LATVIA UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES AND TECHNOLOGIES
Faculty of Agriculture and Food Technology
Food Institute

LATVIJAS BIOZINĀTŅU UN TEHNOLOĢIJU UNIVERSITĀTE
Lauksaimniecības un pārtikas tehnoloģijas fakultāte
Pārtikas institūts



Mg. sc. sal. **Svetlana Aleksejeva**

THE STUDY OF MILK POLAR LIPIDS COMPOSITION AND FUNCTIONALITY

PIENA POLĀRO LIPĪDU SASTĀVA UN FUNKCIONALITĀTES IZPĒTE

SUMMARY
of the Doctoral thesis for the Doctoral degree of Science (Ph.D.)

Promocijas darba KOPSAVILKUMS
zinātnes doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai

Jelgava
2026

Scientific supervisors / *Promocijas darba zinātniskās vadītājas*:
Prof. Dr. sc. ing. **Inga Ciprovica**, Latvia University of Life Sciences and Technologies / *Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte*
Assoc. prof. Dr. med. **Laila Meija**, Rīga Stradiņš University / *Rīgas Stradiņa universitāte*

Official reviewers / *Darba recenzenti*:
Professor / *Profesore* Dr. Elena Bartkiene - Lithuanian Health Science University / *Lietuvas veselības zinātņu universitāte*
Professor / *Profesore* Dr. sc. ing. Ilze Beitāne - Latvia University of Life Sciences and Technologies / *Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte*
Assoc. professor / *Asociētā profesore* Dr. med. Indra Zeltiņa - Rīga Stradiņš University / *Rīgas Stradiņa universitāte*

The defence of the doctoral thesis in an open session of the Promotion Board of the Food and Beverage Technology of Latvia University of Life Sciences and Technologies will be held on 18th December at 10 AM at the Food Institute, room 216, Riga Street 22a, Jelgava.
Promocijas darba aizstāvēšana notiks *Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 18. decembrī plkst. 10.00 Pārtikas institūta 216. auditorijā, Rīgas ielā 22a, Jelgavā.*

The doctoral thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Life Sciences and Technologies, Liela street 2, Jelgava, and on the university website (https://lbtufb.lbtu.lv/en). References should be sent to associate professor Dr. sc. ing**. J. Zagorska**, the Secretary of the Promotion Board of Food and Beverage Technology at the Faculty of Agriculture and Food Technology, Riga Street 22a, Jelgava, LV-3004, Latvia or e-mail: jelena.zagorska@lbtu.lv
Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu *var iepazīties LBTU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielajā ielā 2, Jelgavā un portālā (pieejams: https://lbtufb.lbtu.lv/lv). Atsauksmes sūtīt Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes sekretārei, asociētai profesorei Dr. sc. ing.* ***J. Zagorskai****, Lauksaimniecības un pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Rīgas iela 22a, Jelgava, LV-3004, e-pasts: jelena.zagorska@lbtu.lv*

CONTENTS

TOPICALITY OF THE RESEARCH 6
APPROBATION OF THE PH.D. THESIS 8
MATERIALS AND METHODS 9
1. Compositional study of milk and dairy products 10
2. Clinical trial 11
3. Dietary assessment, exposure calculation and statistical analysis 14
RESULTS AND DISCUSSION 17
1. Composition of studied milk and dairy products 17
2. Cultured buttermilk selected for the intervention 21
3. Participants, habitual diet and milk polar lipid intake 22
4. Plasma lipid profile after the 28-day intervention 26
5. Strengths and limitations of the study 28
CONCLUSIONS 29

SATURS

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE 31
PROMOCIJAS DARBA APROBĀCIJA 33
MATERIĀLI UN METODES 33
1. Piena un piena produktu sastāva izpēte 33
2. Klīniskā pētījuma plānošana un norise 34
3. Uztura novērtējums, uzņemšanas aprēķins un statistiskā analīze 36
REZULTĀTI UN DISKUSIJA 39
1. Pētīto piena un piena produktu sastāvs 39
2. Intervencei izvēlēto raudzēto paniņu analīze 40
3. Dalībnieces, to uzturs un piena polāro lipīdu daudzums uzturā 41
4. Plazmas lipīdu profils pēc 28 dienu intervences 42
5. Pētījuma stiprās puses un ierobežojumi 43
SECINĀJUMI 44
REFERENCES / LITERATŪRAS AVOTI 45

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS / *SAĪSINĀJUMI UN SIMBOLI*

β - beta regression coefficient / *beta regresijas koeficients*
η² - eta squared / *eta kvadrāts*
ALAT - alanine aminotransferase / *alanīnaminotransferāze*
ANOVA - analysis of variance / *dispersijas analīze*
BIOR - Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR" / *Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR"*
BMI / *ĶMI* - body mass index / *ķermeņa masas indekss*
CFU / *KVV* - colony-forming units / *koloniju veidojošās vienības*
CI / *TI* - confidence interval / *ticamības intervāls*
E% - the percentage of total daily energy intake / *procentuālais dienā uzņemtais enerģijas daudzums*
FFQ - food frequency questionnaire / *pārtikas patēriņa biežuma anketa*
g - Hedges' g, standardised between-group mean difference / *Hedžesa g, standartizēta atšķirība starp grupu vidējām vērtībām*
g_z - Hedges-corrected standardised within-group mean change / *standartizētas vidējās izmaiņas grupas ietvaros ar Hedžesa korekciju*
HDL-C - high-density lipoprotein cholesterol / *augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns*
ISO - International Organization for Standardization / *Starptautiskā Standartizācijas organizācija*
ISRCTN - International Standard Randomised Controlled Trial Number / *Starptautiskais standarta randomizētu kontrolētu pētījumu numurs*
LAB - lactic acid bacteria / *pienskābes baktērijas*
LC-MS - liquid chromatography-mass spectrometry / *šķidruma hromatogrāfija-masspektrometrija*
LC-MS/MS - liquid chromatography-tandem mass spectrometry / *šķidruma hromatogrāfija-tandēma masspektrometrija*
LDL-C - low-density lipoprotein cholesterol / *zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns*
ln - natural logarithm / *naturālais logaritms*
LVS - Latvian Standard / *Latvijas standarts*
MFGM - milk fat globule membrane / *piena tauku lodīšu membrāna*
MRS - de Man, Rogosa and Sharpe medium / *de Man, Rogosa un Sharpe barotne*
MUFA - monounsaturated fatty acids / *mononepiesātinātās taukskābes*
n - number of samples or participants / *paraugu vai dalībnieku skaits*
non-HDL-C - non-high-density lipoprotein cholesterol / *ne-augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns (kopējais aterogēno lipoproteīnu holesterīns)*
***p*-value** - p-value / *p vērtība*
PC - phosphatidylcholine / *fosfatidilholīns*
PE - phosphatidylethanolamine / *fosfatidiletanolamīns*

PL - polar lipids / *polārie lipīdi*
PUFA - polyunsaturated fatty acids / *polinepiesātinātās taukskābes*
Q1; Q3 - first and third quartiles / *pirmā un trešā kvartile*
R^2 - coefficient of determination / *determinācijas koeficients*
RSD - relative standard deviation / *relatīvā standartnovirze*
SD / SN - standard deviation / *standartnovirze*
SFA - saturated fatty acids / *piesātinātās taukskābes*
SM - sphingomyelin / *sfingomielīns*
TC - total cholesterol / *kopējais holesterīns*
TG - triglycerides / *triglicerīdi*

TOPICALITY OF THE RESEARCH

Milk polar lipids (PL) are quantitatively minor but structurally and functionally essential components of the milk fat globule membrane (MFGM) (Anto et al., 2020; Venkat et al., 2024). Their concentration and relative distribution in milk and dairy products depend on raw milk composition, season, milk fat globule characteristics, and milk processing. Milk separation, cream thermal treatment, cooling, maturation, and churning redistribute membrane-associated lipids among skimmed milk, cream, butter, and buttermilk. Consequently, total fat concentration alone does not adequately characterise a dairy product as a PL source (Hokkanen et al., 2021; Liu et al., 2017; Venkat et al., 2024). Published values are also difficult to compare because PL studies use different analytical methods. Systematic data on the distribution of phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE) and sphingomyelin (SM) across dairy products from the same milk-processing chain and across different seasons remain limited, particularly in Latvia.

Buttermilk is a source of MFGM-associated PL because cream churning disrupts the MFGM, transferring membrane fragments with associated PL and proteins into the aqueous phase (Calvo et al., 2020; Venkat et al., 2024). Therefore, buttermilk contains appreciable amounts of PL despite its relatively low total fat concentration. However, published evidence is dominated by sweet buttermilk, buttermilk powders, and isolated or concentrated MFGM fractions (Bourlieu et al., 2018; Calvo et al., 2020; Sakkas et al., 2022). Because these products differ in water content, processing conditions, and the degree of solids fractionation or concentration, PL values reported in the literature should not be assumed to be directly transferable to commercially available cultured buttermilk. The PL concentration of cultured buttermilk cannot be reliably predicted from its declared fat concentration, product category, or literature values obtained from other buttermilk products. Evaluating cultured buttermilk as a dietary source of milk PL requires product- and season-specific determination of total PL, PC, PE, and SM.

Human studies provide biological plausibility that milk PL may influence intestinal cholesterol absorption and selected circulating lipid markers (Anto et al., 2020; Bruno et al., 2021; Vors et al., 2020). Nevertheless, most intervention studies have used isolated PL fractions or MFGM-enriched products providing approximately 2.3-5.0 g of milk-derived PL or phospholipids per day and have mainly included postmenopausal women, individuals with overweight, or adults with metabolic syndrome. Results have varied across intervention products, study populations, doses, and measured outcomes. Therefore, these findings cannot be directly extrapolated to the lower and more variable milk PL exposure associated with habitual consumption of commonly consumed dairy products. Evidence on cultured buttermilk as a whole-food intervention for perimenopausal women remains particularly limited (Le Barz et al., 2021; Pokala et al., 2023; Venkat et al., 2024; Vors et al., 2020).

The **hypothesis** of the Ph.D. thesis: polar lipid concentration in milk and dairy products varies seasonally and with processing and may influence the plasma lipid profile in perimenopausal women with moderately elevated low-density lipoprotein cholesterol concentrations.

The aim of the Ph.D. thesis is to evaluate the composition and distribution of polar lipids in milk and dairy products and to assess the relationship between dietary exposure to polar lipids from cultured buttermilk and the plasma lipid profile in perimenopausal women.

The **research objectives** are set to achieve the aim of the study:

1) to analyse the chemical composition and polar lipid profile of milk and dairy products obtained during milk processing;
2) to evaluate seasonal differences in the concentration and relative distribution of the main milk polar lipid classes in milk and in the processed products studied;
3) to conduct a 28-day randomised controlled dietary intervention study evaluating the effect of daily consumption of cultured buttermilk on the plasma lipid profile in perimenopausal women with moderately elevated low-density lipoprotein cholesterol concentrations;
4) to assess dietary intake and estimate habitual milk polar lipid exposure by combining individual dietary intake data with season-specific dairy product composition;
5) to analyse associations between estimated habitual milk polar lipid exposure and plasma lipid profile of participants.

The novelty and **scientific significance** of the study:

1) the study established processing-related and seasonal patterns in the concentration and relative distribution of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, and sphingomyelin across milk and dairy products within the same processing chain;
2) an integrated approach was developed to estimate habitual milk polar lipid exposure by combining participant-level dietary intake data with experimentally determined season-specific dairy product composition.

The **practical significance** of the study:

1) the findings help explain seasonal changes in polar lipid concentration and composition in milk and during milk processing;
2) the approach developed in the thesis can be applied in food consumption and nutritional epidemiology studies to estimate habitual daily milk polar lipid exposure, taking into account dairy product selection and season-specific product composition rather than total dairy intake alone;
3) the findings provide an evidence base for communicating the nutritional attributes of cultured buttermilk while distinguishing

between data on its chemical composition and evidence of health effects.

The study was **financially supported** by the project "The study of buttermilk polar lipids" within the programme "Strengthening Research Capacity in the Latvia University of Life Sciences and Technologies" and by ERDF project No. 1.1.1.8/1/24/I/002 "LBTU Doctoral Students Support and Development Initiative".



APPROBATION OF THE PH.D. THESIS

The results of the thesis have been published in three peer-reviewed scientific publications indexed in Scopus and/or Web of Science.

1. Aleksejeva S., Radenkovs V., Zolovs M., Vilkoite I., Meija L., Ciprovica I. (2026) Estimated habitual dairy polar lipid exposure and post-intervention plasma lipid outcomes in perimenopausal women in Latvia: A secondary exposure-based analysis of a 28-day fermented buttermilk randomised trial. *Nutrients*, 18, 2194; https://doi.org/10.3390/nu18132194
2. Aleksejeva S., Meija L., Zolovs M., Ciprovica I. (2025) Plasma lipid profile among perimenopausal Latvian women in relation to dietary habits. *Nutrients*, 17(2), 243; https://doi.org/10.3390/nu17020243
3. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L. (2022) A review: Dairy phospholipids in human nutrition. Research for Rural Development 2022: Proceedings of the 28th Annual International Scientific Conference, 37, 89-92; https://doi.org/10.22616/rrd.28.2022.013

The results of the thesis have been published in two peer-reviewed conference abstracts indexed in Scopus and/or Web of Science.

1. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L. (2024). Seasonal variation in serum cholesterol level in perimenopausal women: A preliminary research. *Clinical Nutrition ESPEN*, 63, 1245-1246. https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.07.844
2. Aleksejeva S., Krasikova A., Ciprovica I., Meija L. (2023). The effect of fermented buttermilk on plasma lipid profile in perimenopausal women: A preliminary research. *Clinical Nutrition ESPEN*, 58, 723-724. https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2023.09.851

The research findings were presented at seven international scientific conferences held in Latvia, Lithuania, France and Italy.

1. Aleksejeva S., Radenkovs V., Zolovs M., Ciprovica I., Meija L. (2026) Seasonal variation in the lipid profile of dairy products. In: Sustainable environmental development: innovative technologies, 16 April 2026, Klaipeda, Lithuania (Oral presentation)
2. Aleksejeva S., Radenkovs V., Zolovs M., Meija L., Ciprovica I. (2026). Compositional dynamics of polar lipids in dairy products across processing. In: FoodBalt 2026, 19th Baltic Conference on Food Science and Technology, 13-15 May 2026, Jelgava, Latvia (Oral presentation)
3. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L., Zolovs M. (2024) Lipid profile changes in perimenopausal women depending on buttermilk consumption in diet: a paired samples analysis. In: 4th International Conference Nutrition and Health, 5 to 6 December 2024, Riga, Latvia (Oral presentation)
4. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L. (2024) Seasonal variations in serum cholesterol level in perimenopausal women: a preliminary research. In: 46th ESPEN Congress on Clinical Nutrition & Metabolism 2024, 7 to 10 September 2024, Milan, Italy (Poster presentation)
5. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L., Krasikova A. (2023) The effect of fermented buttermilk on plasma lipid profile in perimenopausal women: a preliminary research. In: 45th ESPEN Congress on Clinical Nutrition & Metabolism 2023, 11 to 14 September 2023, Lyon, France (Poster presentation)
6. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L., Krasikova A. (2023) Effect of buttermilk polar lipids on plasma lipid profile: a pilot study. In: Foodbalt 2023, 16th Baltic Conference on Food Science and Technology, 11 to 12 April 2023, Jelgava, Latvia (Oral presentation)
7. Aleksejeva S., Ciprovica I., Meija L. (2022) A review: dairy phospholipids in human nutrition. In: 28th Annual International Scientific Conference Research for Rural Development 2022, 18 to 20 May 2022, Jelgava, Latvia (Oral presentation)

MATERIALS AND METHODS

The research was conducted from 2022 to 2026 and laboratory analyses were carried out in the laboratories of the Latvia University of Life Sciences and Technologies, including the Microbiology Laboratory and the Dairy Pilot Plant at the Food Institute, and the Research Laboratory of Biotechnology. Dietary data were processed in cooperation with the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR".

