

بررسی اثر مکمل غذایی روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بر تولید و ترکیبات شیر گاو

دکتر مسعود حقیقی^{۱*}، دکتر مسعود امیدی^۲، دکتر ارمغان دیانی دردشتی^۲، دکتر حسینعلی خوشباور رستمی^۱، مهندس علی سلمانی^۱

دریافت مقاله: ۲ اسفندماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۲ تیرماه ۱۳۸۴

Study on the Effects of Fish Oil Supplementation to Dairy Cow on Composition and Milk Yield

Haghighi, M.¹, Omid, M.², Dayani Dardashti, A.², Khoshbavar, H.¹, Salmani, A.¹

¹Agriculture Research and Education Organization, Fishes Coldwater Research Center, Tonekabon-Mazandaran-Iran. ²Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

Objective: To modify yield of milk fat and to improve fatty acids profile of milk fat with supplementation of the diet with fish oil enrich in omega-3 fatty acids, especially, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA).

Design: Clinical trial.

Animals: Ten dairy cows (treatment group, n=5 and control group, n=5).

Procedure: Different amounts of fish oil were fed to the treatment group for one or two weeks: 100ml/cow/day for two weeks, 300 and 500ml/cow/day each for one week.

Statistical analysis: Data were compared between groups using unpaired t-test at $p < 0.05$.

Results: Feeding fish oil depressed milk fat percent. The concentrations of milk protein and dry matter, however, remained unchanged. The concentrations of unsaturated fatty acids increased but those of saturated fatty acids decreased.

Clinical implications: Supplementation of cow's diet with fish oil may modify milk fat yield and may improve the quality of milk fatty acids. This may increase per capita consumption of milk and its products. *J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,1:71-76,2006.*

Keywords: Omega-3 fatty acids, EPA, DHA, fish oil, cow's milk.

Corresponding author's email: masoud126@yahoo.com

هدف: بهبود کیفی اسیدهای چرب شیر از طریق مکمل غذایی روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ (خصوصاً EPA و DHA) در جیره غذایی گاوهای شیری. طرح: کارآزمایی بالینی.

حیوانات: ۱۰ رأس گاوشیری (۵ رأس در گروه آزمایش و ۵ رأس در گروه کنترل).

روش: خوراندن مقادیر مختلف روغن ماهی (به ترتیب در هفته‌های اول و دوم میزان ۱۰۰ میلی لیتر، در هفته سوم ۳۰۰ میلی لیتر و در هفته چهارم ۵۰۰ میلی لیتر در روز به ازای هر رأس گاو) حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند امگا-۳ خصوصاً دواسید چرب ایکوزاپنتانویک اسید (EPA, eicosapentaenoic) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA, docosahexaenoic acid) به همراه جیره غذایی پایه در دو گروه شامل (۱) گروه تیمار با روغن ماهی (۲) گروه کنترل.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های خام با برنامه نرم افزاری Instat بررسی شد. برای مقایسه تغییرات میزان در صد چربی، پروتئین، ماده خشک، شیر تولیدی و اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع شیر دو گروه از گاوها در هفته‌های یکسان از آزمون نمونه‌های مستقل unpaired t test استفاده شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که مقادیر بالای ۱۰۰ میلی لیتر روغن ماهی میزان در صد چربی شیر را کاهش داد ولی تأثیری بر میزان پروتئین و ماده خشک شیر و نیز میانگین شیر تولید شده نداشتند. بعلاوه اینکه موجب بهبود کیفی پروفایل اسیدهای چرب شیر گاوهای گروه تیمار با روغن ماهی در مقایسه با شیر گاوهای گروه کنترل گردید. در این ارتباط در صد اسیدهای چرب غیر اشباع شیر افزایش و در صد اسیدهای چرب اشباع شیر کاهش نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و یافته‌های دیگر محققین می‌توان بیان داشت که وجود ترکیبات روغن ماهی خصوصاً اسیدهای چرب EPA و DHA در جیره غذایی گاوهای شیری جهت بهبود کیفی اسیدهای چرب شیر ضروری باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۱، ۷۶-۷۱.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب امگا-۳، EPA، DHA، روغن ماهی، شیر گاو.

