida Marchesan Rodri'guez, Roberto Carlos Burini, and Isaias Dichi. Decreased Oxidative Stress in Patients With Ulcerative Colitis Supplemented With Fish Oil ω -3 Fatty Acids.
- Baer, R.J., J. Ryali, D.J. Schingoethe, K.M. Kasperson, D.C. Donovan, A.R. Hippen and S.T. Franklin, 2001. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci.*, 84:345-353.
- Barbosa E, C. Oliveira, S. Casal, L. Soares, A.P. Vale, J.C. Lopes, B. Oliveira & N.V. Brito, 2003. Quantification and variability of conjugated linoleic acids levels in sheep milk of two autochthonous portuguese breeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2:1–5
- Barlowska, J., Litwinczuk, Z., & Topyla, B. (2005). Physical-chemical parameters of milk from different cow breeds in spring-summer feeding period. *Med. Weter*, 61, 937-939.
- Bartlett, J.C. and D.G. Chapman, 1961. Detection of hydrogenated fats in butter fat by measurement of *cis-trans* conjugated unsaturation. *Agri. Food Chem.*, 9: 50-53.
- Bauman, D. E., L. H. Baumgard, B. A. Corl and J. M. Griinari, 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.*, 1999.
- Bauman, D. E., I. H. Mather, R. J. Wall and A. L. Lock, 2006. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.*, 89:1235–1243.
- Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A., & Griinari, J. M. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *American Society of Animal Science*.
- Bauman, D. E., Corl, B. A., & Peterson, D. G. (2003). The Biology of Conjugated Linoleic Acids in Ruminants. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, 2, 146-173.
- Baumgard, L. H., B. A. Corl, D. A. Dwyer, A. Sæbø, and D. E. Bauman, 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.*, 278:R179-R184.
- Beam, T.M., T.C. Jenkins, P.J. Moate, R.A. Kohn and D.L. Palmquist, 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.*, 83: 2564-2573.

- Belury MA (2002) Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Ann. Rev.Nutr.*, 22, 505-531
- Bernabicci, U., Ronchi, B., Lacetera, N. and Nardone, A., 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *American dairy science association* 88: 2017-2026.
- Berner LA (1993) Round table discussion on milk fat, dairy foods and coronary heart disease risk. *Journal of nutr.* 123, 1175-1184
- Beroza M, Kinman ML. Sesamin, sesamol and sesamol content of the oil of sesame seed as affected by strain, location growth, aging, and frost damage. *J Am Oil Chem Soc* 1955;32:348- 50.
- Bendich, A., 1990. Antioxidant micronutrients and immune responses. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 587:168-180.
- Benzie, I., Chung, W.Y., Strain, J.J., 1999. Antioxidant efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *Journal of Nutrition Biochemical.* 10, 146-149.
- Benzie, I.F.F., and Strain J.J.(1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. The FRAP assay. *Analytical biochemistry* 239, 70-76. Article 0292.
- Bickerstaff R, Annison E.F (1970). The desaturase activity of goat and sow mammary tissue. *Comp. Biochem. Physiol.*35, 653-665
- Blankson H, Stakkestad J.A, Fagertun H (2000) Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J.Nutr.*130, 2943-2948
- Bocquier, F., F. Barillet, P. Guilloouet and M. Jacquin. 1993. Pr evision de l'énergie du lait de brebis a partir de différents résultats d'analyses: proposition de lait standard pour les brebis laiti res. *Ann Zootech.*, 42:57-66.
- Booth, R.G., S.K. Kon, W.J. Dann and T. Moore, 1935. A study of seasonal variation in butter fat. II. A seasonal spectroscopic variation in the fatty acid fraction. *Biochem. J.*, 29: 133-137.
- Borchani C., Besdes S., Blicher Ch., Attia H., 2010. Chemical characteristics and oxidative stability of sesame seed, sesame paste and olive oils. *J.Agr. Sci. Tech.* Vol 12: 585-596.
- Boyland, E. and Chasseaud, L.F. The Role of Glutathione and Glutathione S Transferase in Mercaptic Acid Biosynthesis. *Adv. Enzymol.* 32 173 – 219 (1969)
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Bremmer, D.R., L.D. Ruppert, J.H. Clark and J.K. Drackley, 1998. Effects of chain length and unsaturation of fatty acid mixtures infused into the abomasums of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 81:176-188.
- Brito A.F., Petit H.V., Pereira B.D., Soder K.J.,and Ross S., 2015. Interactions of corn meal or molasses with a soybean- sunflower meal mix or flaxseed meal on production, milk fatty acid composition, and nutrient utilization in dairy cows fed grass hay-based diets. *J. Dairy SCI.* 98:443-457.

- Cabiddu, A., Decandia, M., Sitzia, M., Molle, G., 2000. A note on the chemical composition and tannin content of some Mediterranean shrubs browsed by Sarda goats. In: 8th Seminar on Sheep and Goat Nutrition: Intake, Digestion, Metabolism, Quality of Products and Rangelands. Cahier Options Mediterraneennes, 52:175–178.
- Cabiddu, A., M. Decandia, M. Addis, G. Piredda, A. Pirisi and G. Molle, 2005. Managing Mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research*, 59:169–180.
- Chance, B. and Maehly, A.C. (1955) *Methods in Enzymology*, II, 773-775.
- Chibuike, C., Udenigwe, C.C., Aluko, R.E., 2012. Foodprotein-derived bioactive peptides: production, processing and potential health benefits. *J. Food Sci.* 71, 11–24.
- Chilliard, Y. and Doreau, M., 1997. Influence of supplementary fish oil and rumen-protected methionine on milk yield and composition in dairy cows. *Journal of Dairy research*, 64, 173-175.
- Chilliard, Y., J. M. Chardigny, J. Chabrot, A. Ollier, J. L. Sebedio, and M. Doreau, 1999. Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supply on conjugated linoleic acid (CLA) content of cow milk fat. *Proc. Nutr. Soc.*, 58:70 (Abstr.).
- Chilliard, Y., A. Ferlay, R. M. Mansbridge and M. Doreau, 2000. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 49:181–205.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, J. Rouel and G. Lamberet, 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.*, 86: 1751-1770.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., & Doreau, N. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 109, 828-855
- Chilliard, Y., Rouel, J., Chabosseau, J. M., Capitan, P., Caborit, P., & Ferlay, A. (2003, August 31). Interactions between raygras preservation and linseed oil supplementation on goat milk yield and composition, including trans and conjugated fatty acids. *Book of Abstracts of the 54th Annual Meeting of European Association for Animal Production*, 2003.
- Chilliard, Y., Rouel, J., Chabosseau, J. M., Capitan, P., Caborit, P., & Ferlay, A. (2003, August 31). Interactions between raygras preservation and linseed oil supplementation on goat milk yield and composition, including trans and conjugated fatty acids. *Book of Abstracts of the 54th Annual Meeting of European Association for Animal Production*, 2003.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., & Lamberet, G. (2003). A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J Dairy Sci*, (86), 1751-1770.
- Chilliard, Y., & Ferlay, A. (2004). Dietary lipids and forage interactions on cow and goats milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutri. Dev.*, 44, 467-492.
- Chin, S.F., W. Liu, J.M. Storkson, Y.L. Ha and M.W. Pariza, 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, 5:185-197.