The research comprised five stages: compositional analysis of milk and dairy products; selection and characterisation of the intervention product; a 28-day randomised controlled trial; calculation of habitual milk PL exposure from dietary and compositional data; and statistical analysis of the compositional, dietary and clinical findings.

1. Compositional study of milk and dairy products

Raw milk was obtained from Latvijas Piens, Ltd. (Jelgava, Latvia) in December 2023 (winter) and May 2024 (spring); one processing batch was studied per season. Raw milk was warmed to 40 °C and separated in a laboratory cream separator (Armfield, Hampshire, UK) into skimmed milk and cream. The cream was heat-treated at 90 ± 2 °C for 5 min, then cooled and held at 6 ± 2 °C for 6 h to ripen physically. It was then brought to 12 °C and churned in a laboratory butter churn FJ 10 (Janschitz, Althofen, Austria) at 11-12 °C until butter grains formed and buttermilk was released. The sweet buttermilk was drained off and analysed without further treatment (Fig. 1). The PL dataset comprised raw milk, skimmed milk, cream and sweet buttermilk. Samples were analysed within 12 h of preparation or, when immediate analysis was not possible, stored at 4 ± 2 °C and analysed no later than 24 h after preparation.

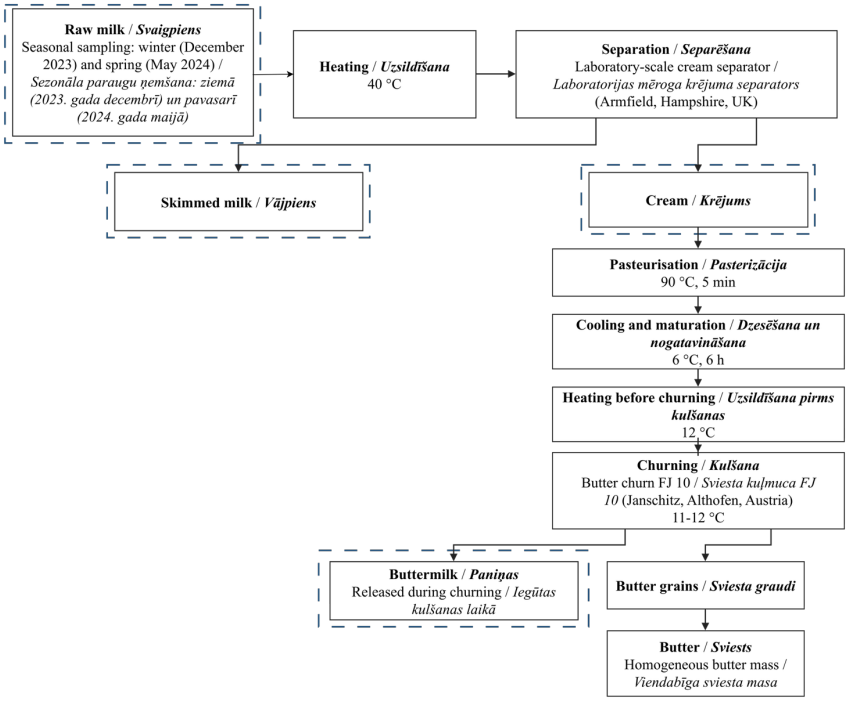


Fig. 1. **Milk processing scheme for the compositional study /** 1. *att.* ***Piena pārstrādes shēma sastāva pētījumam***

Note. Dashed frames identify the products analysed experimentally. / *Piezīme. Ar pārtrauktu līniju iezīmēti eksperimentāli analizētie produkti.*

Determination of chemical composition. Fat, protein, lactose, solids-not-fat and total solids were determined by mid-infrared spectrometry using a MilkoScan™ Mars analyser (Foss, Hilleroed, Denmark) with calibration tools matched to milk, skimmed milk or cream. Measurements were performed in triplicate for each product in each season, in accordance with ISO 9622:2013.

Quantification of polar lipids. PL were extracted using a modified Bligh and Dyer method (Breil et al., 2017) and quantified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS; Shimadzu Nexera UC coupled to an LCMS-8050 (Shimadzu, Kioto, Japan) triple quadrupole mass spectrometer, Discovery HS F5-3 column, gradient elution) using positive electrospray ionisation and multiple reaction monitoring. Analytes were identified by retention times and analyte-specific transitions of analytical standards.

PC, PE and SM were quantified using external calibration curves prepared from the corresponding analytical standards at six concentration levels, with two measurements at each level (12 measurements per calibration curve). The concentration ranges were 0.0156-0.5000 μg mL^{-1} for PC, 0.0172-0.5500 μg mL^{-1} for PE and 0.0188-0.6000 μg mL^{-1} for SM. The acceptance criteria were $R^2 > 0.995$ for linearity and a relative standard deviation (RSD) ≤ 15 % for precision. Measurements were performed in duplicate for each product and season and expressed as mg 100 g^{-1} of product.

Only PC, PE, and SM were quantified, because these classes account for approximately 80 % of total bovine milk PL (Liu et al., 2015, 2020; Rombaut et al., 2005) and certified analytical standards were available. The method also allowed the detection of phosphatidylinositol and phosphatidylserine, but these were not detected in the analysed samples. Total quantified PL was calculated as the sum of PC, PE and SM, and relative class proportions were expressed as percentages of this sum, therefore the term "total quantified PL" is used in the thesis. Analytical repeats characterised repeatability within each batch.

2. Clinical trial

Selection and characterisation of the intervention product. Five commercial cultured buttermilks from Latvian, Lithuanian and Polish producers were evaluated. Selection considered ingredient composition, absence of flavouring ingredients, declared fat and protein content, viable mesophilic lactic acid bacteria (LAB) colony forming units (CFU), total quantified PL concentration, retail availability and feasibility of daily consumption for 28 days. Preference was given to products containing only buttermilk and starter culture and providing higher measured total quantified PL concentrations.

Viable mesophilic lactic acid bacteria were enumerated by the pour-plate method on MRS agar (Scharlau, Barcelona, Spain) after incubation at 30 °C for 72 h, in accordance with LVS ISO 15214:1998. The microbiological selection criterion was at least 10^7 CFU g^{-1} of LAB (Ministru kabinets, 2011).

The selected product, "Baltais" (SC Tukuma piens, Tukums, Latvia), was further characterised by season-specific measurements of PC, PE, SM and total quantified PL using the LC-MS/MS procedure described above.

Ethical approval and trial registration. The Ethics Committee of Rīga Stradiņš University approved the study before participant recruitment (protocol code 2-PĒK-4/513/2022; 23 November 2022). All participants provided written informed consent before any study-related procedures; participation was voluntary, and personal identifiers were replaced with unique four-digit codes. The trial was retrospectively registered in the International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN) registry (ISRCTN11974930; 25 June 2026).

Clinical trial design and pilot feasibility study. The main clinical trial was a 28-day randomised, controlled, food-based intervention study conducted in Latvia from October 2023 to June 2024 to evaluate the effect of cultured buttermilk consumption on plasma lipid profile in perimenopausal women. The intervention group consumed 250 mL of cultured buttermilk daily for 28 days in addition to their habitual diet, while the control group maintained their habitual diet and lifestyle.

A preceding pilot study, conducted from December 2022 to April 2023, included eight perimenopausal women aged 45-55 years, allocated to intervention and control groups (n = 4 each). It assessed recruitment feasibility, dietary assessment, the 28-day intervention, and adherence to daily cultured buttermilk consumption.

Participant recruitment, screening and eligibility. Participants were recruited from October 2023 to June 2024 by convenience sampling through gynaecological practices, general practitioners, hospitals and social media. Sample size planning followed the feasibility-oriented approach of Viechtbauer et al. (2015): 29 participants allow detection of a problem with an occurrence probability of 0.10 at 95 % confidence. The recruitment target was approximately 30 women per group, with at least 60 participants in total.

Eligible participants were women aged 45-55 years living in Latvia who reported at least one perimenopausal symptom (hot flushes, night sweats or infrequent menstrual periods). Inclusion required moderately elevated LDL-C concentrations of 3.01-4.12 mmol L^{-1} within the preceding six months and stable body weight within ±2 kg over the same period. Eligibility was assessed using questionnaires and verified by baseline blood testing.

Exclusion criteria comprised primary hyperlipidaemia; established cardiovascular, endocrine (thyroid, adrenal or diabetes mellitus), liver or chronic kidney disease; a history of gastrointestinal surgery; use of hormonal, immunosuppressive, lipid-lowering or antihypertensive therapy or of food supplements intended to lower blood lipids or blood pressure; and known allergy to cow's milk proteins or clinically significant lactose intolerance.

Baseline questionnaires recorded demographic, anthropometric, health, lifestyle, physical activity and dietary information; body mass index (BMI) and waist-to-hip ratio were calculated from self-reported measurements.

Of 1096 women who underwent preliminary screening, 62 completed all pre-randomisation procedures and were randomised (31 per group). One control participant was lost to follow-up, leaving 61 participants in the final analysis (31 intervention, 30 control). The recruitment and follow-up stages are summarised in Fig. 2.

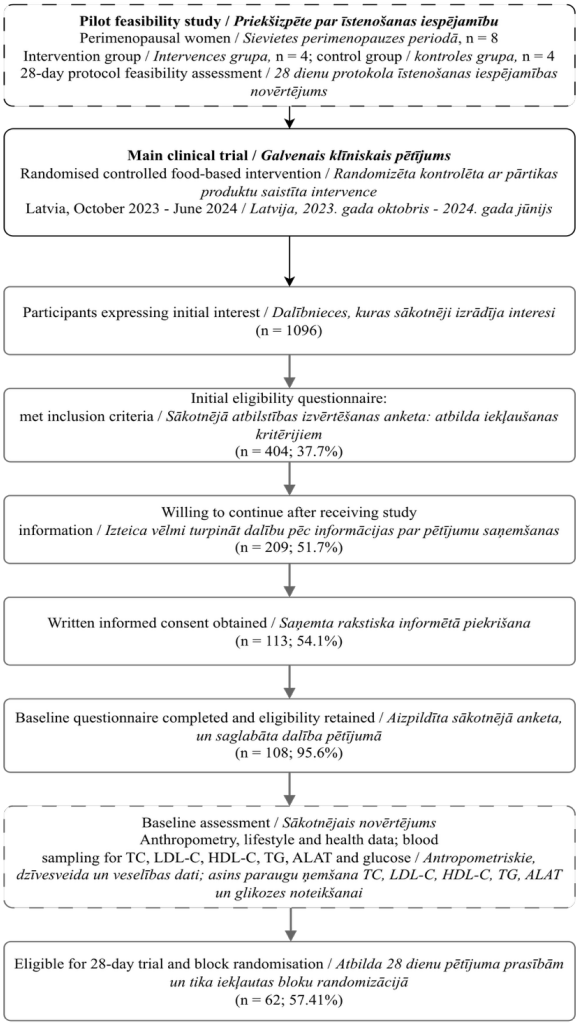


Fig. 2. **Participant recruitment, screening and eligibility /** 2. *att.* ***Dalībnieču atlase, skrīnings un atbilstības izvērtēšana***

Randomisation and group allocation. After baseline assessment, eligible participants were allocated using block randomisation. Allocation followed a list

prepared before enrolment, with each participant assigned the next unused position and each block completed before the next was opened.

Intervention dose and duration. The intervention group was instructed to consume 250 mL of the selected cultured buttermilk daily for 28 consecutive days while otherwise maintaining their usual diet and lifestyle. The 250 mL portion was assigned a nominal mass of 250 g as a simplifying approximation. The calculated daily dose of total quantified PL was 81.30 ± 1.95 mg in winter and 69.73 ± 2.23 mg in spring (Table 5). The control group received no cultured buttermilk intervention and was instructed to maintain their habitual diet and lifestyle.

The product was supplied throughout the intervention. Participants were asked to report missed portions, difficulties with consumption, adverse symptoms or relevant changes in health status.

Blood sampling and biochemical analyses. Blood samples were collected at baseline, before randomisation, and after the 28-day intervention and were analysed by Centrālā Laboratorija Ltd. (Rīga, Latvia), an accredited clinical laboratory, using the same procedures at both time points. LDL-C was the primary lipid outcome; total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), non-HDL-C and remnant cholesterol were secondary outcomes. TC, LDL-C, HDL-C and TG were measured by enzymatic colourimetric methods; non-HDL-C (TC - HDL-C) and remnant cholesterol were calculated by the laboratory. Glucose (hexokinase method) and alanine aminotransferase (ALAT; kinetic method) were assessed to support screening and to characterise metabolic and liver-related status.

3. Dietary assessment, exposure calculation and statistical analysis

Dietary assessment. All 61 participants who completed the trial provided a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ), an interviewer-administered 24-h dietary recall and a 72-h food diary. Each instrument had a distinct role: the FFQ characterised habitual intake over the preceding 12 months and was the sole source of all dietary variables used in the analyses, whereas the 24-h recall and the 72-h diary served only to verify the plausibility of FFQ responses. The FFQ was derived from the Latvian National Dietary Survey questionnaire (Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR", 2017). It covered the preceding 12 months and was completed during the intervention through a researcher-assisted online interview. Dietary data were processed at BIOR using the Latvian Food Composition Database (Pārtikas un veterinārā dienesta Pārtikas centrs, 2009).

The 24-h dietary recall was conducted by the researcher after randomisation: participants recalled all foods and beverages consumed during the preceding 24 hours, and the researcher clarified food items, mixed dishes and portion sizes. The 72-h food diary was a self-completed record of three consecutive days during

the intervention, kept after the recall; the recall day was not included in the 72-h period. Portion-size estimation was supported by the food product and portion atlas (Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR", 2018). Recall and diary records were used to check the plausibility and internal consistency of FFQ responses, with discrepancies clarified with participants; their intake values were not combined with FFQ data or used as independent analytical variables. The supplied intervention product was not included in the dietary intake calculations because the FFQ characterised habitual diet over the preceding 12 months and the recall and diary served only to verify FFQ responses. The PL dose provided by the intervention product was calculated separately from its measured composition (Table 5) and compared with habitual intake in the Results.

Calculation of habitual milk polar lipid exposure. FFQ-derived dairy-product intake was converted to milk equivalents using the fixed, study-specific coefficients (Table 1), applied consistently in both seasonal cohorts (Fox et al., 2015; Walstra et al., 2005).

For dairy product category *i*, milk-equivalent intake was calculated as:

$$ME_i = D_i \times k_i, \quad (1)$$

where:

ME_i - milk-equivalent intake of dairy product category *i*, g day^{-1};

D_i - FFQ-derived average daily intake of dairy product category *i*, g day^{-1};

k_i - product-specific milk-equivalent conversion coefficient, g milk equivalent per g product (Table 1).

Habitual daily intake of total milk PL was calculated as:

$$PL_{intake} = (\Sigma ME_i / 100) \times PL, \quad (2)$$

where:

PL_{intake} - habitual daily intake of total milk PL, mg day^{-1};

ΣME_i - sum of the milk-equivalent intakes of all dairy product categories, g day^{-1};

PL - season-specific concentration of total quantified PL in raw milk, mg 100 g^{-1} (Table 3).

PC, PE and SM intakes were calculated in the same way, with the corresponding class-specific raw-milk concentrations substituted for PL.

December 2023 raw-milk composition data were applied to the winter cohort (n = 23), and May 2024 data to the spring cohort (n = 38). Total quantified PL concentrations were 27.89 and 20.12 mg 100 g^{-1}, respectively (Table 3). The cohorts comprised different women, each participating once. Cohort assignment followed the study schedule and availability of seasonal compositional data.

The resulting exposure values were modelled from milk equivalents and raw-milk composition and did not account for PL redistribution during dairy processing. Habitual exposure was calculated separately from the PL dose supplied by the intervention product.