۷، ۸). همچنین فواید این نوع اسیدهای چرب در کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی (۲۰، ۱۸) و تعدیل اختلالات التهابی نشان داده شده است (۲۰). مصرف روزانه اسیدهای چرب امگا-۳ در اکثر کشورهای توسعه یافته کمتر از حد برآورد شده است (۲۱، ۲۲). از اینرو، انواع مختلفی از روغن‌های گیاهی و مواد لبنی سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند و نه صرفاً اسیدهای چرب امگا-۳ وارد بازار غذایی بعضی از این کشورها شده است. اخیراً نیز کارخانجات سازنده غذای کودک اقداماتی در جهت افزودن روغن ماهی و یا اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند خاص، به غذای کودک انجام داده‌اند (۱۷). افزودن ۳۵ / ۰

چند دهه‌ای است که اهمیت اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند امگا-۳ (Long Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid; n-3 LC-PUFA) شامل EPA و DHA در سلامت و رشد جنین انسان مشخص شده است. اسیدهای چرب امگا-۳ جهت تکامل دقیق بخش خاکستری مغز، سیستم اعصاب و غشاء سلول‌های شبکه‌ی چشم در جنین و نوزادان ضروری می‌باشد (۱۲).

۱) سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی مازندران، تنکابن - ایران.
۲) دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
* نویسنده مسؤول: masoud126@yahoo.com



جدول ۱-

اجزای جیره غذایی گاوها	As fed (کیلوگرم)	درصد	ماده خشک (کیلوگرم)	درصد
کنسانتره: آرد جو ۴۷ درصد، سبوس گندم ۳۱ درصد، کنجاله سویا ۱۸ درصد، مکمل دکلی وت ۲ درصد، جوش شیرین ۱ درصد، و نمک ۱ درصد	۸	۴۰	۷/۲	۴۰
یونجه خشک	۸	۴۰	۷/۲	۴۰
تفاله چغندر	۱	۵	۰/۹	۵
کلش	۳	۱۵	۲/۷	۱۵
جمع	۲۰	۱۰۰	۱۸	۱۰۰

آزمایشات به ترتیب در هفته های اول تا چهارم روزانه ۱۰۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی لیتر روغن ماهی (حاوی بیش از ۲۶ درصد DHA و ۸ درصد EPA)، بوسیله بطری و توسط فردی مسئول پس از شیر دوشی نوبت غروب به گاوها خوراندند. در پایان هر هفته نمونه شیر هر رأس گاو در هر دو گروه توسط فردی مسئول در بطری های پلاستیکی ۵۰ میلی لیتری مخصوص ریخته می شدند. این بطری ها دارای رمز ناگشوده برای کارشناسان آزمایشگاه بودند. نمونه شیرهای اخذ شده در درجه حرارت ۴°C نگهداری می شدند و صبح بعد برای انجام آزمایش های مربوطه به آزمایشگاه های مربوطه منتقل می شدند. در طول مدت آزمایش چهار هفته ای و نیز یک هفته قبل از شروع آزمایشات هر روز مقدار متوسط شیر تولیدی دو گروه بطور مجزا اندازه گیری و ثبت شده و در پایان هر هفته باهم مقایسه شدند.

روش اندازه گیری در صد چربی، پروتئین، ماده خشک و اسیدهای چرب

شیر: در این تحقیق برای اندازه گیری درصد چربی شیر خام از روش ژربر (Gerber)، برای اندازه گیری درصد پروتئین شیر خام از روش تیتراسیون فرمل (Formol Titration)، و برای اندازه گیری ماده خشک از روش تبخیر استفاده شد (۱). از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Varian 3400 برای تشخیص و اندازه گیری اسیدهای چرب شیر استفاده شد این دستگاه مجهز به ستون DB-33 (۳۰ متر طول ستون، با قطر خارجی ۰/۳۲ میلیمتر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر)، درجه حرارت ستون ایزو ترمال در ۲۰۰°C، دمای تزریق ۲۵۰°C، دمای ردیاب ۲۵۰°C، ردیاب یونش شعله ای، گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹، گاز سوخت هیدروژن، و نرخ جریان ۵۰ میلی لیتر بر دقیقه بود.