Chisholm A, Mann J, Sutherland DW, Duncan A, Skeaff M, Frampton C (1996) Effect on lipoprotein profile of replacing butter with margarine in a low fat diet: randomised cross-over study with hypercholesterolaemic subjects. *Brit.Medical J.*312, 931-934

Choi, A. M., Lee, S. B., Cho, S. H., Hwang, I., Hur, C. G., & Suh, M. C. (2008). Isolation and characterization of multiple abundant lipid transfer protein isoforms in developing sesame seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(2), 127

Chouinard, P.Y., L. Corneau, M. L. Kelly, J. M. Griinari, and D. E. Bauman, 1998. Effect of dietary manipulation on milk conjugate linoleic acid concentrations. *J.Dairy Sci.*, 81:233 (Abstr.).

Chouinard, P.Y., L. Corneau, W.R. Butler, Y. Chilliard, J.K. Drackley and D.E. Bauman, 2001. Effect of dietary lipid sources on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.*, 84:680–690.

Collomb Marius, Schmid Alexandra, Sieber Robert, Wechsler Daniel, Ryhanen Eeva- Liisa (2006) Conjugated linoleic acid in milk fat: Variation and physiological effects. *International dairy journal* 16 , 1347-1361

Corl, B.A., S.H. Lacy, L.A. Baumgard, D.A. Dayer, J.M. Griinari, B.S. Phillips and D.E. Bauman, 1999. Examination of the importance of $\Delta 9$ -desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 77 (Suppl.1):118(Abstr.).

Corl, B.A., L.H. Baumgard, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, B.S. Phillips and D.E. Bauman, 2001. The role of delta(9)-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.*, 12: 622-630.

Cortes, C., Palin, M., Gagnon, N., Benchaar, C., Lacasse, P. and Petit, H., 2012. Mammary gene expression and activity of antioxidant enzymes and concentration of the mammalian lignin enterolactone in milk and plasma of dairy cows fed flax lignans and infused with flax oil in the abomasum. *British Journal of Nutrition* 108, 1390-1398.

Dayani O., Ghorbani G., Entz T., Ross M., Shah M.A., Beauchemin K.A., Mir P.S., and Mir Z., 2003. Effect of dietary soybean or sunflower seeds on milk production, milk fatty acid profile and yield of conjugated linoleic acid. *Canadian Journal of Animal Science*.

De Marchi F.E., Palin M.-F., dos Santos G.T., Lima L.S., Benchaar C., Petit H.V. 2015 Flax meal supplementation on the activity of antioxidant enzymes and the expression of oxidative stress- and lipogenic-related genes in dairy cows infused with sunflower oil in the abomasum. *Animal feed Science and technology* 199 pp 41-50.

Delbicchi, L., C.E. Ahnadi, J.J. Kennelly and P. Lacasse, 2001. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. *J. Dairy Sci.*, 84:1375-1381.

Dhiman, T.R., G.R. Anand, L.D. Satter and M.W. Pariza, 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.*, 82:2146-2156.

Dhiman, T. R., L. D. Satter, M. W. Pariza, M. P. Galli, K. Albright and M. X. Tolosa, 2000. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in Linoleic and Linolenic Acid. *J. Dairy Sci.*, 83:1016–1027.

Dhiman Tilak R, Nam Seung-hee, Ure Amy L (2005) Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Critical reviews in food science and nutrition*,

45: 463-482

Depeters, E.J., S.J. Taylor, A.A. Franke and A. Aguirre, 1985. Effects of feeding whole cottonseed on composition of milk. *J. Dairy Sci.* 68:897-902.

Donovan, D.C., D.J. Schingoethe, R.J. Baer, J. Ryali, A.R. Hippen and S.T. Franklin, 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. and Chilliard, Y., 1997. Effects of ruminal or postruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. *Nutrition Development*, 37, 11

Doreau, M. and A. Ferlay, 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 45: 379–396.

Doreau, M. and C. Poncet, 2000. Ruminal biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reprod. Nutr. Dev.* 40:201.

Drackley J.K. and Scingoethe D.J. 1986. Extruded Blend of soybean meal and sunflower seeds for dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 69: 371-384.

Duckett, S.K., J.G. Andrae and F.N. Owens, 2002. Effect of high-oil corn or added corn oil diet on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.*, 80:3353-3360. 3-124.

Enjalbert, F., Nicot, E. F., Bayourthe, C., & Moncoulon, R. (1998). Doudenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows. *J Nutr*, (128), 1525-1532.

Fox, P.F., A.L. Kelly, 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects–Part 1, Review. *International Dairy Journal* 16 (2006) 500–516.

Fox, P.F., A.L. Kelly, 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects–Part 2, Review. *International Dairy Journal* 16 (2006) 517–532.

Fox, P.F., A.L. Kelly, 2006. Indigenous enzymes in milk: A synopsis of future research requirements, Review. *International Dairy Journal* 16 (2006) 707–715.

Fukuda, Y., & Namiki, M. (1988). Recent studies on sesame seed and oil. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35, 552–562.

Fukuda, Y. (1990). Food chemical studies on antioxidants in sesame seed. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37, 484–492.

Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T., & Namiki, M. (1986). Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 857–862.