Table 1 / 1. *tabula*

Milk-equivalent conversion coefficients / *Piena ekvivalenta pārrēķina koeficienti*

FFQ dairy product category / *FFQ piena produktu kategorija*	Conversion coefficient, k_i / *Pārrēķina koeficients, k_i*
Milk (0.5 %, 1.5 %, 2.5 % and 3.2 % fat); flavoured milk; fermented milk products with or without additives (<2 % and 2.1-5 % fat); buttermilk with or without additives (<1 % and >1.5 % fat); high-protein dairy products with or without additives / *Piens (0.5 %, 1.5 %, 2.5 % un 3.2 % tauku); piens ar garšas piedevām; raudzēti piena produkti ar vai bez piedevām (<2 % un 2.1-5 % tauku); paniņas ar vai bez piedevām (<1 % un >1.5 % tauku); piena produkti ar palielinātu olbaltumvielu saturu ar vai bez piedevām*	1.00
Sweet cream with <15 % fat / *Saldais krējums ar tauku saturu <15 %*	3.75
Sour cream with <20 % fat / *Skābais krējums ar tauku saturu <20 %*	5.00
Curd with 9 % fat; curd cream; glazed curd snack with chocolate coating / *Biezpiens ar 9 % tauku saturu; biezpiena krēms; biezpiena sieriņš šokolādes glazūrā*	6.00
Sour cream with >25 % fat / *Skābais krējums ar tauku saturu >25 %*	6.25
Curd with 5 % fat / *Biezpiens ar 5 % tauku saturu*	7.00
Sweet cream with >30 % fat / *Saldais krējums ar tauku saturu >30 %*	7.50
Curd with 0.5 % fat; soft cheese; fresh cheese or cream cheese / *Biezpiens ar 0.5 % tauku saturu; mīkstais siers; svaigais siers vai krēmsiers*	8.00
Semi-hard cheese / *Puscietais siers*	9.00
Hard cheese / *Cietais siers*	10.00
Butter / *Sviests*	20.50
Ghee / *Gī sviests*	24.95

Statistical analysis. Continuous variables were summarised as mean ± SD when their distributions were approximately normal. Intake of most food groups was right-skewed; these data were therefore summarised as median with the first and third quartiles (Q1; Q3) (Table 7). Categorical variables were summarised as counts and percentages; distributional assumptions were assessed using the Shapiro-Wilk test, histograms and quantile-quantile plots.

Chemical composition and quantified PL concentrations were analysed by two-way ANOVA with product type, season and their interaction as fixed factors; partial η^2 was reported as a descriptive measure of the share of variance

attributable to each factor. Because only one processing batch was analysed per season, the ANOVA error term reflected variation between analytical replicates rather than between batches; the ANOVA results were therefore exploratory and describe the analysed batches only. Relative PL class proportions, the PC/PE ratio and the composition of the cultured buttermilk selected for the intervention were summarised descriptively (mean ± SD) without inferential testing.

Independent groups were compared using t-tests with Welch's correction for unequal variances when the assumption of approximate normality was met, and otherwise with Mann-Whitney U tests (food-group intakes, Table 7); group distribution between seasonal cohorts was compared using Fisher's exact test. Within-group changes were assessed using paired-sample t-test and reported as mean changes with t-based 95 % confidence intervals (CIs). Standardised differences were expressed as Hedges' g for independent groups and Hedges-corrected g_z for paired changes (Hedges, 1981); absolute g values of approximately 0.20, 0.50 and 0.80 served as descriptive benchmarks for small, medium and large differences (Cohen, 1988). Within-group changes did not estimate the between-group intervention effect.

Separate ordinary least squares regression models were fitted for post-intervention TC, LDL-C, HDL-C and TG, each including the corresponding baseline concentration, intervention allocation, season and the natural logarithm of habitual milk PL exposure. Total PL and individual PC, PE and SM exposures, as well as allocation × ln(exposure) interactions, were examined in separate models. LDL-C was the primary outcome; the other lipid outcomes were secondary, and class-specific and interaction models were exploratory. Tests were two-sided with significance at $p < 0.05$; no adjustment for multiple testing was applied, and p-values for secondary and exploratory analyses were nominal. Analyses were performed in jamovi 2.6.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Composition of studied milk and dairy products

Chemical composition. The chemical composition of raw milk and its processing products in winter and spring is presented in Table 2.

Table 2 / *2. tabula*

Chemical composition of milk and dairy products in winter and spring, % / *Piena un piena produktu ķīmiskais sastāvs ziemā un pavasarī, %*

Parameter / *Rādītājs*	Raw milk / *Svaigpiens*	Skimmed milk / *Vājpiens*	Buttermilk / *Paniņas*	Cream / *Krējums*
Winter / *Ziema*				
Fat / *Tauki*	3.83 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.78 ± 0.01	40.51 ± 0.06
Protein / *Olbaltumvielas*	3.35 ± 0.02	3.42 ± 0.02	2.90 ± 0.02	1.99 ± 0.01
Lactose / *Laktoze*	4.83 ± 0.02	4.77 ± 0.01	4.53 ± 0.01	2.75 ± 0.01
Solids-not-fat / *Beztauku sausna*	8.87 ± 0.03	9.09 ± 0.03	8.27 ± 0.01	5.62 ± 0.06
Total solids / *Kopējā sausna*	12.69 ± 0.03	9.26 ± 0.02	9.16 ± 0.01	46.14 ± 0.07
Spring / *Pavasaris*				
Fat / *Tauki*	3.81 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.93 ± 0.00	38.91 ± 0.09
Protein / *Olbaltumvielas*	3.26 ± 0.01	3.32 ± 0.00	2.83 ± 0.05	2.01 ± 0.01
Lactose / *Laktoze*	4.64 ± 0.01	4.59 ± 0.01	4.50 ± 0.01	2.73 ± 0.01
Solids-not-fat / *Beztauku sausna*	8.60 ± 0.01	8.80 ± 0.01	8.24 ± 0.01	5.59 ± 0.02
Total solids / *Kopējā sausna*	12.41 ± 0.01	9.01 ± 0.00	9.12 ± 0.00	44.56 ± 0.10

Product type was the primary source of variation in chemical composition. Fat concentration showed the widest range: cream had the highest and skimmed milk the lowest fat concentration, while buttermilk retained only 0.78-0.93 % fat. Total solids followed the fat pattern, whereas protein, lactose and solids-not-fat were highest in raw and skimmed milk and lowest in cream, reflecting the partition of the aqueous and lipid phases during separation, in which fat globules are concentrated in cream while most solids-non-fat compounds remain in the water phase (Fox et al., 2015; Walstra et al., 2005). Buttermilk was compositionally close to skimmed milk, in agreement with descriptions of sweet buttermilk (Sakkas et al., 2022). Winter-spring differences in the analysed samples were statistically significant for all five parameters ($p < 0.001$): protein, lactose and total solids in raw and skimmed milk and fat and total solids in cream were higher in winter, whereas the fat concentration of buttermilk was higher in spring. The low total fat of buttermilk does not mean a low PL concentration, because milk PL are associated with MFGM material (Table 3) redistributed into buttermilk during churning rather than with the fat itself (Sakkas et al., 2022; Venkat et al., 2024).

Polar lipids. The concentrations of total quantified PL and individual PC, PE and SM in milk and dairy products are presented in Table 3.

Table 3 / 3. *tabula*

Quantified polar lipids in milk and dairy products, mg 100 g^{-1} / *Kvantitatīvi noteiktie polārie lipīdi pienā un piena produktos, mg 100 g^{-1}*

Product / *Produkts*	Total quantified PL / *Kopējie kvantitatīvi noteiktie PL*	PC	PE	SM
Winter / *Ziema*				
Raw milk / *Svaigpiens*	27.89 ± 1.93	11.23 ± 0.68	12.43 ± 0.94	4.24 ± 0.31
Skimmed milk / *Vājpiens*	11.97 ± 0.61	4.76 ± 0.27	5.05 ± 0.27	2.16 ± 0.07
Buttermilk / *Paniņas*	51.65 ± 0.37	22.07 ± 0.16	23.87 ± 0.17	5.71 ± 0.04
Cream / *Krējums*	110.98 ± 2.69	43.95 ± 0.37	59.35 ± 1.68	7.68 ± 0.64
Spring / *Pavasaris*				
Raw milk / *Svaigpiens*	20.12 ± 0.13	9.03 ± 0.06	8.52 ± 0.06	2.57 ± 0.01
Skimmed milk / *Vājpiens*	10.84 ± 1.52	4.46 ± 0.78	4.46 ± 0.55	1.91 ± 0.18
Buttermilk / *Paniņas*	44.51 ± 1.99	18.51 ± 0.13	20.88 ± 1.36	5.11 ± 0.49
Cream / *Krējums*	110.05 ± 1.12	51.44 ± 0.71	50.53 ± 0.35	8.08 ± 0.06

Total quantified PL concentrations were highest in cream, followed by buttermilk, raw milk and skimmed milk. Buttermilk contained 40-47 % of the PL concentration in cream despite a 42-52-fold lower fat concentration. This pattern supports the conclusion that total fat alone does not adequately characterise milk PL concentration. The presence of substantial PL concentrations in buttermilk is consistent with the redistribution of MFGM material during cream ripening and churning (Bourlieu et al., 2018; Calvo et al., 2020; Sakkas et al., 2022).

Within the analysed batches, seasonal differences varied by product. In the exploratory two-way ANOVA, product type significantly affected concentrations of total quantified PL, PC, PE, and SM (all $p < 0.001$; partial $\eta^2 \geq 0.990$). In both seasons, the concentrations decreased in the order cream > buttermilk > raw milk > skimmed milk for total quantified PL and for each individual class (Table 3). Total quantified PL concentrations decreased from winter to spring in raw milk, skimmed milk and buttermilk, whereas cream showed little change. The season effect was significant for total quantified PL ($F(1, 8) = 30.41$, $p < 0.001$, partial $\eta^2 = 0.792$), PE ($F(1, 8) = 87.04$, $p < 0.001$, partial $\eta^2 = 0.916$) and SM ($F(1, 8) = 11.37$, $p = 0.010$, partial $\eta^2 = 0.587$), but

not for PC ($F(1, 8) = 2.25$, $p = 0.172$, partial $\eta^2 = 0.220$). In cream, PC increased while PE decreased, indicating redistribution between the quantified classes; the product × season interactions show that winter-spring changes were not uniform across products. The product × season interaction was significant for total quantified PL ($F(3, 8) = 5.84$, $p = 0.021$, partial $\eta^2 = 0.686$), PC ($F(3, 8) = 106.72$, $p < 0.001$, partial $\eta^2 = 0.976$), PE ($F(3, 8) = 15.66$, $p = 0.001$, partial $\eta^2 = 0.855$) and SM ($F(3, 8) = 7.60$, $p = 0.010$, partial $\eta^2 = 0.740$).

Relative distribution of polar lipid classes. The relative distribution of PC, PE and SM and the PC/PE ratio in milk and dairy products are presented in Table 4.

Table 4 / 4. *tabula*

Relative distribution of PC, PE and SM and the PC/PE ratio in milk and dairy products / *PC, PE un SM relatīvais sadalījums un PC/PE attiecība pienā un piena produktos*

Product / *Produkts*	PC, %	PE, %	SM, %	PC/PE ratio / *attiecība*
Winter / *Ziema*				
Raw milk / *Svaigpiens*	40.30	44.50	15.20	0.91
Skimmed milk / *Vājpiens*	39.80	42.20	18.10	0.94
Buttermilk / *Paniņas*	42.70	46.20	11.10	0.92
Cream / *Krējums*	39.60	53.50	6.90	0.74
Spring / *Pavasaris*				
Raw milk / *Svaigpiens*	44.90	42.30	12.80	1.06
Skimmed milk / *Vājpiens*	41.20	41.10	17.60	1.00
Buttermilk / *Paniņas*	41.59	46.92	11.49	0.89
Cream / *Krējums*	46.70	45.90	7.30	1.02

PC and PE were the major quantified PL classes in analysed products. PE predominated in all products in winter. In spring, PC exceeded PE in raw milk and cream, while their proportions were nearly equal in skimmed milk. Buttermilk retained a PE-dominant profile in both seasons. The PC/PE ratio increased in raw milk, skimmed milk and cream, with the largest increase in cream (from 0.74 to 1.02), whereas it decreased slightly in buttermilk (from 0.92 to 0.89).

Skimmed milk had the highest relative SM proportion, while cream had the lowest despite its highest absolute SM concentration (Table 3, Table 4). This pattern is consistent with the structure of the MFGM and its partitioning during separation. SM and PC are located mainly in the outer bilayer of the MFGM

(Venkat et al., 2024), whereas centrifugal separation transfers predominantly large, intact fat globules into cream and leaves small fat globules and membrane fragments in skimmed milk (Liu et al., 2017; Pan et al., 2023; Song et al., 2026). Processing-related partitioning of MFGM material may contribute to this pattern, but the mechanism was not directly examined in the present study.

Thus, absolute concentrations and relative proportions describe complementary aspects of milk PL composition.

2. Cultured buttermilk selected for the intervention

The commercial cultured buttermilk "Baltais" (SC Tukuma piens) was selected for the intervention based on its ingredient composition, PL concentration, declared fat content, lactic acid bacteria CFU, and regular retail availability. In the pre-selection analysis, its total quantified PL concentration was 30.18 ± 2.40 mg 100 g^{-1}; its declared fat content was 0.5 g 100 g^{-1}; its ingredients comprised buttermilk and a lactic acid bacteria starter culture; and the mesophilic lactic acid bacteria CFU was (1.07 ± 0.03) × 10^9 CFU g^{-1}.

After selection, samples from the winter and spring intervention periods were analysed by LC-MS. These measurements were used to calculate the PL dose provided by the daily portion (250 mL) consumed for 28 days (Table 5).

Table 5 / 5. *tabula*

Polar lipid composition of the intervention product and calculated daily dose / *Intervences produkta polāro lipīdu sastāvs un aprēķinātā deva dienā*

PL fraction / *PL frakcija*	Concentration / *Saturs,* mg 100 g^{-1}	Calculated daily dose / *Aprēķinātā deva dienā,* mg 250 g^{-1}
Winter / *Ziema*		
Total quantified PL / *Kopējie kvantitatīvi noteiktie PL*	32.52 ± 0.78	81.30 ± 1.95
PC	13.91 ± 0.30	34.78 ± 0.75
PE	14.84 ± 0.44	37.10 ± 1.10
SM	3.77 ± 0.05	9.43 ± 0.13
Spring / *Pavasaris*		
Total quantified PL / *Kopējie kvantitatīvi noteiktie PL*	27.89 ± 0.89	69.73 ± 2.23
PC	11.77 ± 0.26	29.43 ± 0.65
PE	14.55 ± 0.61	36.38 ± 1.53
SM	1.57 ± 0.05	3.93 ± 0.13

PC and PE were the predominant PL classes. The calculated total quantified PL dose was approximately 14 % lower in spring than in winter, mainly reflecting lower PC and SM concentrations, while PE remained comparatively

stable. Thus, the same daily portion volume provided different PL composition during the two intervention periods.

The selected cultured product contained approximately 37 % less total quantified PL than the sweet buttermilk obtained in the compositional study. Differences in raw material processing, mainly fat standardisation, may have contributed to this contrast. These findings describe the analysed samples and do not establish general differences between brands or seasons.

3. Participants, habitual diet and milk polar lipid intake

Participant characteristics. The final analysis included 61 perimenopausal women aged 45-55 years with moderately elevated LDL-C concentrations (inclusion criterion 3.01-4.12 mmol L^{-1}): 31 in the intervention group and 30 in the control group. The winter cohort comprised 11 intervention and 12 control participants and the spring cohort 20 and 18, respectively; the two cohorts comprised different women. Selected baseline characteristics are presented in Table 6.