اسیدهای چرب به صورت آزاد به مقدار بسیار ناچیزی در سلول ها و بافت ها وجود دارند که برای جدا سازی آنها از ترکیب لیپیدی از عمل هیدرولیز استفاده شد و برای تشخیص و اندازه گیری اسیدهای چرب از روش گاز کروماتوگرافی (GC) استفاده گردید که در این روش ابتدا اسیدهای چرب به وسیله الکل (متانول) استریفیکه شد و به صورت استرهای متیل در آمد (۲). برای اندازه گیری اسیدهای چرب میزان ۰/۸ میکرو لیتر از استر متیل در ستون دستگاه تزریق شد و با عبور دادن گاز بی اثر هلیوم و حرارت دادن تدریجی ستون استرهای متیله اسیدهای چرب به صورت بخار در آمدند. این بخارات در انتهای ستون بوسیله ردیاب یونش شعله ای و بر اساس خاصیت یونیزه شدن گازها در حرارت زیاد به

درصد DHA به غذای کودک جهت تأمین نیاز کودکان کفایت می کند (به عبارت دیگر ۳۵ میلیگرم در روز). میزان نیاز روزانه افراد بالغ به EPA و DHA، ۶۵۰ میلی گرم برآورد شده است (۲۳). اقداماتی از این قبیل می تواند تقاضای مصرف شیر حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند، خصوصاً EPA و DHA را افزایش دهند. الحاق EPA و DHA به جیره غذایی نشخوارکنندگان شیرواری می تواند به عنوان یک مکانیسم تسهیلی جهت پیشبرد این نوع اقدامات مدنظر قرار گیرد. اسیدهای چرب به وسیله غده پستان و علاوه از مواد هضم شده و متابولیت های غذایی در بدن ساخته می شود (۱۱). شواهدی وجود دارند که نشان می دهند تغذیه گاوهای شیری با روغن ماهی حاوی اسیدهای چرب EPA و DHA موجب انتقال این مواد به شیر گاو شده است (۵). همچنین روغن ماهی موجب افزایش دانسیته انرژی جیره غذایی گردید (۱۳). و نیز روغن ماهی موجب بهبود کیفی اسیدهای چرب شیر به نفع اسیدهای چرب غیر اشباع مفید برای سلامت انسان شده است (۱۰، ۶).

مواد و روش کار

در این تحقیق از روغن ماهی کیلکای دریای خزر شامل کیلکا معمولی (*Clupeonella delicatula*)، کیلکا آنچوی (*engrauliformis*)، *Clupeonella* و کیلکا چشم درشت (*Clupeonella grimmii*) استفاده شد که این روغن با مواد هیدروکسید سدیم، متانول، تری فلورید بور، هگزان، کلرید سدیم، سولفات سدیم همگی از شرکت مرک آلمان تصفیه، خنثی سازی و رنگبری شد (۲). برای تشخیص و اندازه گیری اسیدهای چرب از روش گاز کروماتوگرافی (GC) استفاده گردید.

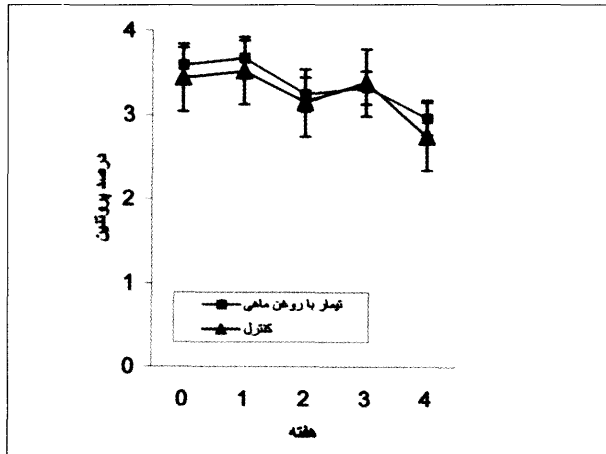
روش نمونه گیری دامها و نوع تغذیه: در این تحقیق از ۱۰ رأس گاو شیری نژاد

هلستاین که در سومین ماه از دوره شیرواری بودند استفاده شد. این ۱۰ رأس گاو در دو گروه ۵ رأسی شامل ۱) گروه تیمار با روغن ماهی (۲) گروه کنترل (بدون روغن ماهی) قرار داده شدند. محدوده وزنی ۱۰ رأس گاو ۶۰۰-۴۶۰ کیلوگرم با میانگین وزنی ۵۳۴ کیلوگرم بود که اختلاف معنی دار بین دو گروه از گاوها وجود نداشت (p > ۰/۰۵). برای انجام آزمایش گاوها بصورت تصادفی در دو گروه ذکر شده در بالا دسته بندی شدند. گاوهای مورد مطالعه از یک هفته قبل از شروع آزمایش و نیز در طول چهار هفته آزمایش با جیره غذایی پایه (یونجه خشک، تفاله چغندر قند، کلش و کنسانتره مجموعاً به میزان ۲۰ کیلوگرم در روز به ازای هر رأس گاو) به صورت as fed (۹۰ درصد ماده خشک) تغذیه شدند (جدول ۱). روند خوراک دهی به گاوها در سه نوبت صبح و ظهر و غروب و به ترتیب به صورت کنسانتره، یونجه، تفاله چغندر قند و کلش در نوبت صبح (بعد از شیر دوشی)، یونجه، تفاله چغندر قند و کلش در نوبت ظهر و کنسانتره در نوبت غروب (بعد از شیر دوشی) انجام گرفت.