- Fukuda, Y., Osawa, T., & Namiki, M. (1985). Studies on the enhancement in antioxidative activity of sesame seed induced by germination. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 32, 407–412.
- Fukuda Y, Nagata T, Osawa T, Namiki M. Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. *J Am Oil Chem Soc* 1986;63:1027- 31.
- Gagnon N, Cortes C, Da Silva D, et al., 2009 Ruminant metabolism of flaxseed lignans to the mammalian lignin enterolactone and its concentration in ruminal fluid, plasma, urine and milk of dairy cows. *Br J. Nutr* 102, 1015-1023.
- Garnsworthy, P. C., Masson, L. L., Lock, A. L., & Mottran, T. T. (2006). Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 89, 1604-1612.
- Ginnari, J. M., & Bauman, D. E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *Am Oil Chem Soc Press, Champaign, Illinois, 1*, 180-200.
- Givens, D. I., & Shingfield, K. J. (2006). Optimizing dairy milk fatty acid composition. *Cambridge*, 252-280.
- Givens, D.I., Cottill, B.R., Davies, M., Lee, P., Mansbridge, R., and Moss, A.R., 1997. Sources of n-3 polyunsaturated fatty acids additional to fish oil for livestock diets. Report, MAFF project OC9514, Ministry of Agriculture Fisheries and Food, London, U.K.
- Gobert, M., Martin, B., Ferlay, A. et al., 2009. Plant polyphenols associated with vit E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science* 92, 6095-6104.
- Gobberti M., Minervini F. and Rizzello C. G. (2007): Bioactive peptides in dairy products. In: *Handbook of Food Products Manufacturing* Y.H. Hui (ed). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, pp 489-517
- Glover, K.E., Budge, S., Rose, M., Rupasinghe, P.V., 2012. Effect of feeding fresh forage and marine algae on the fatty acid composition and oxidation of milk and butter. *American dairy science association* 95: 2797-2809.
- Gobert M, Martin B, Ferlay A et al., (2009) Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci* 92, 6095-6104.
- Corso, M. P. (2008). Estudo da extração de óleo de sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) empregando os solventes dióxido de carbono supercrítico e N-propano pressurizado. (Tese de Mestrado). Toledo-PR: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
- Fujimoto, A., Shingai, Y., Oyama, T. B., Kawanai, T., Hashimoto, E., Koizumi, K., et al. (2010). Apoptosis-inducing action of two products from oxidation of sesamol, an antioxidative constituent of sesame oil: A possible cytotoxicity of oxidized antioxidant. *Toxicology in Vitro*, 24, 1720–1726.

Griinari, J.M. and D.E. Bauman, 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza and G.J. Nelson (ed). *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Vol. I., pp: 180-200. AOCS Press, Champaign, IL.

Griinari, J.M., B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V.V. Nurmela and D.E. Bauman, 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta(9)-desaturase. *J. Nutr.*, 130:2285-2291.

Grotto, D., Juliana Vicentini, Jose' Pedro Friedmann Angeli, Elder Francisco Latorraca, Patrícia Alves Pontes Monteiro, Gustavo Rafael Mazzaron Barcelos, Sabrina Somacal, Tatiana Emanuelli, Fernando Barbosa Jra, 2011. Evaluation of protective effects of fishoil against oxidative damage in rats exposed to methylmercury. *Journal Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 487-493.

Gulati, S. K., Byers, S. M., Byers, Y. G., Ashes, J. R., & Scott, T. W. (1997). Effect of feeding different fat supplements on the fatty acid composition of goat milk. *Anim. Feed Sci. Technol*, 66,159-164

Ha YL, Storkson JS, Pariza MW (1990). Inhibition of benzo (a) pyreneinduced mouse forestomach neoplasia by conjugated linoleic acid. *Cancer Res.* 50, 1097-1101.

Ha, Y.L., N.K. Grimm and M.W. Pariza, 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8:1881-1887.

Habig, W. H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S- transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130-7139.

Haenlein (2004): Goat milk in human nutrition. *Small Rumin Res* 51: 155-163

Harfoot, C. G., R. C. Noble and J. H. Moore, 1973. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen micro-organisms *in vitro*. *J. Sci. Food Agric.*, 24:961-970.

Harfoot, C.G. and G. P. Hazlewood, 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson, P.N. (ed.). *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Applied Science, London, New York.

Hirata F, Fujita K, Ishikura Y, Hosoda K, Ishikawa T, Nakamura H. Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. *Atherosclerosis* 1996;122:135-6.

Hirose, N., Doi, F., Ueki, T., Akazawa, K., Chijiwa, K., Sugano, M., et al. (1992). Suppressive effect of sesamin against 7,12-dimethylbenz[a]-anthracene induced rat mammary carcinogenesis. *Anticancer Research*, 12, 1259-1265.

Holman, R.T. and M.M. Mahfouz, 1981. *Cis*- and *trans*- octadecadienoic acid as precursors of polyunsaturated fatty acids. *Prog. Lipid Res.*, 20:151-156

House-Knecht KL, Vander Heuvel JP, Moya Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, Belury MA (1998) Dietary conjugated linoleic acid normalises impaired glucose tolerance in the Zuckler diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 678-682.

Hristov A. N., Domitrovich C., Wachter A., Cassidy T., Lee C., Shingfield K. J., Kairenius P., Davis J., and Brown J. Effect of replacing solvent-extracted canola meal with high-oil traditional canola, high-oleic acid canola, or high-erucic acid rapeseed meals on rumen fermentation, digestibility, milk production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 :4057–4074. American Dairy Science Association®, 2011 .

Hsu, D. Z., Wan, C. H., Hsu, H. F., Lin, Y. M., & Liu, M. Y. (2008). The prophylactic protective effect of sesamol against ferric-nitrosyltriacetate-induced acute renal injury in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2736–2741

Hsu, Hsiu-Ching, Yuan-Teh Lee, Ming-Fong Chen, 2001. Effects of fish oil and vitamin E on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 66 (2001) 99–108.

Hurtaud & Peyraud. 2007. Effects of feeding camelina (seeds or meal) on milk fatty acid composition and butter spreadability. American Dairy Science Association, 2007. *J. Dairy Sci.* 90: 5134-5146

Ide, T., Nakashima, Y., Iida, H., Yasumoto, S., & Katsuta, M. (2009). Lipid metabolism and nutrigenomics — Impact of sesame lignans on gene expression profiles and fatty acid oxidation in rat liver. *Forum of Nutrition*, 61, 10–24.

Ikeda, S., Kagaya, M., Kobayashi, K., Tohyama, T., Kiso, Y., Higuchi, N., et al. (2003). Dietary sesame lignans decrease lipid peroxidation in rats fed docosahexaenoic acid. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*, 49(4), 270.

Ikeda S, Tohyama T, Yamashita K. Dietary sesame seed and its lignans inhibit 2,7,8-trimethyl- 2(2V-carboxyethyl) -6-hydroxychroman excretion into urine of rats fed gamma tocopherol. *J Nutr* 2002; 132:961-6.

Ip, C., M. Singh, H.J. Thompson and J.A. Scimeca, 1994. Conjugated Linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 54: 1212-1215.

Jang- Hyuk Ahn, Young-pil Kim, Eun-Mi Seo, Young-Ki Choi and Hak-Sung Kim, 2008. Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of food engineering* 84, 327-334.

Jahreis, G., J. Fritsche and H. Steinhart, 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutr. Res.*, 17: 1479-1484.

Jahreis, G., J. Fritsche, P. Mockel, F. Schone, U. Moller and H. Steinhart, 1999. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18:2, in milk of different species: Cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr. Res.* 19: 1541–1549.

Jenkins, T.C. and M.A. McGuire, 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *J. Dairy Sci.*, 89:1302-1310.