Table 6 / 6. *tabula*

Selected baseline characteristics of participants / *Dalībnieču sākotnējie raksturlielumi*

Characteristic / *Raksturlielums*	Intervention / *Intervence* (n = 31)	Control / *Kontrole* (n = 30)	Reference interval / *Reference s intervāls*	p-value / *p-vērtība*	Hedges' g / *Hedžesa g*
Age, years / *Vecums, gadi*	49.16 ± 2.60	49.63 ± 3.17	-	0.528	0.16
BMI, kg m^{-2} / *ĶMI, kg* m^{-2}	25.25 ± 4.15	25.31 ± 4.85	-	0.954	0.01
Waist circumference, cm / *Vidukļa apkārtmērs, cm*	83.52 ± 9.10	85.20 ± 13.23	-	0.566	0.15
TC, mmol L^{-1}	5.93 ± 0.61	5.93 ± 0.48	0.0-5.0	0.996	0.00
HDL-C, mmol L^{-1}	1.92 ± 0.55	1.78 ± 0.34	>1.2	0.244	-0.30
LDL-C, mmol L^{-1}	3.59 ± 0.31	3.62 ± 0.29	1.7-3.0	0.634	0.12
Non-HDL-C, mmol L^{-1}	4.01 ± 0.44	4.15 ± 0.47	≤3.9	0.223	0.31
Remnant cholesterol, mmol L^{-1} / *Remnanta holesterīns, mmol* L^{-1}	0.43 ± 0.26	0.53 ± 0.32	≤0.9	0.190	0.34
TG, mmol L^{-1}	1.13 ± 0.65	1.17 ± 0.64	0.1-1.7	0.811	0.06
Glucose, mmol L^{-1} / *Glikoze, mmol* L^{-1}	4.62 ± 0.51	4.71 ± 0.82	4.1-5.9	0.607	0.13
ALAT, U L^{-1}	19.52 ± 10.52	22.53 ± 9.81	10-35	0.251	0.29

Note. Mean ± SD. Laboratory reference intervals are provided for clinical orientation. Positive Hedges' g values indicate higher means in the control group. / *Piezīme. Vidējā vērtība ± SN. Laboratorijas references intervāli sniegti klīniskai orientācijai. Pozitīvas Hedžesa g vērtības norāda uz augstākām vidējām vērtībām kontroles grupā.*

No statistically significant between-group differences were detected in the baseline demographic, anthropometric or biochemical characteristics (Table 6). Mean TC was identical in the two groups, whereas the control group had numerically higher non-HDL-C (g = 0.31) and remnant cholesterol (g = 0.34) and lower HDL-C (g = -0.30); these small to moderate standardised differences (absolute g values 0.30-0.34) are relevant when interpreting the within-group changes in Table 10. The absence of statistically significant differences does not establish complete equivalence between the groups. In both groups, mean TC, LDL-C and non-HDL-C exceeded the laboratory reference thresholds, consistent with the eligibility criteria, whereas mean HDL-C, TG, remnant cholesterol, glucose and ALAT were within the reference intervals (Table 6).

Habitual dietary characteristics. Selected FFQ-derived habitual food-group, energy and nutrient intakes are presented in Tables 7 and 8.

Table 7 / *7. tabula*

Selected habitual dietary characteristics of the study groups, g day^{-1} /
Pētījuma grupu uztura raksturlielumi, g dienā

Food group / *Pārtikas produktu grupa*	Intervention / *Intervence* (n = 31)	Control / *Kontrole* (n = 30)	p-value / *p-vērtība*
Milk and dairy products / *Piens un piena produkti*	253.10 (153.97; 366.15)	299.23 (223.97; 368.88)	0.282
Grains, grain-based products / *Graudaugi un graudaugu produkti*	68.47 (41.02; 93.21)	80.31 (45.57; 103.93)	0.276
Bread / *Maize*	54.85 (32.41; 73.52)	67.07 (41.60; 116.67)	0.147
Meat, poultry / *Gaļa un mājputnu gaļa*	71.73 (48.22; 127.33)	73.23 (42.64; 116.86)	0.569
Fish / *Zivis*	32.22 (19.00; 44.73)	28.38 (14.86; 53.12)	0.988
Vegetable oils, plant- and animal-based fats, dressings / *Augu eļļas, augu un dzīvnieku valsts izcelsmes tauki un mērces*	24.90 (14.85; 35.63)	22.46 (14.60; 32.74)	0.692
Vegetables / *Dārzeņi*	191.51 (133.27; 263.44)	160.01 (116.47; 225.59)	0.493
Fruits, berries / *Augļi un ogas*	185.18 (122.58; 259.66)	235.95 (134.57; 343.03)	0.182

Table 7 continuation / *7. tabulas turpinājums*

Food group / *Pārtikas produktu grupa*	Intervention / *Intervence* (n = 31)	Control / *Kontrole* (n = 30)	p-value / *p-vērtība*
Sweets / *Saldumi*	30.12 (19.68; 47.36)	37.62 (27.65; 55.07)	0.108

Note. Habitual food-group intake, g day^{-1}, derived from the FFQ for each participant. Because the distributions were skewed, group values are presented as the median with the first and third quartiles (Q1; Q3). p-values compare the study groups using the Mann-Whitney U test. / *Piezīme. Pārtikas produktu patēriņš pētījuma grupā, g dienā, aprēķināts katrai dalībniecei no FFQ. Tā kā sadalījums bija asimetrisks, grupu vērtības norādītas kā mediāna ar pirmo un trešo kvartili (Q1; Q3). p-vērtības raksturo pētījuma grupu salīdzinājumu, izmantojot Manna-Vitnija U testu.*

Table 8 / *8. tabula*

Energy and nutrient intake / *Enerģijas un uzturvielu uzņemšana*

Parameter / *Rādītājs*	Intervention / *Intervence* (n = 31)	Control / *Kontrole* (n = 30)	p-value / *p-vērtība*	Hedges' g / *Hedžesa g*
Energy, kcal day^{-1} / *Enerģija, kcal dienā*	1804.86 ± 488.08	2042.37 ± 531.88	0.075	0.46
Protein, E% / *Olbaltumvielas, E%*	19.99 ± 3.36	19.39 ± 4.22	0.540	-0.16
Carbohydrates, g day^{-1} / *Ogļhidrāti, g dienā*	150.58 ± 45.80	189.67 ± 58.15	0.005	0.74
Carbohydrates, E% / *Ogļhidrāti, E%*	33.81 ± 7.43	37.46 ± 7.76	0.066	0.47
Total fat, E% / *Kopējais tauku daudzums, E%*	43.63 ± 7.20	40.46 ± 5.85	0.064	-0.48
SFA, E% / *Piesātinātās taukskābes, E%*	13.84 ± 3.75	12.74 ± 2.21	0.169	-0.35
MUFA, E% / *Mononepiesātinātās taukskābes, E%*	16.84 ± 5.26	15.13 ± 3.17	0.131	-0.39
PUFA, E% / *Polinepiesātinātās taukskābes, E%*	7.47 ± 1.75	7.30 ± 1.78	0.709	-0.09
Total fibre, g day^{-1} / *Kopējās šķiedrvielas, g dienā*	20.11 ± 6.32	24.76 ± 10.18	0.038	0.54
Soluble fibre, g day^{-1} / *Šķīstošās šķiedrvielas, g dienā*	6.11 ± 1.99	7.55 ± 2.97	0.031	0.56

Table 8 continuation / *8. tabulas turpinājums*

Parameter / *Rādītājs*	Intervention / *Intervence* (n = 31)	Control / *Kontrole* (n = 30)	p-value / *p-vērtība*	Hedges' g / *Hedžesa g*
Total sugars, g day^{-1} / *Kopējie cukuri, g dienā*	76.03 ± 28.30	98.38 ± 35.46	0.009	0.69

Note. p-values test the statistical significance of between-group differences in intake. Positive Hedges' g values indicate higher means in the control group, negative values in the intervention group. E% - percentage of total energy intake; SFA - saturated fatty acids; MUFA - monounsaturated fatty acids; PUFA - polyunsaturated fatty acids. / *Piezīme. p-vērtības raksturo, vai uzņemšanas atšķirības starp pētījuma grupām ir statistiski nozīmīgas. Pozitīvas Hedžesa g vērtības norāda uz augstākām vidējām vērtībām kontroles grupā, negatīvas - intervences grupā. E% - procenti no kopējās uzņemtās enerģijas; SFA - piesātinātās taukskābes; MUFA - mononepiesātinātās taukskābes; PUFA - polinepiesātinātās taukskābes.*

No statistically significant between-group differences were detected for any assessed food category, including milk and dairy products. However, the control group had higher absolute carbohydrate, total fibre, soluble fibre and total sugar intakes. Energy intake and the proportional contribution of carbohydrates were also numerically higher in the control group, but these differences did not reach statistical significance.

In both groups, mean carbohydrate contributions and total fibre intakes were below the corresponding recommended intakes, while total fat and SFA contributions exceeded the recommended upper limits. Mean protein, MUFA and PUFA contributions were within the recommended ranges (Nordic Council of Ministers, 2023; Veselības ministrija, 2025).

Total sugars included naturally occurring sugars from fruits, berries and dairy products as well as sugars from sweetened foods. These values cannot be directly compared with recommendations for added or free sugars. The higher total sugar intake in the control group should not automatically be interpreted as a less favourable dietary pattern. The observed dietary differences, particularly in total and soluble fibre intake, should be considered when interpreting subsequent plasma lipid outcomes.

Habitual milk polar lipid intake. Habitual milk PL intake was calculated from FFQ-derived dairy intake converted to milk equivalents and multiplied by season-specific raw-milk PL concentrations. Results for the total sample and the independent winter and spring cohorts are presented in Table 9.

Table 9 / 9. *tabula*

Habitual milk polar lipid intake (mg day^{-1}) in the total sample and by season / *Piena polāro lipīdu daudzums uzturā (mg dienā) kopējā pētījuma izlasē un sezonā*

PL fraction / *PL frakcija*	Total / *Kopā* (n = 61)	Winter / *Ziema* (n = 23)	Spring / *Pavasaris* (n = 38)	p-value / *p-vērtība*	Hedges' g / *Hedžesa g*
Total PL / *Kopējie PL*	211.76 ± 138.82	264.25 ± 171.07	179.98 ± 105.36	0.041	0.62
PC	90.47 ± 57.24	106.40 ± 68.88	80.83 ± 47.31	0.124	0.45
PE	91.82 ± 61.36	117.68 ± 76.18	76.18 ± 44.59	0.024	0.70
SM	29.46 ± 20.74	40.17 ± 26.01	22.98 ± 13.45	0.006	0.89

Note. p-values compare independent seasonal cohorts comprising different women. Positive Hedges' g values indicate higher intake in winter. Habitual intake excludes the PL dose supplied by the intervention product (see Materials and methods). / *Piezīme. p-vērtības raksturo neatkarīgu sezonālo kohortu salīdzinājumu, kurās piedalījās dažādas dalībnieces. Pozitīvas Hedžesa g vērtības norāda uz lielāku uzņemšanu ziemā. Ierastā uzņemšana neietver ar intervences produktu uzņemto PL devu (sk. Materiāli un metodes).*

Total milk-equivalent dairy intake did not differ significantly between winter and spring cohorts. However, calculated total PL, PE and SM intakes were significantly higher in winter. The standardised differences were moderate for total PL and PE and largest for SM. PC intake was also numerically higher in winter, but the difference was not statistically significant. These findings reflect the contribution of season-specific raw-milk PL composition to the exposure calculation.

Among individual FFQ dairy categories, skimmed milk curd and semi-hard cheese contributed the largest shares in winter, accounting for 20.41 % and 11.05 % of calculated total milk PL intake, respectively. In spring, the leading categories were semi-hard cheese (12.66 %), skimmed milk curd (11.70 %) and soft cheese (10.78 %). These percentages describe each category's seasonal mean contribution relative to the seasonal mean total intake; category differences were not statistically tested.

The daily intervention portion corresponded to approximately 31 % of mean habitual milk PL intake in winter and 39 % in spring. The exposure values characterise the milk-equivalent calculation model rather than direct measurements of PL intake from each dairy product consumed.

4. Plasma lipid profile after the 28-day intervention

Plasma lipid changes during the intervention. Plasma lipid concentrations at baseline and after 28 days, together with within-group changes, are presented in Table 10.

Table 10 / 10. *tabula*

Plasma lipid concentrations and changes during the 28-day intervention, mmol L^{-1} / *Plazmas lipīdu koncentrācijas un izmaiņas 28 dienu intervences laikā, mmol L^{-1}*

Parameter / *Rādītājs*	Baseline / *Sākotnēji*	Day 28 / *28. dienā*	Mean change [95 % CI] / *Vidējās izmaiņas [95 % TI]*	p-value / *p-vērtība*	g_z
Intervention group / *Intervences grupa* (n = 31)					
TC	5.93 ± 0.61	5.88 ± 0.77	-0.05 [-0.33; 0.23]	0.717	-0.06
HDL-C	1.92 ± 0.55	1.87 ± 0.44	-0.05 [-0.15; 0.05]	0.285	-0.19
LDL-C	3.59 ± 0.31	3.63 ± 0.61	0.04 [-0.16; 0.24]	0.696	0.07
Non-HDL-C	4.01 ± 0.44	4.02 ± 0.63	0.01 [-0.22; 0.24]	0.933	0.01
Remnant cholesterol / *Remnanta holesterīns*	0.43 ± 0.26	0.41 ± 0.22	-0.01 [-0.11; 0.09]	0.778	-0.05
TG	1.13 ± 0.65	1.11 ± 0.47	-0.02 [-0.21; 0.16]	0.803	-0.04
Control group / *Kontroles grupa* (n = 30)					
TC	5.93 ± 0.48	5.44 ± 1.07	-0.50 [-0.90; -0.09]	0.018	-0.44
HDL-C	1.78 ± 0.34	1.67 ± 0.39	-0.11 [-0.23; -0.001]	0.049	-0.36
LDL-C	3.62 ± 0.29	3.34 ± 0.66	-0.28 [-0.53; -0.03]	0.027	-0.41
Non-HDL-C	4.15 ± 0.47	3.77 ± 0.91	-0.38 [-0.71; -0.06]	0.023	-0.43
Remnant cholesterol / *Remnanta holesterīns*	0.53 ± 0.32	0.43 ± 0.45	-0.09 [-0.22; 0.03]	0.140	-0.27
TG	1.17 ± 0.64	1.08 ± 0.61	-0.09 [-0.25; 0.07]	0.258	-0.21

Note. g_z denotes the Hedges-corrected standardised within-group changes; negative changes and negative g_z values indicate a decrease in concentration from baseline to day 28. p-values refer to paired comparisons within each group. CI - confidence interval. / *Piezīme. g_z apzīmē standartizētās izmaiņas grupas ietvaros ar Hedžesa korekciju; negatīvas izmaiņas un negatīvas g_z vērtības norāda uz koncentrācijas samazinājumu no sākotnējās līdz 28. dienai. p-vērtības attiecas uz pāru salīdzinājumiem katrā grupā. CI, TI - ticamības intervāls.*

No statistically significant within-group changes were detected in the intervention group for any of the studied lipid parameters. Standardised changes were small (absolute g_z values ≤ 0.19), and all confidence intervals for mean changes included zero.

In the control group, TC, LDL-C, non-HDL-C and HDL-C decreased significantly, whereas remnant cholesterol and TG showed no statistically significant changes. LDL-C was the primary outcome. No adjustment for

multiple testing was applied, so p-values for the secondary outcomes are nominal, and the HDL-C finding should be interpreted as exploratory.

These findings indicate possible changes in response to a short food-based intervention with a relatively low PL dose. Biological variability, heterogeneous individual responses and differences in habitual dietary background may have contributed to the control-group changes, but their causes cannot be established from these data.

Adjusted models of plasma lipid concentrations. Separate linear regression models were designed, each including the corresponding baseline concentration, intervention allocation, season and ln-transformed habitual total milk PL intake; reference categories were the control group and winter data, and no adjustment for multiple testing was applied. Regression coefficients (β) are unstandardised and expressed in mmol L^{-1} per unit change of the predictor.