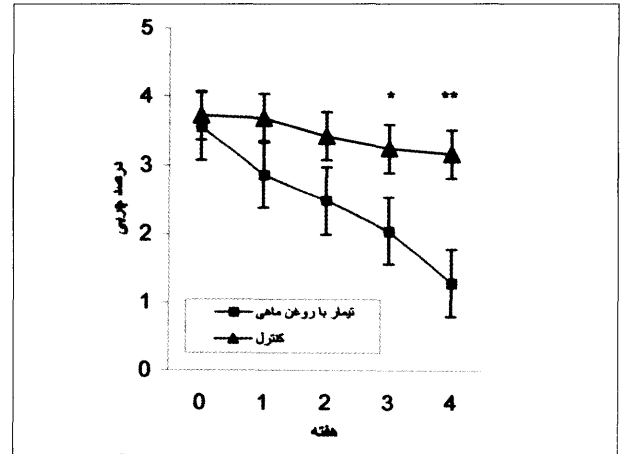
روش نمونه گیری شیر دامها: قبل از شروع آزمایشات نمونه شیر گاوهای دو

گروه جهت اندازه گیری میزان درصد چربی، پروتئین، ماده خشک، اسیدیته و اسیدهای چرب به آزمایشگاه ارسال شد. همچنین در این مطالعه بطور شبانه روزی میزان متوسط شیر تولیدی هر یک از گروهها اندازه گیری شد. با شروع





نمودار ۲- مقایسه درصد پروتئین تام شیر دو گروه گاو در هفته‌های یکسان. (نمودارهای ۱-۴)، $p > 0.05$.



نمودار ۱- مقایسه درصد چربی تام شیر دو گروه گاو در هفته‌های یکسان. علامت ستاره اختلاف معنی دار بین دو گروه در هفته‌های یکسان را نشان می‌دهند. $p > 0.05$ و $p > 0.01$ **

صورت نوارهای جذبی ترسیم شدند. زمان بین تزریق و ظهور نوار جذبی معرف نوع اسید چرب و سطح زیر منحنی هر یک از این نوارها معرف میزان آن نوع اسید چرب می‌باشد. برای اندازه‌گیری میزان درصد اسیدهای چرب از زمان بازداری آنها استفاده شد.

روش جمع آوری داده‌ها و تجزیه و تحلیل آماری: در پایان هر هفته نتایج مربوط به آزمایش نمونه شیرهای ارسالی به آزمایشگاه‌ها جمع آوری می‌شدند. در پایان هفته چهارم تجزیه و تحلیل آماری با توجه به جمع آوری کلیه داده‌های خام با برنامه نرم افزاری InStat صورت گرفت. برای مقایسه تغییرات درصد چربی، پروتئین، ماده خشک و اسیدهای چرب شیر در پایان هفته‌های یکسان در دو گروه از آزمون نمونه‌های مستقل unpaired t test استفاده شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

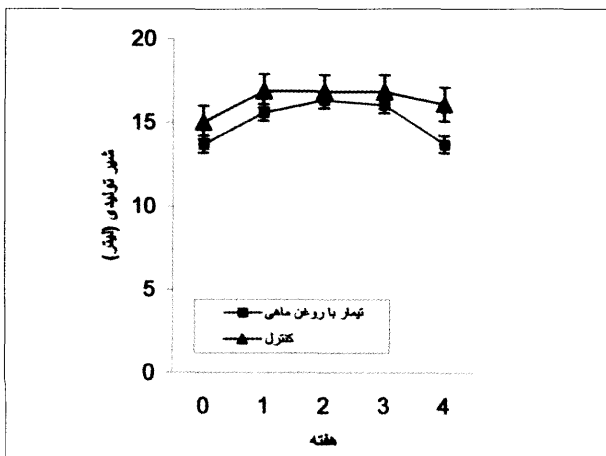
نتایج

نتایج بدست آمده در این تحقیق عبارت بودند از:

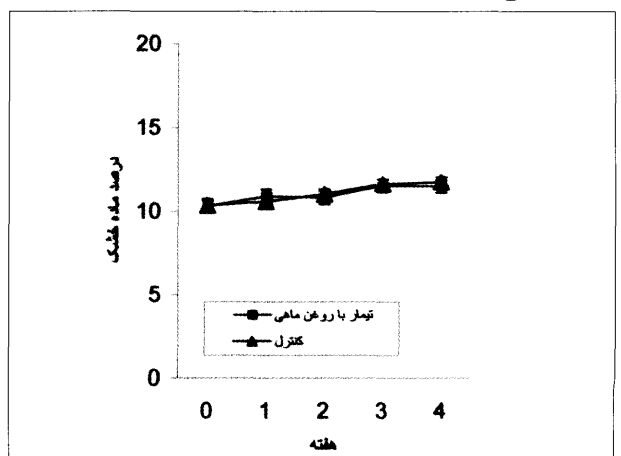
الف- در مقایسه درصد چربی، پروتئین، ماده خشک و میزان شیر تولید شده بین دو گروه از گاوها در روز صفر (قبل از خوردن روغن ماهی به گاوها) هیچ اختلاف معنی دار وجود نداشت (به ترتیب، $p = 0.76$ ، $p = 0.96$ ، $p = 0.12$ ، $p = 0.76$).

بحث و نتیجه‌گیری

محققین امیدوارند که بتوان با افزودن روغن ماهی به جیره غذایی گاوهای

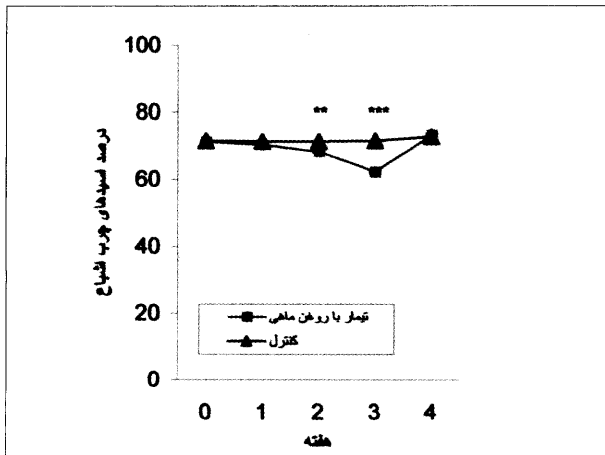


نمودار ۴- مقایسه میانگین شیر تولیدی دو گروه گاو در هفته‌های یکسان.



نمودار ۳- مقایسه درصد ماده خشک شیر دو گروه گاو در هفته‌های یکسان.



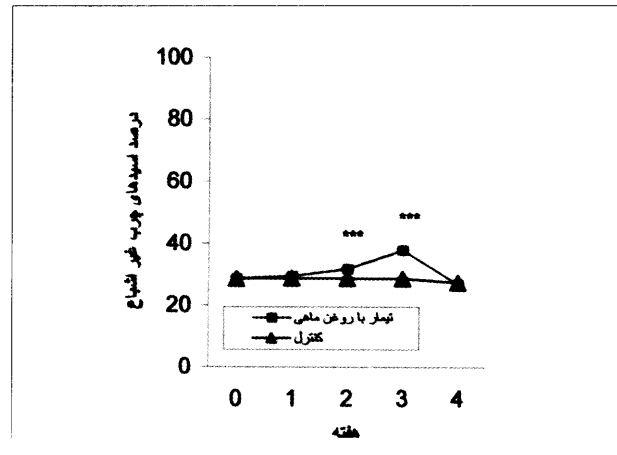


نمودار ۶- مقایسه درصد اسیدهای چرب اشباع شیر دو گروه کار در هفته‌های یکسان. علامت ستاره اختلاف معنی دار بین دو گروه در هفته‌های یکسان را نشان می‌دهند. $P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ ***