- Jensen, R. G. (2002). Invited Review: The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci*, 85, 295-350.
- Jiang, J., L. Bjoerck, R. Fonden and M. Emanuelson, 1996. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feeds and dietary regimen. *J. Dairy Sci.*, 79:438-445.
- Joseph, K.M, Muralidhara, 2013. Enhanced neuroprotective effect of fish oil in combination with quercetin against 3-nitropropionic acid induced oxidative stress in rat brain. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 40 (2013) 83–92.
- Kalaisakis, P., 1982. Animal nutrition and feeding. Agric. Univ. of Athens (Ed), Athens, Greece.
- Kamal-Eldin, A., Moazzami, A., & Washi, S. (2011). Sesame seed lignans: potent physiological modulators and possible ingredients in functional foods & nutraceuticals. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 3, 17–29.
- Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. A. (1994). Variation in fatty acid composition of the different acyl lipids in seed oils from four sesamum species. *JAOCS*, 71, 135–139.
- Kang, M. H., Kawai, Y., Naito, M., & Osawa, T. (1999). Dietary defatted sesame flour decrease susceptibility to oxidative stress in hypercholesterolemic rabbits. *J. Nutr.*, 129, 1885–1890.
- Kang MH, Naito M, Tsujihara N, Osawa T. Sesamol inhibits lipid peroxidation in rat liver and kidney. *J Nutr* 1998;128:1018- 22.
- Kang MH, Katsuzaki H, Osawa T. Inhibition of 2,2V-azobis(2,4-dimethylvaleronitrile) induced lipid peroxidation by sesaminol. *Lipids* 1998;33:10316.
- Kang MH, Naito M, Sakai K, Uchida K, Osawa T. Mode of action of sesame lignans in protecting lowdensity lipoprotein against oxidative damage in vitro. *Life Sci* 2000;66:161- 71.
- Katsuzaki H, Kawakishi S, Osawa T. Sesaminol glucosides in sesame seeds. *Phytochemistry* 1994;35:773-6.
- Katsuzaki H, Kawasumi M, Kawakishi S, Osawa T. Structure of novel antioxidative lignan glucosides isolated from sesame seed. *Biosci Biotechnol Biochem* 1992;56:2087-8.
- Kay, J. K., T. R. Mackle, M. J. Auldist, N. A. Thomson and D. E. Bauman, 2004. Endogenous synthesis of cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.*, 87:369–378.
- Kay, J. K., Weber, W. J., Moore, C. E., Bauman, D. E., Hansen, L. B., & Baumgard, L. H. (n.d.). Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 86, 2588-2897.
- Kay, J. K., Roche, J. R., Kolver, E. S., Thomson, N. A., & Baumgard, L. H. (2005). A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profile in dairy cows. *J. Dairy Res*, 72, 322-332.
- Keesey, J. (1987) in *Biochemica Information*, pp. 49, First Edition, Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, IN

- Keeney, M. (1970). Lipid metabolism in the ruminant. Physiology of digestion and metabolism in the ruminant, Oriel Press, Newcastle Upon Tyne, 489-503.
- Kelley N.S, Hubbard N.E and Erickson K.L (2007) Conjugated linoleic acid isomers and cancer. Journal of nutrition 137:2599-2607
- Kelly, M. L., Kolver, E. S., Bauman, D. E., Van Amburgh, M. E., & Muller, L. D. (1998). Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci*, 81, 1630-1636.
- Kelly, M. L., J. R. Berry, D. A. Dwyer, J. M. Griinari, P. Y. Chouinard, M.E.V. Amburgh and D. E. Bauman, 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 128:881–885.
- Kelly, M.L. and Bauman, D.E., 1996. Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat. Proceedings Cornell Nutrition Conference for feed Manufactures, pp 68-74. Cornell Univ. Ithaca N.Y., USA.
- Kelsey J.A, Corl B.A, Collier R.J, Bauman D.E (2003). The effect of breed, parity and stage of lactation on conjugated linoleic acid in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86:2588-2597
- Kenelly, J.J., 1996. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. *Animal feed science and technology*, 60, 137-152.
- Kelsey, J.A., B.A. Corl, R.J. Collier and D.E. Bauman, 2003. The effect of breed, parity and stage of lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86:2588-2597.
- Kepler, C.R., K.P. Hirons, J.J. McNeil and S.B. Tove, 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 241:1350-1354.
- Khanal, R.C. and T.R. Dhiman, 2004. Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid (CLA): A Review. *Pakistan J. Nutr.*, 3 (2): 72-81.
- Khanal, R.C. and K.C. Olson, 2004. Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content in Milk, Meat, and Egg: A Review. *Pakistan J. Nutr.*, 3 (2): 82-98.
- Khanal, R. C., T. R. Dhiman, A. L. Ure, C. P. Brennan, R. L. Boman, and D. J. McMahon, 2005. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. *J. Dairy Sci.*, 88:1837–1847.
- Kinsella, J., Lokesh, B. and Stone, R.A., 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible problems. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52, 1-28.
- Kita, S., Matsumura, Y., Morimoto, S., Akimoto, K., Furuya, M., Oka, N., & Tanaka, T. (1995). Antihypertensive effect of sesamin. II. Protection against two-kidney, one-clip renal hypertension and cardiovascular hypertrophy. *Biol. Pharm. Bull*, 18, 1283–1285.
- Klaus W.J. Wahle, Steven D. Heys, Dino Rotondo, 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*, 43: 553–587

- Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Pukkala E, Aromaa A (1996) Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *British journal of cancer* 73, 687-691
- Komprda, T., Dvorak, R., Fialova, M., Sustova, K., & Pechova, A. (2005). Fatty acid content in milk of dairy cows on a diet with high fat content derived from rapeseed. *Czech J. Anim. Sci*, 50, 311-319.
- Kris-Etherton, P.M. and S. Yu, 1997. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65:1628S–1644S.
- Kritchevsky, D., S.A. Tepper, S. Wright, P. Tso and S. K. Czarnecki, 2000. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Am. Coll. Nutr.*, 19:472S-477S.
- Kumar R, Bhatia A, Arora D (2009). Health benefits of conjugated linoleic acid :A review. *Journal of clinical and diagnostic research* 3:1953-1967
- Lacasse, P., Kennelly, J.J. and Ahnadi, C.E., 1998. Feeding protected and unprotected fish oil to dairy cows : Effect on milk fat composition. *Journal of animal science* 76, 231.
- Larsson S.C, Bergkvist L, Wolk A (2005) High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. *The American journal of clinical nutrition* 82, 894-900.
- Lawless, F., J. J. Murphy, D. Harrington, R. Devery and C. Stanton, 1998. Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.*, 81:3259–3267.
- Lee, K.N., D. Kritchevsky and M.W. Pariza, 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108:19-25.
- Lindmark-MaËnsson, Helena and B. AË kesson, 2000. Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition* (2000), 84, S 103-110.
- Liu, Z.L., D.P. Yang, P. Chen, S.B. Lin, X.Y. Jiang, W.S. Zhao, J.M. Li and W.X. Dong, 2008. Effect of dietary sources of roasted oilseeds on blood parameters and milk fatty acid composition. *Czech J. Anim. Sci.*, 53 (5):219–226.
- Ledoux, M., Rouzeau, A., Bas, P., & Sauvant, D. (2002). Occurrence of trans C18:1 fatty acids isomers in goat milk: Effect of two dietary regimens. *J Dairy Sci*, 85, 190-197.
- Lock, A. L., & Garnsworthy, P. C. (2002). Independent effects of dietary linoleic and linolenic acids on the conjugated linoleic acid content of cow's milk. *Animl. Scien*, 74, 163-176.
- Lock A.L, Bauman D.E (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 39, 1197-1206.
- Lock A.L, Horne C.A.M, Bauman D.E, Salter A.M (2005) Butter naturally enriched in conjugated linoleic acid and vaccenic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamsters. *Journal of nutr.* 135, 1934-1939.