Baseline concentrations were the strongest predictors in all models (β = 0.61-0.77, all $p < 0.001$). After adjustment, the intervention group had higher day 28 TC (β = 0.485, 95 % CI 0.023-0.948, p = 0.040) and LDL-C (β = 0.330, 95 % CI 0.024-0.636, p = 0.035) than the control group, whereas allocation was not associated with HDL-C (p = 0.143) or TG (p = 0.468). These between-group differences should be read together with the within-group changes (Table 10) and do not establish that cultured buttermilk raised TC or LDL-C from baseline.

Season was not a significant predictor of any outcome ($p \geq 0.449$). Higher habitual total milk PL intake was positively associated with day 28 HDL-C (β = 0.059, 95 % CI 0.020-0.099, p = 0.004) and TG (β = 0.067, 95 % CI 0.014-0.119, p = 0.014). Exploratory models for PC, PE and SM showed the same pattern, and no group × ln(total PL intake) interaction reached statistical significance for any outcome ($p \geq 0.169$). These exposure associations are exploratory and do not demonstrate a causal or cholesterol-lowering effect of consumed milk PL.

5. Strengths and limitations of the study

The main strength of the thesis is its integrated design, in which food composition analysis, dietary assessment and a randomised controlled intervention were examined as linked components. Raw milk and its processing products from the same batch were analysed in two seasons, the intervention product was characterised analytically so that the daily PL dose rests on measured season-specific concentrations, and the clinical part addressed an understudied group with predefined eligibility criteria, a pilot study, one accredited laboratory at both time points and retention of 61 of 62 participants. Habitual exposure was distinguished from intervention allocation, baseline concentrations were included in the models, and compositional findings were not translated into efficacy claims.

The main limitations are one processing batch per season from a single dairy, two independent seasonal cohorts instead of repeated measurements, dependence of exposure estimates on FFQ accuracy and milk-equivalent conversion rather

than direct PL measurement, the absence of blinding and placebo, limited statistical power for subgroup and interaction analyses, the 28-day duration, possible residual confounding under free-living conditions, and the absence of BMI from the regression models. The exposure-based analyses are associations and do not prove causality.

CONCLUSIONS

1. The polar lipid concentration pattern was consistent with processing-related redistribution of milk fat globule membrane material, indicating that total fat concentration alone does not adequately characterise the polar lipid concentration in milk and dairy products.
2. Seasonal variation in the concentrations of quantified polar lipids was product-specific; the product × season interaction was significant for total quantified polar lipids ($p = 0.021$), phosphatidylcholine ($p < 0.001$), phosphatidylethanolamine ($p = 0.001$) and sphingomyelin ($p = 0.010$).
3. The commercially available standardised cultured buttermilk used in the intervention contained 27.89-32.52 mg 100 g^{-1} of total quantified polar lipids, and the daily intervention portion of 250 mL supplied 70-81 mg of polar lipids, representing up to one third of participants' habitual milk polar lipid intake.
4. Daily consumption of 250 mL of cultured buttermilk for 28 days did not yield statistically significant within-group changes in total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, remnant cholesterol or triglyceride concentrations in the intervention group. The study did not demonstrate a lipid-lowering effect under the conditions investigated.
5. Total dairy product intake, expressed as milk equivalent, did not differ between winter and spring, whereas estimated habitual milk polar lipid exposure was significantly higher in winter than in spring (total polar lipids $p = 0.041$, Hedges' $g = 0.62$; phosphatidylethanolamine $p = 0.024$, Hedges' $g = 0.70$; sphingomyelin $p = 0.006$, Hedges' $g = 0.89$).
6. Habitual milk polar lipid exposure depends on dairy product selection and season-specific product composition, not on total dairy intake alone.
7. Higher estimated habitual milk polar lipid exposure was associated with higher post-intervention concentrations of high-density lipoprotein cholesterol ($\beta = 0.059$, $p = 0.004$) and triglycerides ($\beta = 0.067$, $p = 0.014$), but not with the primary outcome, low-density lipoprotein cholesterol.
8. The hypothesis was partially supported. Differences in polar lipid concentration and class distribution were observed among the studied milk and dairy products and between the analysed winter and spring batches. The 28-day cultured buttermilk intervention did not demonstrate a lipid-lowering effect. Associations between estimated habitual milk polar lipid exposure and

selected plasma lipid parameters were exploratory and do not establish a causal effect of polar lipid intake.

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Piena polārie lipīdi (PL) ir kvantitatīvi neliela, taču strukturāli un funkcionāli nozīmīga piena tauku lodīšu membrānas (MFGM) sastāvdaļa (Anto et al., 2020; Venkat et al., 2024). To saturs un relatīvais sadalījums pienā un piena produktos ir atkarīgs no svaigpiena sastāva, ieguves sezonas, piena tauku lodīšu lieluma un piena pārstrādes procesiem. Piena separēšana, krējuma termiskā apstrāde, dzesēšana, nogatavināšana un kulšana izraisa ar membrānas uzbūvi saistīto lipīdu pārdali starp vājpienu, krējumu, sviestu un paniņām, tādēļ kopējais tauku saturs nepietiekami raksturo piena produktus kā PL avotu (Hokkanen et al., 2021; Liu et al., 2017; Venkat et al., 2024). Arī publicētos datus ir grūti salīdzināt, jo PL pētījumos izmantotas atšķirīgas analītiskās metodes to noteikšanai. Turklāt pieejamo datu apjoms par fosfatidilholīna (PC), fosfatidiletanolamīna (PE) un sfingomielīna (SM) sadalījumu produktos viena piena pārstrādes procesa ietvaros dažādās sezonās ir ierobežots, īpaši Latvijā.

Paniņas ir PL avots, jo krējuma kulšanas laikā MFGM tiek sagrauta un lodīšu apvalku fragmenti pāriet ūdens fāzē (Calvo et al., 2020; Venkat et al., 2024). Līdz ar to paniņas satur ievērojamu PL saturu, neraugoties uz salīdzinoši mazo kopējo tauku saturu.

Līdz šim publicētajos pētījumos galvenokārt analizētas saldkrējuma paniņas, sausās paniņas un izolētas vai koncentrētas MFGM frakcijas (Bourlieu et al., 2018; Calvo et al., 2020; Sakkas et al., 2022). Šie produkti atšķiras pēc ūdens satura, apstrādes tehnoloģijas un sastāva, tādēļ nevar pieņemt, ka zinātniskajos darbos norādītais sastāvs ir tieši attiecināms uz raudzētām paniņām. Raudzētu paniņu PL saturu nevar arī prognozēt pēc deklarētā tauku satura, produkta kategorijas vai literatūrā norādītajām vērtībām citiem paniņu produktiem. Vērtējot raudzētas paniņas kā piena PL avotu uzturā, kopējo PL, PC, PE un SM saturu ir jānosaka konkrētajam produktam attiecīgajā sezonā.

Klīniskajos pētījumos iegūtie rezultāti sniedz bioloģisku pamatojumu piena PL iespējamai ietekmei uz holesterīna asimilāciju zarnās un atsevišķiem cirkulējošo lipīdu rādītājiem (Anto et al., 2020; Bruno et al., 2021; Vors et al., 2020). Līdzšinējos intervences pētījumos pārsvarā izmantotas izolētas PL frakcijas vai ar MFGM bagātināti produkti, nodrošinot ap 2.3-5.0 g piena izcelsmes PL vai fosfolipīdu uzņemšanu dienā. Šajos pētījumos galvenokārt piedalījušās sievietes pēcmenopauzes periodā, dalībnieki ar lieko ķermeņa masu vai ar metabolo sindromu. Pētījumu rezultāti variē atkarībā no intervencē izmantotā produkta, pētījuma populācijas, fosfolipīdu devas un izvēlētajiem pētījuma rādītājiem. Līdz ar to šo pētījumu rezultātus nevar tieši attiecināt uz mazāku un mainīgāku piena PL uzņemšanu, kas saistīta ar ikdienā lietotu piena produktu patēriņu uzturā. Turklāt pierādījumi par raudzētu paniņu izmantošanu uztura intervencē sievietēm perimenopauzē ir īpaši ierobežoti (Le Barz et al., 2021; Pokala et al., 2023; Venkat et al., 2024; Vors et al., 2020).

Promocijas darba hipotēze: polāro lipīdu saturs pienā un piena produktos mainās atkarībā no sezonas un pārstrādes un var ietekmēt plazmas lipīdu profilu

sievietēm perimenopauzē ar mēreni paaugstinātu zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna koncentrāciju.

Promocijas darba mērķis ir izvērtēt polāro lipīdu sastāvu un sadalījumu pienā un piena produktos un novērtēt saistību starp polāro lipīdu uzņemšanu ar raudzētām paniņām un plazmas lipīdu profilu sievietēm perimenopauzē.

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1) analizēt piena un piena pārstrādes procesā iegūto piena produktu ķīmisko sastāvu un polāro lipīdu profilu;
2) izvērtēt sezonālās atšķirības galveno piena polāro lipīdu klašu saturā un relatīvajā sadalījumā pienā un pētītajos pārstrādes produktos;
3) veikt 28 dienu randomizētu kontrolētu uztura intervences pētījumu, izvērtējot raudzētu paniņu ikdienas lietošanas ietekmi uz plazmas lipīdu profilu sievietēm perimenopauzē ar mēreni paaugstinātu zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna koncentrāciju;
4) novērtēt uztura patēriņu un aprēķināt piena polāro lipīdu daudzumu uzturā, apvienojot individuālos uztura patēriņa datus ar sezonai raksturīgo piena produktu sastāvu;
5) analizēt saistības starp aprēķināto piena polāro lipīdu daudzumu uzturā un pētījuma dalībnieču plazmas lipīdu profilu.

Promocijas darba novitāte un zinātniskais nozīmīgums:

1) noteiktas fosfatidilholīna, fosfatidiletanolamīna un sfingomielīna satura un relatīvā sadalījuma likumsakarības pienā un piena produktos sezonas un piena pārstrādes procesa ietvaros;
2) izstrādāta integrēta pieeja piena polāro lipīdu daudzuma uzturā novērtēšanai, apvienojot dalībnieču individuālos uztura patēriņa datus ar eksperimentāli noteikto sezonai raksturīgo piena produktu sastāvu.

Promocijas darba praktiskā nozīme:

1) pētījuma atziņas palīdz skaidrot sezonālās izmaiņas polāro lipīdu sastāvā un saturā pienā un piena pārstrādes procesā;
2) darbā izstrādāto pieeju var izmantot pārtikas patēriņa un uztura epidemioloģijas pētījumos, lai novērtētu piena polāro lipīdu daudzumu uzturā, ņemot vērā produktu izvēli un sezonai raksturīgo sastāvu, nevis tikai kopējo piena produktu patēriņu;
3) iegūtie rezultāti nodrošina uz pētījumiem balstītu raudzētu paniņu uzturvērtības raksturojumu, nošķirot produkta ķīmiskā sastāva datus no pierādījumiem par ietekmi uz veselību.

Promocijas darba izstrāde līdzfinansēta no pētniecības programmas "Zinātniskās kapacitātes stiprināšana LLU" projekta "Paniņu polāro lipīdu izpēte" un ERAF projekta Nr. 1.1.1.8/1/24/I/002 "LBTU doktorantu atbalsta un attīstības iniciatīva".

PROMOCIJAS DARBA APROBĀCIJA

Promocijas darba rezultāti apkopoti un publicēti trīs recenzētās zinātniskajās publikācijās, kas indeksētas starptautiskajās citēšanas datubāzēs Scopus un/vai Web of Science, un divās recenzētās konferenču tēzēs, kas indeksētas Scopus un/vai Web of Science.

Pētījuma rezultāti prezentēti septiņās starptautiskās zinātniskajās konferencēs Latvijā, Lietuvā, Francijā un Itālijā. Publikāciju, konferenču tēžu un konferenču ziņojumu sarakstu skatīt 8. lpp.

MATERIĀLI UN METODES

Pētījums veikts laika posmā no 2022. līdz 2026. gadam Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes Pārtikas institūta Mikrobioloģijas laboratorijā un Piena pilotražotnē, arī LBTU Biotehnoloģiju zinātniskajā laboratorijā. Uztura dati apstrādāti Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūtā "BIOR".

Pētījums ietvēra piecus posmus: i) piena un piena produktu sastāva analīze; ii) intervences produkta izvēle un raksturojums; iii) 28 dienu randomizēts kontrolēts pētījums; iv) piena PL daudzuma uzturā aprēķins no uztura un piena un piena produktu sastāva datiem; v) piena un piena produktu sastāva, uztura un klīnisko rezultātu statistiskā analīze.

1. Piena un piena produktu sastāva izpēte

Svaigpiens pētījumam iegūts no SIA "Latvijas Piens" 2023. gada decembrī (ziema) un 2024. gada maijā (pavasaris), katrā sezonā pētīta viena svaigpiena partija. Svaigpiens tika uzsildīts līdz 40 °C un separēts (laboratorijas separātors Armfield, Lielbritānija), iegūstot vājpienu un krējumu. Krējums termiski apstrādāts 90 ± 2 °C temperatūrā 5 min, atdzesēts un fizikāli nogatavināts 6 ± 2 °C 6 h. Nogatavinātais krējums uzsildīts līdz 12 °C un kults laboratorijas sviesta gatavotājā FJ 10 (Janschitz, Austrija) 11-12 °C temperatūrā līdz rodas sviesta graudi un atdalās paniņas. Saldkrējuma paniņas nolietas un analizētas bez turpmākas apstrādes (1. att.), sviesta graudi sastrādāti monolītā masā. PL datu kopu veidoja svaigpiens, vājpiens, krējums un saldkrējuma paniņas. Paraugi analizēti 12 h laikā pēc sagatavošanas vai ne vēlāk kā 24 h pēc sagatavošanas, uzglabājot 4 ± 2 °C temperatūrā.

Ķīmiskā sastāva noteikšana. Tauku, olbaltumvielu, laktozes, beztauku sausnas un kopējās sausnas saturs noteikts ar vidējā infrasarkanā starojuma spektrometriju, izmantojot MilkoScan™ Mars (Foss, Dānija) analizatoru. Analīzes veiktas trijos atkārtojumos katram produkta veidam ziemas un pavasara sezonā saskaņā ar ISO 9622:2013.

Polāro lipīdu kvantitatīvā noteikšana. PL tika ekstrahēti pēc modificētas Bligh un Dyer metodes (Breil et al., 2017) un kvantitatīvi noteikti, izmantojot

Shimadzu Nexera UC šķidruma hromatogrāfijas-tandēma masspektrometrijas (LC-MS/MS) sistēmu (Kioto, Japāna) ar pozitīvo elektroizsmidzināšanas jonizāciju un vairāku reakciju monitoringu. Analīti tika identificēti pēc aiztures laikiem un analītiskajiem standartiem specifiskajām pārejām.

PC, PE un SM tika kvantitatīvi noteikti, izmantojot kalibrēšanas līknes, kas sagatavotas no attiecīgajiem analītiskajiem standartiem sešās koncentrācijās, veicot divus mērījumus katrā koncentrācijā (12 mērījumi katrai kalibrēšanas līknei). Koncentrāciju diapazoni bija 0.0156-0.5000 μg mL^{-1} PC, 0.0172-0.5500 μg mL^{-1} PE un 0.0188-0.6000 μg mL^{-1} SM. Kalibrēšanas līkņu linearitāti raksturoja determinācijas koeficients $R^2 > 0.995$, bet precizitāti – relatīvā standartnovirze (RSD) ≤ 15 %. Mērījumi tika veikti divos atkārtojumos katram produktam un sezonai, un rezultāti izteikti mg 100 g^{-1} produkta.

Kvantitatīvi tika noteikti PC, PE un SM, kas kopā veido aptuveni 80 % no govs piena kopējiem PL (Liu et al., 2015, 2020; Rombaut et al., 2005). Izstrādātā metode ļāva noteikt arī fosfatidilinozitolu un fosfatidilserīnu, taču analizētajos paraugos tie netika konstatēti. Kopējais kvantitatīvi noteikto PL saturs tika aprēķināts kā PC, PE un SM summa, savukārt galveno noteikto polāro lipīdu relatīvās proporcijas tika izteiktas procentos no šīs summas. Tādēļ termina "kopējie PL" vietā lietots precīzāks termins "kopējie kvantitatīvi noteiktie PL". Analītiskie atkārtojumi raksturoja mērījumu atkārtojamību katras partijas ietvaros.

2. Klīniskā pētījuma plānošana un norise

Intervences produkta izvēle un raksturojums. Darbā izvērtētas piecas Latvijas, Lietuvas un Polijas ražotāju mazumtirdzniecībā pieejamās raudzētās paniņas. Izvēlē vērtēts produkta sastāvs, aromatizējošu sastāvdaļu neesamība, deklarētais tauku un olbaltumvielu saturs, mezofilo pienskābes baktēriju koloniju veidojošo vienību (KVV) skaits, kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs, pieejamība mazumtirdzniecībā un iespēja produktu lietot ikdienā 28 dienas. Priekšroka dota produktiem, kuru sastāvā ir tikai paniņas un ieraugs un kuriem noteikts lielākais kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs.

Mezofilās pienskābes baktērijas kultivētas MRS agarā (Scharlau, Spānija) 30 °C temperatūrā 72 h saskaņā ar LVS ISO 15214:1998. Kritērijs paniņu izvēlei bija pienskābes baktēriju skaits ne mazāk kā 10^7 KVV g^{-1} atbilstoši Ministru kabineta noteikumiem Nr. 97 (2011).

Intervencei izvēlētajam produktam – raudzētām paniņām "Baltais" (AS "Tukuma piens", Latvija) – papildu katrā sezonā noteikts PC, PE, SM un kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs ar iepriekšaprakstīto metodi.

Ētikas komisijas atļauja un pētījuma reģistrācija. Pētījumu apstiprināja Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja (protokola kods 2-PĒK-4/513/2022; 2022. gada 23. novembris). Visas pētījuma dalībnieces tika iepazīstinātas ar pētījuma norisi un parakstīja informētās piekrišanas veidlapu, tika nodrošināta brīvprātīga dalība pētījumā, personas identificējošie dati aizstāti ar unikāliem

četrciparu kodiem. Pētījums retrospektīvi reģistrēts Starptautiskā standarta randomizētu kontrolētu pētījumu numuru (ISRCTN) reģistrā (ISRCTN11974930; 2026. gada 25. jūnijs).

Klīniskā pētījuma dizains un pilotpētījums. Klīniskais pētījums bija 28 dienu randomizēts, kontrolēts, uz pārtikas produktu balstīts intervences pētījums, kas veikts Latvijā no 2023. gada oktobra līdz 2024. gada jūnijam. Pētījumā tika izvērtēta raudzētu paniņu lietošanas ietekme uz plazmas lipīdu profilu sievietēm perimenopauzē. Intervences grupa papildus ierastajam uzturam 28 dienas katru dienu lietoja 250 mL raudzētu paniņu, savukārt kontroles grupa saglabāja ierasto uzturu un dzīvesveidu.

Iepriekšveiktajā pilotpētījumā, kas norisinājās no 2022. gada decembra līdz 2023. gada aprīlim, piedalījās astoņas sievietes perimenopauzē vecumā no 45 līdz 55 gadiem. Dalībnieces iedalītas intervences un kontroles grupā (n = 4 katrā). Pilotpētījumā izvērtēta dalībnieču atlases, uztura novērtēšanas un 28 dienu intervences īstenojamība, kā arī raudzētu paniņu lietošanas ievērošana.

Dalībnieču atlase, skrīnings un atbilstība. Pētījuma dalībnieces no 2023. gada oktobra līdz 2024. gada jūnijam tika atlasītas ar pieejamības izlases metodi, izmantojot ginekologu prakses, ģimenes ārstu, slimnīcu un sociālo tīklu starpniecību. Izlases lieluma plānošanā izmantota Viechtbauer et al. (2015) orientētā pieeja: 29 dalībnieces ļauj ar 95 % ticamību konstatēt problēmu, kuras rašanās varbūtība ir 0.10. Atlases mērķis bija 30 sievietes katrā grupā un vismaz 60 dalībnieces kopā.

Piedalīties pētījumā bija iespēja Latvijā dzīvojošām sievietēm vecumā no 45 līdz 55 gadiem, kuras norādīja vismaz vienu perimenopauzes simptomu (karstuma viļņi, svīšana naktī vai neregulāras menstruācijas). Iekļaušanai pētījumā bija nepieciešama mēreni paaugstināta zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna (LDL-C) koncentrācija 3.01-4.12 mmol L^{-1} iepriekšējo sešu mēnešu laikā un stabila ķermeņa masa (± 2 kg) šajā periodā. Atbilstība novērtēta izmantojot anketas un pārbaudīta ar sākotnējām asins analīzēm.

Izslēgšanas kritēriji bija primārā hiperlipidēmija; diagnosticēta sirds un asinsvadu, endokrīnā (vairogdziedzera, virsnieru vai cukura diabēts), aknu vai hroniska nieru slimība; kuņģa-zarnu trakta operācija anamnēzē; hormonālas, imūnsupresīvas, lipīdu līmeni pazeminošas vai antihipertensīvas terapijas vai asins lipīdu vai asinsspiediena pazemināšanai paredzētu uztura bagātinātāju lietošana; zināma alerģija pret govs piena olbaltumvielām vai klīniski nozīmīga laktozes nepanesamība.

Sākotnējās anketās reģistrēta demogrāfiskā, antropometriskā, veselības, dzīvesveida, fizisko aktivitāšu un uztura informācija; ķermeņa masas indekss (ĶMI) un vidukļa-gurnu apkārtmēra attiecība aprēķināti no pašnovērtētiem mērījumiem.

No 1096 sievietēm, kuras piedalījās sākotnējā skrīningā, 62 pabeidza pirmsrandomizācijas procedūras un tika randomizētas (31 katrā grupā). Viena kontroles grupas dalībniece izstājās, galīgajā analīzē iekļauta 61 dalībniece (31

intervences un 30 kontroles grupā). Dalībnieču atlases un novērošanas posmi apkopoti 2. attēlā.

Randomizācija un sadalījums grupās. Pēc sākotnējā novērtējuma atbilstošās dalībnieces sadalītas grupās ar bloku randomizāciju. Sadalīšana notika pēc pirmsiekļaušanas sagatavota saraksta: katrai dalībniecei piešķirta nākamā neizmantotā pozīcija, un katrs bloks aizpildīts pirms nākamā bloka atvēršanas.

Intervences deva un ilgums. Intervences grupai bija jālieto 250 mL raudzēto paniņu katru dienu 28 dienas, saglabājot ierasto uzturu un dzīvesveidu. Uztura novērtējuma nolūkā 250 mL porcijai pieņemta nominālā masa 250 g. Aprēķinātā kopējo kvantitatīvi noteikto PL dienas deva bija 81.30 ± 1.95 mg ziemā un 69.73 ± 2.23 mg pavasarī (5. tabula). Kontroles grupai pētījuma laikā bija jāsaglabā ierastais uzturs un dzīvesveids.

Raudzētās paniņas dalībniecēm nodrošinātas visu intervences laiku. Dalībnieces bija aicinātas informēt par paniņu uzņemšanas regularitāti, grūtībām produkta lietošanā, nevēlamiem simptomiem vai būtiskām veselības stāvokļa izmaiņām.

Asins paraugu ņemšana un bioķīmiskās analīzes. Asins paraugi ņemti sākotnēji, pirms randomizācijas, un pēc 28 dienu intervences, un analizēti akreditētā klīniskajā laboratorijā SIA "Centrālā laboratorija" (Rīga, Latvija), izmantojot vienas un tās pašas procedūras. LDL-C bija primārais lipīdu iznākuma rādītājs; kopējais holesterīns (TC), augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns (HDL-C), triglicerīdi (TG), ne-augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns (non-HDL-C) un remnanta holesterīns bija sekundārie rādītāji. TC, LDL-C, HDL-C un TG noteikti ar enzimātiskām kolorimetriskām metodēm; non-HDL-C (TC - HDL-C) un remnanta holesterīnu aprēķināja laboratorija. Glikoze (heksokināzes metode) un alanīnaminotransferāze (ALAT; kinētiskā metode) noteiktas skrīninga atbalstam un vielmaiņas un aknu stāvokļa raksturošanai.

3. Uztura novērtējums, uzņemšanas aprēķins un statistiskā analīze

Uztura novērtējums. Visas 61 dalībnieces, kuras pabeidza pētījumu, aizpildīja daļēji kvantitatīvu pārtikas patēriņa biežuma anketu (FFQ), pētnieka vadītu 24 stundu atcerēšanās anketu (24-h recall) un 72 h uztura dienasgrāmatu. Katram instrumentam bija sava funkcija: FFQ raksturoja ierasto uzturu iepriekšējo 12 mēnešu laikā un bija vienīgais datu avots visiem analīzēs izmantotajiem uztura mainīgajiem, savukārt 24 stundu atcerēšanās anketa un 72 h dienasgrāmata izmantotas vienīgi FFQ atbilžu ticamības pārbaudei. FFQ izstrādāta, pamatojoties uz Latvijas nacionālā uztura pētījuma anketu (Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR", 2017). Tā aptvēra iepriekšējos 12 mēnešus un tika aizpildīta intervences laikā tiešsaistes intervijā ar pētnieka palīdzību. Uztura dati apstrādāti zinātniskajā institūtā BIOR,

izmantojot Latvijas pārtikas produktu sastāva datubāzi (Pārtikas un veterinārā dienesta Pārtikas centrs, 2009).

24 stundu atcerēšanās anketu pētnieks aizpildīja kopā ar dalībnieci pēc randomizācijas: dalībniece atcerējās visus iepriekšējās diennakts laikā lietotos produktus un dzērienus, un pētnieks precizēja produktus, jauktos ēdienus un porciju lielumus. 72 h uztura dienasgrāmata bija patstāvīgi aizpildīts trīs secīgu dienu ieraksts intervences laikā pēc 24 stundu anketas aizpildīšanas; šī diena 72 h periodā netika iekļauta. Porciju lieluma novērtēšanai izmantots pārtikas produktu un porciju atlants (Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR", 2018). Anketas un dienasgrāmatas ieraksti izmantoti FFQ atbilžu ticamības un iekšējās kontroles pārbaudei, neatbilstības precizējot ar dalībniecēm; šos patēriņa datus neapvienoja ar FFQ datiem un neizmantoja kā neatkarīgus analītiskos mainīgos. Intervences produkts uztura patēriņa aprēķinos netika iekļauts, jo FFQ raksturoja ierasto uzturu iepriekšējo 12 mēnešu laikā, bet 24 stundu atcerēšanās anketa un dienasgrāmata izmantotas tikai FFQ atbilžu pārbaudei. Ar intervences produktu uzņemtā PL deva aprēķināta atsevišķi pēc tā noteiktā sastāva (5. tabula) un rezultātu daļā salīdzināta ar ierasto uzņemšanu.

Piena polāro lipīdu daudzuma uzturā aprēķins. No FFQ iegūtais piena produktu patēriņš tika pārrēķināts piena ekvivalentā, izmantojot fiksētus, pētījumam specifiskus koeficientus (1. tabula), kas piemēroti abām sezonālajām kohortām (Fox et al., 2015; Walstra et al., 2005).

Piena produktu kategorijai *i* piena ekvivalenta uzņemšana aprēķināta šādi:

$$ME_i = D_i \times k_i, \quad (1)$$

kur:

ME_i - piena produktu kategorijas *i* uzņemšana piena ekvivalentā, g dienā;

D_i - no FFQ iegūtais piena produktu kategorijas *i* vidējais patēriņš dienā, g dienā;

k_i - produktam specifisks piena ekvivalenta pārrēķina koeficients, g piena ekvivalenta uz 1 g produkta (1. tabula).

Kopējo piena PL daudzums uzturā dienā aprēķināts šādi:

$$PL_{intake} = (\Sigma ME_i / 100) \times PL, \quad (2)$$

kur:

PL_{intake} - kopējo piena PL daudzums uzturā dienā, mg dienā;

ΣME_i - visu piena produktu kategoriju izteiktu piena ekvivalentā uzņemšana, g dienā;

PL - sezonai raksturīgā kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs svaigpienā, mg $100\ g^{-1}$ (3. tabula).

PC, PE un SM uzņemšana aprēķināta analogi, PL vietā izmantojot attiecīgā polārā lipīda saturu svaigpienā.

Ziemas kohortai (n = 23) piemēroti 2023. gada decembra svaigpiena sastāva dati, bet pavasara kohortai (n = 38) - 2024. gada maija dati. Kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs bija attiecīgi 27.89 un 20.12 mg 100 g^{-1} (3. tabula). Kohortas veidoja dažādas dalībnieces, katra pētījumā piedalījās vienu reizi. Iedalīšana kohortās noteikta pēc pētījuma grafika un sezonālo sastāva datu pieejamības.

Iegūtās uzņemtās PL vērtības modelētas no piena ekvivalentiem un svaigpiena sastāva, neņemot vērā PL mainīgumu piena pārstrādes laikā gala produktos. Ar uzturu uzņemto aprēķināja atsevišķi no intervences produkta nodrošinātās PL devas. Izmantotie piena ekvivalenta pārrēķina koeficienti piena produktiem apkopoti 1. tabulā.

Statistiskā analīze. Kvantitatīvie mainīgie apkopoti kā vidējā vērtība ± standartnovirze (SN), ja to sadalījums bija aptuveni normāls. Lielākajai daļai pārtikas produktu grupu patēriņa sadalījums bija labējā virzienā asimetrisks, tādēļ šie dati apkopoti kā mediāna ar pirmo un trešo kvartili (Q1; Q3) (7. tabula). Kvalitatīvie mainīgie apkopoti kā skaits un procenti; sadalījuma pieņēmumi pārbaudīti ar Šapiro-Vilka testu, histogrammām un kvantiļu-kvantiļu grafikiem.

Ķīmiskais sastāvs un kvantitatīvi noteikto PL saturs analizēts ar divfaktoru dispersijas analīzi (ANOVA), par fiksētiem faktoriem izmantojot produkta veidu, sezonu un to mijiedarbību; daļējais η^2 norādīts kā aprakstošs katra faktora izskaidrotās dispersijas daļas rādītājs. Ņemot vērā, ka katrā sezonā tika analizēta tikai viena pārstrādes partija, ANOVA atlikuma (kļūdas) dispersiju veidoja vienīgi paralēlo analītisko mērījumu izkliede, nevis partiju savstarpējā mainība; tādēļ ANOVA rezultāti ir izpētes rakstura un raksturo tikai analizētās partijas. PL klašu relatīvās proporcijas, PC/PE attiecība un intervencei izvēlēto raudzēto paniņu sastāvs raksturoti aprakstoši (vidējā vērtība ± SN), statistiskos testus nepiemērojot.

Neatkarīgas grupas salīdzinātas ar t-testu ar Velča korekciju nevienādām dispersijām, ja sadalījums bija aptuveni normāls, bet pārējos gadījumos (pārtikas produktu grupu patēriņš, 7. tabula) – ar Manna-Vitnija U testu; grupu sadalījums starp sezonālajām kohortām salīdzināts ar Fišera precīzo testu. Izmaiņas grupas ietvaros novērtētas ar saistīto izlašu t-testu un norādītas kā vidējās izmaiņas ar t sadalījuma 95 % ticamības intervālu (TI). Standartizētās atšķirības izteiktas kā Hedžesa g neatkarīgām grupām un kā g_z ar Hedžesa korekciju saistīto izlašu izmaiņām (Hedges, 1981); g absolūtās vērtības 0.20, 0.50 un 0.80 izmantotas kā aprakstoši atskaites punkti mazām, vidējām un lielām atšķirībām (Cohen, 1988). Izmaiņas grupas ietvaros neraksturo intervences starpgrupu efektu.