- Mannervik, B. The isozymes of Glutathione Transferase. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 57, 357-417 (1985).
- McCord, J. M. and Fridovich, I. (1969) *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055
- McDonald J.K (1980) In *veterinary endocrinology and reproduction*. Ed LE McDonald Philadelphia
- Loor, J. J., Ferlay, A., Ollier, A., & Chilliard, Y. (2005). Relationship Among Trans and Conjugated Fatty Acids and Bovine Milk Fat Yield Due to Dietary Concentrate and Linseed oil. *American Dairy Science Association*, 88, 726-740.
- Loor, J. J., Ferlay, A., Ollier, A., Doreau, M., & Chilliard, Y. (2002, July). Conjugated linoleic acids (CLA), trans fatty acids, and lipid content in milk from Holstein cows fed a high or low fiber diet with two levels of linseed oil. *J Dairy Sci*, 85, 22-24.
- Loor, J. J., Ferlay, A., Ollier, A., Doreau, M., & Chilliard, Y. (2005). Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J. Dairy Sci*, 2005, 726-740.
- Lock, A.L. and P.C. Garnsworthy, 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows milk. *J. Anim.Sci.*, 74: 163-176.
- Lock, A.L. and D.E., Bauman, 2004. Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health. *Lipids*, 39:1197-1206.
- Loor, J.J. and J.H., Herbein, 1998. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. Nutr.*, 128:2411-2419.
- Loor, J.J., J.H. Herbein and C.E. Polan, 2002. *trans*18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solventextracted or mechanically extracted soybean meal. *J. Dairy Sci.*, 85:1197-1207.
- Lough, A.K., Anderson, L.J., 1973. Effect of ensilage on the lipids of pasture grasses. *Proc. Nutr. Soc.*, 32:61A-62A.
- Madron, M.S., D.G. Peterson, D.A. Dwyer, B.A. Corl, L.H. Baumgard, D.H. Beerman and D.E. Bauman, 2002. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. *J. Anim. Sci.*, 80: 1135-1143.
- Manal A.M. Hassan, 2012. Studies on Egyptian sesame seeds and its products 1- Physicochemical Analysis and Phenolic Acids of roasted Egyptian sesame seeds. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 7 (2): 195-201.
- Mangia, N.P., M.A. Murgia, G. Garau, R. Rubattu and A. Nudda, 2007. Season and altitude effects on milk fatty acid profile in Sarda dairy sheep flocks. *Ital. J. Anim. Sci.*, 6:555 (Abstr.)
- Marino, V.M, I. Schadt, S. Carpino, M. Caccamo, S. La Terra, C. Guardiano and G. Licitra, 2014. Effect of Sicilian pasture feeding management on content of α -tocopherol and β -carotene in cow milk. *Journal of American dairy science association* 97: 1-9.
- Mansooriyar M., Amanlou H., Dehghan- Banadaky M., Mahjoubi E., & Keshavarz V., 2011. Sunflower meal as a prepartal protein supplement to increase dry matter intake in Holstein cows: Contrast with conventional beliefs. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 61: 55-59.

- Martel, C.A., Bradford, B.J. and Titgemeyer, E.C., 2009. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression.
- Martin, S.A. and T.C. Jenkins, 2002. Factors affecting conjugated linoleic acid and *trans*-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.*, 3347-3352.
- Mavis, R.D. and Stellwagen, E. (1968) *Journal of Biological Chemistry* 243, 809-814.
- Mele, M., A. Buccioni, F. Petacchi, A. Serra, S. Banni, M. Antongiovanni and P. Secchiari, 2006. Effect of forage/concentrate ratio and soybean oil supplementation on milk yield, and composition from Sarda ewes. *Anim. Res.*, 55:273–285.
- Mele, M., Conte, G., Castiglioni, B., Chessa, S., Macciota, N. P., & Secchiari, P. (2007). Steroyl-coenzyme A desaturate gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 90, 4458-4465.
- Miller, C.C., Y. Park, M.W., Pariza and M.E. Cook, 1994. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 198:1107-1112.
- Miller, W.F., J.E. Shirley, E.C. Titgemeyer and M.J. Brouk, 2009. Comparison of full fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 92:3386-3391.
- Miller G.D, Jarvis J.K, Mc Bean L.D (2004). *Handbook of dairy foods and nutrition* (Second edition) CRC Press, New York 423 pp
- Miyasaka, C. K., J. A. Alves de Souza, R. P. Torres, J. Mancini Filho, F. M. Lajolo and R. Curi (1998). Effect of the Administration of Fish Oil by Gavage on Activities of Antioxidant Enzymes of Rat Lymphoid Organs. *Elsevier Science Inc Vol. 30, No. 5, pp. 759–762.*
- Mohdaly, A. A. A., Smetanska, I., Ramadan, M. F., Sarhan, M. A., & Mahmoud, A. (2011). Antioxidant potential of sesame (*Sesamun indicium*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products*, 34, 952–959.
- Mohede, I., Albers, R., Van der Wielen, R., Brink, L., & Dorovska-Taran, V. (2001). Immunomodulation: CLA stimulates antigen specific antibody production in humans. 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid (CLA), Alesund (Norway).
- Moloney F, Yeow T.P, Mullen A, Nolan J.J, Roche H.M (2004) Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *American Journal Clinical Nutrition*. 80:887-95
- Moloney F, Yeow T.P, Mullen A, Nolan J.J, Roche H.M (2004) Lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Clin.Nutr.* 80(4):887-95
- Morales, M.S, Palmquist, D.L., and W.P. Weiss, 2000. Milk fat composition of Holstein and Jersey cows with control or depleted copper status and fed whole soybeans or tallow. *J. Dairy Sci.*, 83: 2112-2119.

- Moutsoulis, A., D.C. Rule, C.M. Murrieta, D.E. Bauman, A.L. Lock, D.M. Barbano and G.B. Carey, 2008. Human breast milk enrichment in conjugated linoleic acid after consumption of a conjugated linoleic acid-rich food product: a pilot study. *Nutrition Research*, 28:437–442.
- Muia J.M.K., Tamminga S., Mbugua P.N., 2000. Effect of supplementing napier grass with sunflower meal or poultry litter-based concentrates on feed intake, live-weight changes and economics of milk production in Friesian cows. *Livestock production science* 67: 89-99.
- Nagashima, M., Fukuda, Y., & Ito, R. (1999). Antioxidative lignans from industrial wastewater in cleaning of black sesame seed. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 46, 1382–388.
- Nakano D, Itoh C, Ishii F, Kawanishi H, Takaoka M, Kiso Y, et al. Effects of sesamin on aortic oxidative stress and endothelial dysfunction in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Biol Pharm Bull* 2003;26:1701-5.
- Namiki, M. (1995). The chemistry and physiological functions of sesame. *Food Reviews International*, 11, 281– 329.
- Nandi, I., Mahua Ghosh, 2015. Studies on functional and antioxidant property of dietary fibre extracted from defatted sesame husk, rice bran and flax seed. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5 (2015) 129 – 136
- National Research Council (NRC), 1985. *Nutrient Requirements of Sheep*. Sixth revised edition. National Academic Press, Washington, D.C
- Nagao Koji and Yanagita Teruyoshi (2005). Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *Journal of bioscience and bioengineering* Vol 100. No 2. 152-157
- National Research Council (1988). *Designing foods: Animal product options in the marketplace*. National academy press, Washington, D.C., 376
- National Research Council (1996). *Carcinogens and Ant carcinogens in the human diet*. National academy press, Washington, D.C 417
- Nicolosi R.J, Rogers E.J, Kritchevsky D, Scimeca J.A, Huth P.J (1997) Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery*, 22, 266-277.
- Nudda, A., M. A. McGuire, G. Battacone and G. Pulina, 2005. Seasonal Variation in Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Milk Fat of Sheep and its Transfer to Cheese and Ricotta. *J. Dairy Sci.*, 88:1311–1319.
- Nuda, A., G. Battacone, S. Fancellou, G.A. Carboni and G. Pullina, 2005. The use of linseed and cottonseed to change the milk fatty acid profile in early lactation dairy goats. *Proc. 11th Seminar of the Sub-Network FAO-CIHEAM on sheep and Goat Nutrition*, September 8–10, 2005 Catania, Italy.
- Oliveria R.L., Neto S.G., Lima F.H.S., Medeiros A.N., Bezerra L.R., Pereira E.S., Bagaldo A.R., Pellegrini C.B., and Correia B.R., 2015. Composition and fatty acid profile of milk from cows supplemented with pressed oilseed cake. *Animal Science Journal*.
- Ostrowska, E.M. Muralitharan, R.F. Cross, D.E. Bauman and F.R. Dunshea, 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.*, 129:2037-2042.

Osawa T, Nagata M, Namiki M, Fukuda Y. Sesamolol, a novel antioxidant isolated from sesame seeds. *Agric Biol Chem* 1985;49:3351-2.

OZTABAK Kemal, Sabiha CÜVELEK, Aysel OZPINAR, 2005. The Effects of Energy Restricted Diet on the Activities of Plasma Cu-Zn SOD, GSH-Px, CAT and TBARS Concentrations in Late Pregnant Ewes. *Turk J Vet Anim Sci* 29 (2005) 1067-1071

Palmquist, D.L., Beaulieu, A.D. and Bardano, D.M., 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Research* 76,1753-1771.

Palmquist, D.L., A.L. Lock, K.J. Shingfield and D.E. Bauman, 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in ruminants and humans. *Adv. Food Nutr. Res.*, 50:179-217.

Palmquist, D. L., Beaulieu, A. D., & Barbano, D. M. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci*, 76, 1753-1771.

Palmquist, D. L., Lock, A. L., Shingfield, A. L., & Bauman, D. E. (2004). Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid in Ruminants and Humans. *Advances in Food and Nutrition Research*.

Pappazzo, A., Xavier Conlan, Louise Lexis and Paul Leowandowski, 2011. The effect of short-term canola oil ingestion on oxidative stress in the vasculature of stroke pron spontaneously hypertensive rats. *Lipids in health disease*, 10:180.

Pariza, M.W., Y. Park and M.E. Cook, 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.*, 40:283–298.

Park, Y., K.J. Albright, W. Liu, J.M. Storkson, M.E. Cook and M.W. Pariza, 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32:853-858

Park Y., Pariza M.W., Park Y. (2008) Co supplementation of dietary calcium and conjugated linoleic acid improves bone mass in mice. *Journal of food science* Vol.73 Issue 7 Pages:C556-C560

Park Y.W, Juarez.M, Ramos M., Haenlein G.F.W.,(2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research* 68. 88-113.

Park Yeonhwa (2009) Conjugated linoleic acid(CLA): Good or bad trans fat? Review.*Journal of food composition and analysis* 22S, S4-S12.

Park Yeonhwa, Pariza Michael W (2007) Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid. *Food research international* 40, 311-323

Park Y.W. (1994): Hypo- allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Rumin Res* 14:151-159.

Park Y. W. and Haenlein G. F. W (2006): Therapeutic and hypo- allergenic values of goat milk and implication of food allergy. In: *Handbook of Milk of Non- Bovine Mammals*. Y.W. Park and G.F. W Haenlein, eds., Blaxkwell Publishers. Ames, Iowa, and Oxford, England. Pp. 121-136

Park Y. W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. (2007): Physico- chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, pp. 88-113.

Park Y. W. (2009): *Bioactive Components in milk and dairy products*, Wiley- Blackwell.