TC, LDL-C, HDL-C un TG koncentrācijai pēc intervences izveidoti atsevišķi mazāko kvadrātu lineārās regresijas modeļi, katrā iekļaujot attiecīgā rādītāja sākotnējo koncentrāciju, intervences grupu, sezonu un piena PL daudzumu uzturā, izteiktu naturālā logaritmā. Kopējo PL un atsevišķi PC, PE un SM uzņemšanu, kā arī grupas iedalījuma un ln-transformētās PL uzņemšanas mijiedarbība (grupa × ln(uzņemšana)) pārbaudīta atsevišķos modeļos. LDL-C bija primārais iznākuma rādītājs; pārējie lipīdu rādītāji bija sekundāri, bet klašu un mijiedarbības modeļi – izpētes rakstura. Testi bija divpusēji ar būtiskuma

līmeni $p < 0.05$; p-vērtību korekcija vairāku rādītāju vienlaicīgai testēšanai netika piemērota, tādēļ sekundāro un izpētes analīžu p-vērtības ir nekoriģētas. Analīzes veiktas programmā jamovi 2.6.

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Pētīto piena un piena produktu sastāvs

Ķīmiskais sastāvs. Svaigpiena un tā pārstrādes produktu ķīmiskais sastāvs ziemā un pavasarī parādīts 2. tabulā.

Produkta veids bija galvenais ķīmiskā sastāva variāciju avots. Tauku saturam bija visplašākais diapazons: krējumā vislielākais, vājpienā – vismazākais, bet paniņās pārgāja tikai 0.78-0.93 % piena tauku. Kopējās sausnas satura izmaiņas bija analogas tauku satura izmaiņu likumsakarībām, savukārt olbaltumvielu, laktozes un beztauku sausnas saturs vislielākais bija svaigpienā un vājpienā, kas atspoguļoja piena beztauku daļas un tauku fāzes sadalījumu separēšanas laikā: tauku lodītes koncentrējas krējumā, bet lielākā daļa beztauku sausnas sastāvdaļu koncentrējās vājpienā (Fox et al., 2015; Walstra et al., 2005). Paniņu sastāvs bija tuvs vājpiena sastāvam un atbilst saldkrējuma paniņu sastāva raksturojumam literatūrā (Sakkas et al., 2022). Atšķirības starp ziemu un pavasari analizētajos paraugos bija statistiski nozīmīgas visiem pieciem rādītājiem ($p < 0.001$): olbaltumvielu, laktozes un kopējās sausnas saturs svaigpienā un vājpienā, kā arī tauku un kopējās sausnas saturs krējumā ziemā bija lielāks, savukārt tauku saturs paniņās bija lielāks pavasarī. Mazais kopējais tauku saturs paniņās nenozīmē mazāku PL saturu. Sezonāli mainās tauku lodīšu izmēri, arī taukskābju ķīmiskais sastāvs, ietekmējot tauku kušanas un sacietēšanas temperatūras, un sviesta iznākumu un kvalitāti. Piena PL ir MFGM sastāvdaļa, kas krējuma kulšanas laikā membrānas fragmentu veidā pāriet paniņās (Sakkas et al., 2022; Venkat et al., 2024).

Polārie lipīdi. Kopējo kvantitatīvi noteikto PL, kā arī PC, PE un SM saturs pienā un piena produktos apkopots 3. tabulā.

Kopējo kvantitatīvi noteikto PL saturs bija vislielākais krējumā, tam sekoja paniņas, svaigpiens un vājpiens. Paniņās PL saturs bija 40-47 % no krējuma PL satura, lai gan tauku saturs bija 42-52 reizes mazāks. Šī likumsakarība apstiprina atziņu, ka kopējais tauku saturs nepietiekami raksturo piena PL saturu. Ievērojamais PL saturs paniņās atbilst MFGM materiāla pārdalei starp tauku un ūdens fāzēm krējuma nogatavināšanas un kulšanas laikā (Bourlieu et al., 2018; Calvo et al., 2020; Sakkas et al., 2022).

Analizētajās pārstrādes procesā iegūtajās piena produktu partijās bija novērojamas sezonālās atšķirības. Izpētes rakstura divfaktoru ANOVA parādīja, ka produkta veids statistiski nozīmīgi ietekmēja kopējo kvantitatīvi noteikto PL, PC, PE un SM saturu (visiem $p < 0.001$; daļējais $\eta^2 \geq 0.990$). Abās sezonās kopējo kvantitatīvi noteikto PL un individuālo lipīdu saturs samazinājās šādā secībā krējums > paniņas > svaigpiens > vājpiens (3. tabula). Kopējo kvantitatīvi

noteikto PL saturs no ziemas līdz pavasarim samazinājās svaigpienā, vājpienā un paniņās, savukārt krējumā praktiski nemainījās. Sezonas efekts bija statistiski nozīmīgs kopējiem kvantitatīvi noteiktajiem PL ($F(1, 8) = 30.41$, $p < 0.001$, daļējais $\eta^2 = 0.792$), PE ($F(1, 8) = 87.04$, $p < 0.001$, daļējais $\eta^2 = 0.916$) un SM ($F(1, 8) = 11.37$, $p = 0.010$, daļējais $\eta^2 = 0.587$), bet ne PC ($F(1, 8) = 2.25$, $p = 0.172$, daļējais $\eta^2 = 0.220$). Krējumā PC saturs palielinājās, bet PE – samazinājās, kas norāda uz polāro lipīdu pārdali starp kvantitatīvi noteiktajiem pārstāvjiem; produkta × sezonas mijiedarbība liecina, ka izmaiņas no ziemas līdz pavasarim dažādos produktos nebija vienādas. Produkta × sezonas mijiedarbība bija statistiski nozīmīga kopējiem kvantitatīvi noteiktajiem PL ($F(3, 8) = 5.84$, $p = 0.021$, daļējais $\eta^2 = 0.686$), PC ($F(3, 8) = 106.72$, $p < 0.001$, daļējais $\eta^2 = 0.976$), PE ($F(3, 8) = 15.66$, $p = 0.001$, daļējais $\eta^2 = 0.855$) un SM ($F(3, 8) = 7.60$, $p = 0.010$, daļējais $\eta^2 = 0.740$).

Polāro lipīdu pārstāvju relatīvais sadalījums. PC, PE un SM relatīvais sadalījums un PC/PE attiecība pienā un piena produktos apkopota 4. tabulā.

PC un PE bija galvenie kvantitatīvi noteiktie PL pārstāvji. Ziemā visos produktos dominēja PE. Pavasarī svaigpienā un krējumā PC īpatsvars pārsniedza PE, bet vājpienā to proporcijas bija līdzīgas. Paniņās abās sezonās PE bija dominējošais pārstāvis. PC/PE attiecība palielinājās svaigpienā, vājpienā un krējumā, visvairāk krējumā (no 0.74 līdz 1.02), savukārt sezonas ietekmē paniņās tā nedaudz samazinājās (no 0.92 līdz 0.89).

Vājpienā vislielākais relatīvais īpatsvars bija SM, bet krējumā – vismazākais, lai gan krējumā tika noteikts vislielākais SM saturs (3. un 4. tabula). Šī likumsakarība atbilst MFGM uzbūvei, polāro lipīdu izvietojumam un tā sadalījumam piena un tā produktu apstrādes laikā. SM un PC atrodas galvenokārt MFGM ārējā slānī (Venkat et al., 2024), savukārt separēšanas laikā krējumā nonāk galvenokārt lielas tauku lodītes, bet vājpienā paliek mazas tauku lodītes un membrānu fragmenti (Liu et al., 2017; Pan et al., 2023; Song et al., 2026). Viens no iespējamiem novērotās sakarības skaidrojumiem ir MFGM sastāvdaļu pārdale piena pārstrādes procesā, tomēr šis mehānisms konkrētajā pētījumā netika analizēts.

Tādējādi absolūtais PL saturs un relatīvās to proporcijas raksturo savstarpēji papildinošus piena polāro lipīdu sastāva aspektus.

2. Intervencei izvēlēto raudzēto paniņu analīze

Intervencei izvēlētas mazumtirdzniecībā pieejamas raudzētās paniņas "Baltais" (AS "Tukuma piens", Latvija) ņemot vērā to sastāvu, PL saturu, deklarēto tauku saturu, pienskābes baktēriju skaitu un regulāru produkta pieejamību mazumtirdzniecībā. Izvēles analīzē kopējais kvantitatīvi noteiktais PL saturs bija 30.18 ± 2.40 mg 100 g^{-1}; deklarētais tauku saturs 0.5 g 100 g^{-1}; sastāvā bija paniņas un pienskābes baktēriju ieraugs; mezofilo pienskābes baktēriju skaits bija $(1.07 \pm 0.03) \times 10^9$ KVV g^{-1}.

Ziemas un pavasara intervences periodos tika ņemti raudzēto paniņu paraugi un PL analizēti ar LC-MS/MS. Šie rezultāti izmantoti, lai aprēķinātu PL devu, ko nodrošina lietotā 250 mL intervences porcija dienā (5. tabula).

Dominējošie PL pārstāvji raudzētajās paniņās bija PC un PE. Aprēķinātā kopējo kvantitatīvi noteikto PL deva pavasarī bija par 14 % mazāka nekā ziemā, galvenokārt mazāka PC un SM satura dēļ, savukārt PE saturs saglabājās salīdzinoši stabils. Tādējādi vienāds dienā lietojamo raudzēto paniņu apjoms abos intervences periodos nodrošināja atšķirīgu PL sastāvu un saturu.

Izvēlētajā raudzētajā produktā kopējo kvantitatīvi noteikto PL bija par 37 % mazāk nekā piena un piena produktu sastāva pētījumā iegūtajās saldkrējuma paniņās. Šo atšķirību varēja ietekmēt izejvielas sastāva atšķirības, galvenokārt tauku satura normalizācijas dēļ. Šie rezultāti raksturo analizētos paraugus un neļauj vispārināt secinājumus par atšķirībām starp produktu zīmoliem vai sezonām.

3. Dalībnieces, to uzturs un piena polāro lipīdu daudzums uzturā

Dalībnieču raksturojums. Pētījumā iekļauta 61 sieviete perimenopauzē vecumā no 45 līdz 55 gadiem ar mēreni paaugstinātu LDL-C koncentrāciju (iekļaušanas kritērijs 3.01-4.12 mmol L^{-1}): 31 intervences grupā un 30 kontroles grupā. Ziemas kohortu veidoja 11 intervences un 12 kontroles grupas dalībnieces, bet pavasara kohortu – attiecīgi 20 un 18 dalībnieces; abas kohortas veidoja dažādas dalībnieces. Atsevišķi sākotnējie raksturlielumi apkopoti 6. tabulā.

Izvērtējot sākotnējos demogrāfiskos, antropometriskos un bioķīmiskos rādītājus, statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām netika konstatētas (6. tabula). Vidējā TC koncentrācija abās grupās bija vienāda, savukārt kontroles grupā bija skaitliski augstāka non-HDL-C (g = 0.31) un remnanta holesterīna (g = 0.34) koncentrācija un zemāka HDL-C koncentrācija (g = -0.30); šīs mazās līdz vidējās standartizētās atšķirības (g absolūtās vērtības 0.30-0.34) jāņem vērā, interpretējot 10. tabulā apkopotās izmaiņas grupas ietvaros. Statistiski nozīmīgu atšķirību neesamība nenozīmē pilnīgu grupu līdzvērtību. Abās grupās vidējā TC, LDL-C un non-HDL-C koncentrācija pārsniedza laboratorijas references robežvērtības, kas atbilst iekļaušanas kritērijiem, savukārt vidējā HDL-C, TG, remnanta holesterīna, glikozes un ALAT vērtība bija references intervālu robežās (6. tabula).

Uztura raksturojums. Atsevišķi no FFQ iegūtie pārtikas produktu, enerģijas un uzturvielu patēriņa rādītāji sniegti 7. un 8. tabulā.

Nevienā no izvērtētajām pārtikas produktu patēriņa grupām, tostarp piena un piena produktu, statistiski nozīmīgas atšķirības netika konstatētas. Tomēr kontroles grupā bija lielāka absolūtā ogļhidrātu, kopējo šķiedrvielu, šķīstošo šķiedrvielu un kopējo cukuru uzņemšana. Arī kopējā uzņemtā enerģija un

ogļhidrātu īpatsvars kontroles grupā bija skaitliski lielāks, taču šīs atšķirības nebija statistiski nozīmīgas.

Abās grupās vidējā ogļhidrātu un kopējo šķiedrvielu uzņemšana bija zem attiecīgajiem ieteicamajiem daudzumiem, savukārt kopējo tauku un piesātināto taukskābju (SFA) īpatsvars pārsniedza ieteicamās augšējās robežas. Vidējais olbaltumvielu, mononepiesātināto (MUFA) un polinepiesātināto taukskābju (PUFA) īpatsvars bija ieteicamo daudzumu robežās (Nordic Council of Ministers, 2023; Veselības ministrija, 2025).

Kopējie cukuri ietvēra gan dabīgi esošos cukurus augļos, ogās un piena produktos, gan cukurus saldinātos pārtikas produktos. Šīs vērtības nevar tieši salīdzināt ar ieteikumiem par pievienotajiem vai brīvajiem cukuriem uzturā. Lielāku kopējo cukuru uzņemšanu kontroles grupā nevajadzētu interpretēt kā mazāk labvēlīgu uztura modeli. Novērotās uztura atšķirības, īpaši kopējo un šķīstošo šķiedrvielu uzņemšanā, jāņem vērā interpretējot turpmākos plazmas lipīdu rezultātus.

Piena polāro lipīdu daudzums uzturā. Piena PL daudzums uzturā aprēķināts no FFQ iegūto piena produktu patēriņu pārrēķinot piena ekvivalentā un reizinot ar sezonai raksturīgo PL saturu svaigpienā. Rezultāti visai izlasei un neatkarīgajām ziemas un pavasara kohortām parādīti 9. tabulā.

Kopējais piena produktu patēriņš, izteikts piena ekvivalentā, ziemas un pavasara kohortās statistiski nozīmīgi neatšķīrās. Tomēr aprēķinātā kopējo PL, PE un SM uzņemšana ziemā bija būtiski lielāka. Standartizētās atšķirības bija vidējas PL un PE un vislielākās SM. Arī PC uzņemšana ziemā bija skaitliski lielāka, taču iegūtā atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Šie rezultāti atspoguļo sezonai raksturīgā svaigpiena PL sastāva izmaiņu ietekmi uzņemšanas datu aprēķinā.

No atsevišķām FFQ piena produktu kategorijām ziemā lielāko ieguldījumu deva vājpiena biezpiens un puscietais siers, kas veidoja attiecīgi 20.41 % un 11.05 % no aprēķinātās kopējo piena PL uzņemšanas. Pavasarī galvenās piena produktu kategorijas uzturā bija puscietais siers (12.66 %), vājpiena biezpiens (11.70 %) un mīkstais siers (10.78 %). Šie procenti raksturo katras kategorijas vidējo ieguldījumu attiecībā pret sezonas vidējo kopējo uzņemšanu, atšķirības starp kategorijām statistiski netika pārbaudītas.

Intervences porcija atbilda 31 % no vidējā piena PL daudzuma uzturā ziemā un 39 % pavasarī. Aprēķinātās vērtības raksturo piena ekvivalenta pārrēķina modeli, nevis tieši noteiktu PL uzņemšanu no katra patērētā piena produkta.

4. Plazmas lipīdu profils pēc 28 dienu intervences

Plazmas lipīdu izmaiņas intervences laikā. Plazmas lipīdu koncentrācija sākotnēji un pēc 28 dienām, kā arī izmaiņas grupas ietvaros apkopotas 10. tabulā.

Intervences grupā nevienam no pētītajiem lipīdu rādītājiem statistiski nozīmīgas izmaiņas grupas ietvaros netika konstatētas. Standartizētās izmaiņas

bija mazas (g_z absolūtās vērtības ≤ 0.19), un visu vidējo izmaiņu 95 % ticamības intervāli ietvēra nulli, t.i., izmaiņas nebija statistiski nozīmīgas.