- Parodi, P.W., 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.*, 60: 1550-1553.
- Parodi, P.W., 1994. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Tec.*, 40: 93-97.
- Parodi, P. W. (1999). Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J Dairy Sci*, 82, 330-335.
- Parodi, P. W. (2004). Milk fat in human nutrition. *Aust. J. Dairy Technol*, 59, 3-59.
- Pedernera Mariana, Pietro Celi, Sergio C. Garcva, Hannah E. Salvin, Idris Barchia and William J. Fulkerson, 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture *The Veterinary Journal* 186 (2010) 352–357
- Peñalvo, J. L., Hopia, A., & Adlercreutz, H. (2006). Effect of sesamin on serum cholesterol and triglycerides levels in LDL receptor-deficient mice. *European Journal of Nutrition*, 45, 439–444.
- Perfield, J.W. II, G. Bernal-Santos, T.R. Overton and D.E. Bauman, 2002. Effects of Dietary Supplementation of Rumen-Protected Conjugated Linoleic Acid in Dairy Cows during Established Lactation. *J. Dairy Sci.*, 85:2609–2617.
- Pervival, M.1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, Review 10/98.
- Petit H.V., 2015 Milk production and composition, milk fatty acide profile, and blood composition of dairy cows fed different proportions of whole flaxseed in the first half of lactation. *Animal feed Science and Technology* 205: 23-30.
- Petron, M.J., Raes, K., Claeys, E., Lourenco, M., Fremaut D. and De Smet, S. 2007. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science* 75, 737-745.
- Pey Rong Chen, Kuo Liong Chien, Ta Chen Su, Chee Jen Chang, Tsuei-Ling Liu, Hsiuching Cheng, Chingmin Tsai, 2005. Dietary sesame reduces serum cholesterol and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemia. *Nutrition Research* 25 (2005) 559–567.
- Piperova L.S., B.B. Teter, I. Bruckental, J. Sampugna, S.E. Mills, M.P. Yurawecz, J.Fritsche, K. Ku and R.A. Erdman, 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fatdepressing diet. *J. Nutr.*, 130:2658–2674.
- Pollard, M.R., F.D. Gunstone, A.T. James and L.J. Morris, 1980. Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids*, 15:306-314.
- Prado-Silva, L., L. Azevedo, J.A.C. Oliveira , A.P.M. Moreira , M. Schmiele , Y.K. Changd, F.B.A. Paula , M.T.P.S. Clerici, 2014. Sesame and resistant starch reduce the colon carcinogenesis and oxidative stress in 1,2-dimethylhydrazine-induced cancer in Wistar rats *Food Research International* 62 (2014) 609–617.
- Prandini A, D. Geromin, F. Conti, F. Masoero, A. Piva and G. Piva, 2001. Survey of the level of conjugated linoleic acid in dairy products. *Italian J. Dairy Sci.*, 13:243 253.
- Prasad K., 2000. Antioxidant activity of secoisolariciresinol diglucoside- derived metabolites, secoisolariceresinol, enterodiol and enterolactone. *Int. J. Angiol* 9, pp 220-225.

Prasanthi, K., Muralidhara, A., & Rajini, P. S. (2005). Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. *Food and Chemical Toxicology*, 43(2), 299.

Pulido, E., F. J. Giráldez, R. Bodas, S. Andrés, and N. Prieto, 2012. Effect of reduction of milking frequency and supplementation of vitamin E and selenium above requirements on milk yield and composition in Assaf ewes. *Journal of American dairy science association* 95 :3527–3535.

Pütter, J. and Becker, R. (1983) in *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U., ed.) 3rd ed., Vol III, pp. 286-293, Verlag Chemie, Deerfield Beach, FL

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

Rapetti, L., Crovetto, G. M., Galassi, G., Sandrucci, A., Succi, G., & Battelli, G. (2002). Effect of maize, rumen-protected fat and whey permeate on energy utilisation and milk fat composition in lactating goats. *Ital. J. Anim. Sci.*, 1, 43-53.

Reklewska B, Bernatowicz E, Reklewski Z, Kuczynska B, Zdziarski K, Sakowski T, Sloniewski K (2005). Functional components of milk produced by polish Black and White, Polish RED and Simmental cows. *Electronic journal of polish agricultural universities*. Volume 8 Issue 3 Topic: animal husbandry

Renobales, M., G. Amores, J. Arranz, M. Virto, L.J.R. Barrón, M.A. Bustamante, J.C. Ruiz de Gordo, A.I. Nájera, I. Valdivielso, E. Abilleira, I. Beltrán de Heredia, F.J. Pérez-Elortondo, R. Ruiz, M. Albu, N. Mandaluniz, 2012. *Food chemistry* 130, 90-96.

Rezapour, A. and Taghinejad- Roudbaneh, M., 2011. Effects of food restriction on oxidative stress indices in chezel ewes. *Journal of animal and veterinary advances* 10: 980-986.

Reveneau, C., C.V.D.M. Ribeiro, M.L. Eastridge, N.R. St-Pierre and J.L. Firkins, 2005. Processing Whole Cottonseed Moderates Fatty Acid Metabolism and Improves Performance by Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 88:4342–4355.

Roberta Re, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang, Catherine Rice-Evans, (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine Volume 26, Issues 9–10, May 1999, Pages 1231–1237*.

Roche, I. and Dalley, D., 1996. Nutrition and milk composition. *Agriculture notes*.

Sankar Devarajan, Ravinder Singh, Biprabuddha Chatterjee, Amanat Ali, Bo Zhang, 2016. A blend of sesame oil and rice bran oil lowers blood pressure and improves the lipid profile in mild-to-moderate hypertensive patients. *Journal of Clinical Lipidology*.

Sackman, J.R., S.K. Duckett, M.H. Gillis, C.E. Bealin, A.H. Parks and R.B. Eggelston, 2003. Effects of forage and sunflower levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.*, 81:3174-3181.

Samkova, E., Spicka, J., Pesek, M., Pelikanova, T., & Hanus, O. (2012). Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42, 83-100.

Secchiari, P., M. Mele, A. Serra, A. Buccioni, M. Antongiovanni, G. Ferruzzi, F. Paoletti and L. Andreotti, 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of three dairy sheep breeds. *Progr. Nutr.*, 3:37-42.

Schogor A.L.B., Marie- France Palin, Geraldo Tadeu dos Santos, Chaouki Benchaar, Pierre Lacasse, Helene V. Petit. 2013. Mammary gene expression and activity of antioxidant enzymes and oxidative indicators in the blood, milk, mammary tissue and ruminal fluid of dairy cows fed flax meal. *British Journal of Nutrition* 110 pp 1743-1750.

Sharma K., Dutta N., Pattanaik A.K., Hasan Q.Z., 2003. Replacement Value of undecorticated sunflower meal as supplement for milk production by croddbred cows and buffaloes in the northern plains of india. *Tropical Animal Health and Production* 35 : 131-145.

Shingfeld, K. J., Reynolds, C. K., Hervas, G., Griinari, J. M., Grandison, A. S., & Beever, D. E. (2006). Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflowers oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 89, 714-732.

Shingfield, K. J., Reynolds, C. K., Lupodi, B., Toivomen, V., Yuraweez, M. P., Delmonte, P., . . . Giinari, J. M. (2005). Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci*, 80, 225-238.

Shingfield, K. J., Reynolds, C. K., Lupoli, B., Toivomen, V., Yurawecz, M. P., Delmonte, P., & Beever, D. E. (2005). Effect of forage type and propotion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci*, 80, 225-238.

Signorelli, F., Contarini, G., Annicchiarico, G., Napolitano, F., Orru , L., Cattilo, G., & Moioli, B. (2008). Breed differences in sheep milk fatty acid profile: Opportunities Simopoulos, A. P., Leaf, A., & Salem, N. J. (1999). Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann Nutr Metan*, 43, 127-130.

Simopoulos, A. P. (1997). Omega-6/omega-3 fatty acid ratio and trans fatty acids in non isulin dependent diabates mellitus. *Ann NY Acad Sci*, 827, 327-338.

Simopoulos, A. P. (2002, May 25). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56, 365-379.

Simopoulos, A. P. (1995). Trans fatty acid. *Spiller GA*.

Shiren, K.F., Pace, R.D., Mahbood, M. and Khan, A.T., 2008. Effects of dietary vitamin E,C and soybean oil supplementation on antioxidant enzyme activities in liver and muscles of rats. *Journal Food and Chemical Toxicology* 46, 3290-3294.

Staples, C.R. Milk fat depression in dairy cows- Influence of supplemental fats, Florida ruminant nutrition symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville FL.

Sugano, M., A. Tsujita, M. Yamasaki, M. Noguchi and K. Yamada, 1998. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids*, 33:521-527.

Sugano, M., Inoue, T., Koba, K., Yoshida, Y., Hirose, N., Shinmen, Y., Akimoto, K., & Amachi, T. (1990). Influence of sesame lignans on various lipid parameters in rats. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 2669–2673.

Talpur, F. N., Bhangar, M. I., & Memon, N. N. (2009). Milk fatty acid composition of indigenous goat and ewe breeds from Sindh, Pakistan. *Journal of food composition and analysis*, 22, 59-64.

Terpstra A.H (2004) Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans:An overview of the literature. *American journal of clinical nutrition*.79, 352-361

Thomas, P.C. and Martin, P.A. 1988. The influence of nutrient balance on milk yield and composition. In nutrition and lactation in the dairy cow. (Ed P.C. Garnsworthy) pp 97-118. Butterworths London.

Thomas, P.C. and Chamberlain, D.E. 1984. Manipulation of milk composition to meet market needs. In recent Advances in animal Nutrition. (Eds W. Havesgn and D.J.A. Barley or maize in energy metabolism, pp 303-306).

Taghvaei, M., Jafari, S., Mahoonak, A., Nikoo, A., Rahmanian, N., Hajitabar, J. and Meshginfar, N., 2013. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *Food and science and technology*.

Tricon, S., G. C. Burdge, J. J. Russell, E. L. Jones, R. F. Grimble, C. M. Williams, P. Yaqoob, and P. C. Calder, 2004. Opposing effects of *cis-9,trans-11* and *trans-10,cis-12* CLA on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80:614–620.

Tsiplakou, E., & Zervas, G. (2008a). Comparative study between sheep and goats on ruminic acid and vaccenic acid in milk fat under the same dietary treatments. *Livest. Sci*, 119, 87-94.

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

Tsiplakou, E., Chadio, S., Papadomichelakis, G., & Zervas, G. (2012). The effect of long term under- and over- feeding on milk and plasma fatty acids profile and on insulin and leptin concentrations of goats. *International Dairy Journal*, 24, 87-92.

Tsiplakou, E., Mountzouris, K. C., & Zervas, G. (2006a). Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fa. *Livestock Science*, 103, 74-84.

Tsiplakou, E., Mountzouris, K. C., & Zervas, G. (2006b). The effect of breed, stage of lactation and parity on sheep milk fat CLA content under the same feeding practices. *Livestock Science*, 105,162-167

Turpeinen, A., M. Mutanen, A. Aro, I. Salminen, S. Basu, D. Palmquist and J.M. Grinari, 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76:504–510.

Toral, P.G., Frutos, P., Hervas, G., Gomez-Cortes, P., Juarez, M., M.A. de la Fuente, 2010. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation alone or in

combination with sunflower oil in dairy ewes, *Journal of Dairy Science*, Volume 93, issue 4, pp 1604-1615.

Ulbricht, T.L.V. and D.A.T. Southgate, 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338:985–992.

Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M., & Toker, C. (2007). Fat and fatty acids of white lupin in comparison to sesame. *Food Chemistry*, 102(1), 45.

Xi, S. and Chen, L.H., 2000. Effects of dietary fish oil on tissue glutathione and antioxidant defense enzymes in mice with murine aids. *Nutrition research*, Vol 20, No 9, pp 1287-1299.

Vazquez-Anon M., Nocek J., Bowman G., et al.,(2008). Effects on feeding a dietary antioxidant in diets with oxidized fat on lactation performance and antioxidant status of the cow. *J. Dairy Sci* 91, pp 3165-3172.

Wang Hua, Fang Liu, Lei Yang, Yuangang Zu, Han Wang, Shengzhuo Qu, Ying Zhang, 2011. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry* 128 (2011) 93–99

Ward, A. T., K. M. Wittenberg, H. M. Froebe, R. Przybylski and L. Malcolmson, 2003. Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid level in plasma and milk. *J. Dairy Sci.*, 86:1742–1750.

White, S. L., Bertrand, J. A., Wade, M. R., Washburn, S. P., Green Jr., J. T., & Jenkins, T. C. (2001). Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or total mixed ration. *J. Dairy Sci*, 84, 2295-2301

Whitlock, L.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, K.F. Kalscheur, R.J. Baer, N. Ramaswamy and K.M. Kasperson, 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci.*, 85: 234-242.

Weimer, P.J., Stevenson, D.M. and Mertens, D.K., 2010. Shifts in bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows under milk fat depressing conditions, *Journal of Dairy Science*, 93: 265-278.

Weiss EA. Oilseed crops. In: Wrigley G, editor. *Tropical agricultural series*. London7 Longman; 1983.p. 292-4.

Wendel, A. (1980) *Enzymatic Basis of Detoxication*, Volume 1, p. 333, Academic Press, NY

Williams, C. M. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech*, 49, 165-180.

Yamashita, K., Lizuka, Y., Imai, T., & Namiki, M. (1995). Sesame seed and its lignans produce marked enhancement of vitamin E activity in rats fed a low a-tocopherol diet. *Lipids*, 30, 1019–1028.

Yeo, J. D., Park, J.W., & Lee, J. H. (2011). Evaluation of antioxidant capacity of sesamol and free radical scavengers at different heating temperatures. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 910–915.

Yung-Shin Shyu, Lucy Sun Hwang, 2002. Antioxidative activity of the crude extract of lignan glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Research International* 35 (2002) 357–365.

Zervas, G., & Tsiplakou, E. (2012). An assessment of GHG emissions from small ruminants in comparison with GHG emissions from large ruminants and monogastric livestock. *Atmospheric Environment*, 49, 13-23.

Zervas, G., Feggeros, K., Koystotolis, K., Goulas, C., & Mantzios, A. (1998). Soy hulls as a replacement for maize in lactating dairy ewe diets with or without dietary fat supplements. *Anim. Feed Sci. and Technol*, 76, 65-75.

Zhang, R. H., A. F. Mustafa and X. Zhao, 2006. Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 127:220–233