Kontroles grupā TC, LDL-C, non-HDL-C un HDL-C koncentrācija statistiski nozīmīgi samazinājās, savukārt remnanta holesterīna un TG koncentrācijai statistiski nozīmīgas izmaiņas netika konstatētas. LDL-C bija primārais iznākuma rādītājs. p-vērtību korekcija vairāku rādītāju vienlaicīgai testēšanai netika piemērota, tādēļ sekundāro rādītāju p-vērtības ir nekoriģētas un HDL-C rezultāts interpretējams kā izpētes rakstura.

Šie rezultāti norāda uz iespējamām izmaiņām, reaģējot uz pārtikas produktu balstītu intervenci ar salīdzinoši mazu PL devu un īsu norises laiku. Kontroles grupas izmaiņas varēja ietekmēt dabiskās lipīdu koncentrācijas svārstības laikā, atšķirīga individuālā reakcija un uztura atšķirības, taču to cēloņus no šiem datiem noteikt nevar.

Koriģētie plazmas lipīdu koncentrācijas modeļi. Katram lipīdu rādītājam izveidots atsevišķs lineārās regresijas modelis, kurā iekļauta šā rādītāja sākotnējā koncentrācija, iedalījums intervences vai kontroles grupā, sezona un logaritmētais (ln) kopējo piena PL daudzums uzturā. Salīdzināšanas pamats (references kategorijas) bija kontroles grupa un ziemas sezona; p-vērtību korekcija vairāku rādītāju vienlaicīgai testēšanai netika piemērota. Regresijas koeficienti (β) ir nestandartizēti un izteikti mmol L^{-1} uz prognozējošā mainīgā vienību.

Attiecīgā rādītāja sākotnējā koncentrācija visos modeļos bija ar 28. dienas koncentrāciju visciešāk saistītais mainīgais (β = 0.61-0.77, visiem $p < 0.001$). Pēc koriģēšanas intervences grupā 28. dienā bija augstāka TC (β = 0.485, 95 % TI 0.023-0.948, p = 0.040) un LDL-C (β = 0.330, 95 % TI 0.024-0.636, p = 0.035) koncentrācija nekā kontroles grupā, savukārt iedalījums grupā nebija saistīts ar HDL-C (p = 0.143) vai TG (p = 0.468). Šīs starpgrupu atšķirības jāvērtē kopā ar izmaiņām grupas ietvaros (10. tabula), un tās neapstiprina, ka raudzētas paniņas paaugstināja TC vai LDL-C koncentrāciju salīdzinājumā ar sākotnējo.

Sezona nebija statistiski nozīmīga nevienam rādītājam ($p \geq 0.449$). Lielāks kopējo piena PL daudzums uzturā bija pozitīvi saistīts ar HDL-C (β = 0.059, 95 % TI 0.020-0.099, p = 0.004) un TG (β = 0.067, 95 % TI 0.014-0.119, p = 0.014) koncentrāciju 28. dienā. Izpētes rakstura modeļi PC, PE un SM uzrādīja analogu likumsakarību, un grupas × ln (kopējo PL uzņemšana) mijiedarbība nevienam rādītājam nesasniedza statistisko nozīmību ($p \geq 0.169$). Šīs uzņemšanas saistības ir izpētes rakstura un nepierāda piena PL cēloņsakarīgu vai holesterīna līmeni pazeminošu iedarbību.

5. Pētījuma stiprās puses un ierobežojumi

Promocijas darba stiprā puse ir integrētais dizains, kurā pārtikas produktu sastāva analīze, uztura novērtējums un randomizēta kontrolēta intervence pētītas kā savstarpēji saistītas sastāvdaļas. Svaigpiens un tā pārstrādes produkti, kas iegūti vienā pārstrādes procesā, analizēti ziemas un pavasara sezonās.

Intervences produkts raksturots analītiski, tāpēc izvēlētā PL dienas deva balstās uz noteikto sezonai raksturīgo saturu. Savukārt klīniskajā daļā izzināta maz pētīta grupa ar iepriekšnoteiktiem atbilstības kritērijiem, veicot pilotpētījumu un klīnisko pētījumu, izmantojot vienas akreditētas laboratorijas pakalpojumus un izzinot 61 dalībnieces datus. PL daudzums uzturā nošķirts no dalībnieču dalījuma intervences grupā, modeļos iekļautas sākotnējās koncentrācijas un sastāva rezultāti nav interpretējami kā apgalvojumi par iedarbību.

Galvenie darba ierobežojumi ir viena piena pārstrādes partija katrā sezonā, svaigpiens iegūts no viena piena pārstrādes uzņēmuma, divas neatkarīgas sezonālās kohortas atkārtotu mērījumu vietā, PL uzņemšanas aprēķinu atkarība no FFQ aizpildīšanas precizitātes un piena ekvivalenta izmantošana, nevis tieša PL noteikšana, grupu iedalījums bija zināms dalībniecēm un pētniekiem (pētījums nebija akls) un netika izmantots placebo, ierobežota statistiskā jauda apakšgrupu un mijiedarbības analīzēm, 28 dienu pētījuma ilgums, iespējama citu jaucējfaktoru ietekme sadzīves apstākļos un ĶMI neiekļaušana regresijas modeļos. Uz PL uzņemšanu balstītā analīze ir asociatīva un nepierāda cēloņsakarības.

SECINĀJUMI

1. Polāro lipīdu saturu piena produktos nosaka piena pārstrādes procesu ietekmēta tauku lodīšu membrānas stabilitāte, apstiprinot, ka kopējais tauku saturs nevar pietiekami raksturot polāro lipīdu saturu pienā un piena produktos.
2. Kvantitatīvi noteikto polāro lipīdu satura sezonālās izmaiņas ir atkarīgas no produkta veida; produkta × sezonas mijiedarbība ir statistiski nozīmīga kopējiem kvantitatīvi noteiktajiem polārajiem lipīdiem ($p = 0.021$), fosfatidilholīnam ($p < 0.001$), fosfatidiletanolamīnam ($p = 0.001$) un sfingomielīnam ($p = 0.010$).
3. Intervencē izmantotās mazumtirdzniecībā iegādājamās raudzētās paniņas saturēja 27.89-32.52 mg 100 g^{-1} kopējo polāro lipīdu, nodrošinot intervences porcijā (250 mL) 70-81 mg polāro lipīdu dienā jeb vienu trešdaļu no piena polāro lipīdu daudzuma uzturā.
4. Raudzētu paniņu lietošana 28 dienas intervences grupai neapstiprināja statistiski nozīmīgas kopējā holesterīna, zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna, augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīna, kopējā aterogēno lipoproteīnu holesterīna, remnanta holesterīna vai triglicerīdu koncentrācijas izmaiņas grupas ietvaros. Pētītajos apstākļos lipīdu līmeni pazemināja iedarbība netika pierādīta.
5. Kopējais piena produktu patēriņš, izteikts piena ekvivalentā, ziemā un pavasarī neatšķīrās, savukārt aprēķinātais piena polāro lipīdu daudzums uzturā ziemā bija būtiski lielāks nekā pavasarī (kopējie polārie lipīdi $p = 0.041$, Hedžesa $g = 0.62$; fosfatidiletanolamīns $p = 0.024$, Hedžesa $g = 0.70$; sfingomielīns $p = 0.006$, Hedžesa $g = 0.89$).

6. Piena polāro lipīdu daudzums uzturā ir atkarīgs no piena produktu izvēles un sezonai raksturīgā produktu sastāva, nevis no kopējā piena produktu patēriņa.
7. Lielāks piena polāro lipīdu daudzums uzturā bija saistīts ar augstāku augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīna ($\beta = 0.059$, $p = 0.004$) un triglicerīdu ($\beta = 0.067$, $p = 0.014$) koncentrāciju pēc intervences, bet ne ar primāro iznākuma rādītāju – zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna koncentrāciju.
8. Pētījuma hipotēze ir apstiprināta daļēji. Pētītajos piena un piena produktos analizētajās ziemas un pavasara sezonās konstatētas polāro lipīdu satura un sastāva relatīvā sadalījuma atšķirības. 28 dienu raudzētu paniņu intervence lipīdu līmeni pazeminošu iedarbību nepierādīja. Saistības starp aprēķināto piena polāro lipīdu daudzumu uzturā un atsevišķiem plazmas lipīdu rādītājiem bija izpētes rakstura un neapstiprināja polāro lipīdu uzņemšanas cēloņsakarīgu ietekmi.

REFERENCES / LITERATŪRAS AVOTI

1. Anto, L., Warykas, S. W., Torres-Gonzalez, M., & Blesso, C. N. (2020). Milk polar lipids: Underappreciated lipids with emerging health benefits. *Nutrients*, *12*(4), 1001. https://doi.org/10.3390/nu12041001
2. Bourlieu, C., Cheillan, D., Blot, M., Daira, P., Trauchessec, M., Ruet, S., Gassi, J.-Y., Beaucher, E., Robert, B., Leconte, N., Bouhallab, S., Gaucheron, F., Gésan-Guiziou, G., & Michalski, M.-C. (2018). Polar lipid composition of bioactive dairy co-products buttermilk and butterserum: Emphasis on sphingolipid and ceramide isoforms. *Food Chemistry*, *240*, 67–74. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.091
3. Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). "Bligh and Dyer" and Folch methods for solid–liquid–liquid extraction of lipids from microorganisms: Comprehension of solvatation mechanisms and towards substitution with alternative solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(4), 708. https://doi.org/10.3390/ijms18040708
4. Bruno, R. S., Pokala, A., Torres-Gonzalez, M., & Blesso, C. N. (2021). Cardiometabolic health benefits of dairy-milk polar lipids. *Nutrition Reviews*, *79*(Suppl 2), 16–35. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab085
5. Calvo, M. V., Martín-Hernández, M. C., García-Serrano, A., Castro-Gómez, M. P., Alonso-Miravalles, L., García-Martín, R., Megino-Tello, J., Alonso, L., & Fontecha, J. (2020). Comprehensive characterization of neutral and polar lipids of buttermilk from different sources and its milk fat globule membrane isolates. *Journal of Food Composition and Analysis*, *86*, 103386. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103386

6. Cohen, J. (1988). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd edn). Lawrence Erlbaum Associates.
7. Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2
8. Hedges, L. V. (1981). Distribution Theory for Glass's Estimator of Effect size and Related Estimators. *Journal of Educational Statistics*, *6*(2), 107–128. https://doi.org/10.3102/10769986006002107
9. Hokkanen, S. P., Partanen, R., Jukkola, A., Frey, A. D., & Rojas, O. J. (2021). Partitioning of the milk fat globule membrane between buttermilk and butter serum is determined by the thermal behaviour of the fat globules. *International Dairy Journal*, *112*, 104863. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104863
10. Le Barz, M., Vors, C., Combe, E., Joumard-Cubizolles, L., Lecomte, M., Joffre, F., Trauchessec, M., Pesenti, S., Loizon, E., Breyton, A.-E., Meugnier, E., Bertrand, K., Drai, J., Robert, C., Durand, A., Cuerq, C., Gaborit, P., Leconte, N., Bernalier-Donadille, A., … Michalski, M.-C. (2021). Milk polar lipids favorably alter circulating and intestinal ceramide and sphingomyelin species in postmenopausal women. *JCI Insight*, *6*(10), e146161. https://doi.org/10.1172/jci.insight.146161
11. Liu, Z., Li, C., Pryce, J., & Rochfort, S. (2020). Comprehensive characterization of bovine milk lipids: Phospholipids, sphingolipids, glycolipids, and ceramides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(24), 6726–6738. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01604
12. Liu, Z., Logan, A., Cocks, B. G., & Rochfort, S. (2017). Seasonal variation of polar lipid content in bovine milk. *Food Chemistry*, *237*, 865–869. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.038
13. Liu, Z., Moate, P., Cocks, B., & Rochfort, S. (2015). Comprehensive polar lipid identification and quantification in milk by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, *978–979*, 95–102. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.11.036
14. Ministru kabinets. (2011). *Noteikumi par klasifikācijas, kvalitātes un marķējuma prasībām piena produktiem un saliktiem piena produktiem [Rules on classification, quality and labelling requirements for milk products and composite milk products] (Ministru kabineta noteikumi Nr. 97)*. Likumi.lv. Retrieved 18 January 2025, from https://likumi.lv/doc.php?id=225278
15. Nordic Council of Ministers. (2023). *Nordic Nutrition Recommendations 2023*. Retrieved 21 November 2024, from https://pub.norden.org/nord2023-003/
16. Pan, Z., Ye, A., Fraser, K., Li, S., Dave, A., & Singh, H. (2023). Comparative lipidomics analysis of different-sized fat globules in sheep

and cow milks. *Current Research in Food Science*, *8*, 100655. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100655

17. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR". (2017). Latvian National Dietary Survey on the general population. *EFSA Supporting Publications*, *14*(11), 1307E. https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1307
18. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR". (2018). *Pārtikas produktu un pārtikas porciju foto atlants [Photo atlas of food products and food portions]*. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR".
19. Pārtikas un veterinārā dienesta Pārtikas centrs. (2009). *Pārtikas sastāva datubāze [Latvian Food Composition Database]*. Pārtikas un veterinārais dienests. Retrieved 6 August 2026, from https://partikasdb.lv/partikas-sastava-datubaze/
20. Pokala, A., Quarles, W. R., Ortega-Anaya, J., Jimenez-Flores, R., Cao, S., Zeng, M., Hodges, J. K., & Bruno, R. S. (2023). Milk-fat-globule-membrane-enriched dairy milk compared with a soy-lecithin-enriched beverage did not adversely affect endotoxemia or biomarkers of gut barrier function and cardiometabolic risk in adults with metabolic syndrome: A randomized controlled crossover trial. *Nutrients*, *15*(14), 3259. https://doi.org/10.3390/nu15143259
21. Rombaut, R., Camp, J. V., & Dewettinck, K. (2005). Analysis of phospho- and sphingolipids in dairy products by a new HPLC method. *Journal of Dairy Science*, *88*(2), 482–488. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72710-7
22. Sakkas, L., Evageliou, V., Igoumenidis, P. E., & Moatsou, G. (2022). Properties of sweet buttermilk released from the churning of cream separated from sheep or cow milk or sheep cheese whey: Effect of heat treatment and storage of cream. *Foods*, *11*(3), 465. https://doi.org/10.3390/foods11030465
23. Song, B., Yin, W., Tao, X., Liu, D., Zhang, L., Duan, S., Zhang, Y., Regenstein, J. M., Liu, X., He, J., & Zhou, P. (2026). Changes in polar lipids during preparation of milk fat globule membrane enriched ingredients from raw bovine milk: Insights based on 4D lipidomics and ganglioside mass spectrometry. *Food Chemistry*, *509*, 148565. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2026.148565
24. Venkat, M., Chia, L. W., & Lambers, T. T. (2024). Milk polar lipids composition and functionality: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *64*(1), 31–75. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2104211
25. Veselības ministrija. (2025). *Ieteicamās enerģijas un uzturvielu devas Latvijas iedzīvotājiem [Recommended energy and nutrient intakes for the Latvian population]*. Veselības ministrija. Retrieved 23 June 2026, from https://www.vm.gov.lv/lv/media/16193/download?attachment

26. Viechtbauer, W., Smits, L., Kotz, D., Budé, L., Spigt, M., Serroyen, J., & Crutzen, R. (2015). A simple formula for the calculation of sample size in pilot studies. *Journal of Clinical Epidemiology*, *68*(11), 1375–1379. https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2015.04.014
27. Vors, C., Joumard-Cubizolles, L., Lecomte, M., Combe, E., Ouchchane, L., Drai, J., Raynal, K., Joffre, F., Meiller, L., Le Barz, M., Gaborit, P., Caille, A., Sothier, M., Domingues-Faria, C., Blot, A., Wauquier, A., Blond, E., Sauvinet, V., Gésan-Guiziou, G., … Michalski, M.-C. (2020). Milk polar lipids reduce lipid cardiovascular risk factors in overweight postmenopausal women: Towards a gut sphingomyelin-cholesterol interplay. *Gut*, *69*(3), 487–501. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-318155
28. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy Science and Technology* (2nd edn). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781420028010