از اسیدهای چرب غیر اشباع روغن ماهی از هیدروژناسیون شکمبه‌ای گریخته و با اثر بر متابولیسم غده پستان از تولید چربی در شیر می‌کاهد. همچنین خوردن مقدار ۱۰۰ میلی لیتر روغن ماهی در هفته دوم و نیز ۲۰۰ میلی لیتر در هفته سوم موجب بهبود پروفایل اسیدهای چرب شیر شد؛ طوریکه درصد اسیدهای چرب غیر اشباع شیر گاوهای گروه تیمار با روغن ماهی در مقایسه با شیر گاوهای گروه کنترل در هفته‌های دوم و سوم افزایش نشان دادند ($p < 0.0001$). برعکس درصد اسیدهای چرب اشباع شیر در این هفته‌ها کاهش نشان دادند (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.0001$). در این ارتباط درصد اسید چرب غیر اشباع اولئیک در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد ولی در عوض درصد اسید چرب اشباع استتاریک در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد. این ممکن است در نتیجه اتصال ترجیحی اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند روغن ماهی با تری گلیسریدهای شیر باشد و یا اینکه در نتیجه مهار بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسید چرب اولئیک به اسید چرب استتاریک باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق به نظر می‌رسد که افزودن مقدار ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی لیتر روغن ماهی (بطور متوسط ۲۰۰ میلی لیتر) در روز به جیره غذایی گاوهای شیری مناسب‌ترین مقدار برای بهبود کیفی اسیدهای چرب شیر باشد که نیازمند تحقیق بیشتر در این زمینه است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که به منظور بهبود کیفی اسیدهای چرب شیر، روغن ماهی و یا ترکیبات موجود در آن بالخصوص EPA و DHA در فرمول جیره غذایی گاوهای شیری گنجانده شود. تولید شیرهای غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع و استفاده انسان از این نوع شیرها کمکی بر افزایش ضریب سلامت جامعه و بعلاوه فروش بیشتر شیر و فرآورده‌های شیری خواهد شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز ملی تحقیقات علوم پزشکی کشور به جهت تأمین هزینه‌های این پژوهش و نیز از همکاری صمیمانه ریاست محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، جناب آقای دکتر سید مهدی قمصری تشکر و قدردانی می‌شود.



نمودار ۵- مقایسه درصد اسیدهای چرب غیر اشباع شیر دو گروه کار در هفته‌های یکسان. علامت ستاره اختلاف معنی دار بین دو گروه در هفته‌های یکسان را نشان می‌دهد. $P < 0.001$ ***

شیری، اسیدهای چرب اشباع نشده زنجیر بلند بالخصوص EPA و DHA موجود در روغن ماهی را به شیر گاو منتقل نمایند و بر کیفیت چربی شیر بیافزایند. اصلی‌ترین هدف این تحقیق بررسی اثر مقادیر مختلف روغن ماهی بر ترکیبات شیر و میزان شیر تولیدی در گاوهای شیری بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که از نظر آماری هیچیک از مقادیر روغن ماهی خورنده شده به گاوها تأثیری بر میزان پروتئین شیر، ماده خشک شیر و میزان تولید شیر نداشت که این نتایج موافق با نتایج دیگر محققین است (۹، ۱۶). خوردن ۱۰۰ میلی لیتر روغن ماهی در هفته‌های اول و دوم تأثیری بر میزان درصد چربی شیر گاوها نداشت ولی خوردن مقدار ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی لیتر روغن ماهی در هفته‌های سوم و چهارم موجب کاهش چربی شیر گردید. این نتایج با نتایج تعدادی از محققین موافق است (۶، ۹، ۱۴، ۱۵، ۱۶). اینکه چرا مقدار زیاد روغن ماهی موجب کاهش تولید چربی شیر شدند و چه مکانیسم یا مکانیسم‌هایی ترشح چربی شیر را کاهش می‌دهند مبحثی است که می‌بایست در آینده بیشتر روشن شود. ولی در همین راستا چندین کار آزمایشی بالینی انجام شده و مکانیسم‌هایی را پیشنهاد نموده‌اند که از جمله آنها می‌توان به اثر مهار اسیدهای چرب غیر اشباع روغن ماهی یا متابولیت‌های آنها بر فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز غده پستان (۲۴)، کاهش mRNA لیپوپروتئین لیپاز غده پستان (۳)، یا کاهش فراوانی mRNA آنزیم‌های لیپونیک (آنزیم استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز، آنزیم اسید چرب سنتتاز، آنزیم استتاریول کوآنزیم آدساتوراز) غده پستان (۴) و یا بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسیدهای چرب روغن ماهی اشاره نمود. یک فرضیه این است که اسیدهای چرب غیر اشباع روغن ماهی (EPA و DHA) در اثر هیدروژناسیون شکمبه‌ای به مواد واسطه‌ای ۲۰ کربنی خاص یا اسیدهای چرب دیگر تبدیل شده و با جذب این مواد از روده و رسیدن آنها به غده پستانی از عمل لیپوژنز غده پستان جلوگیری می‌شود (۱۹). فرضیه دیگر این است که اسیدهای چرب غیر اشباع روغن ماهی (EPA و DHA) فعالیت باکتری‌های هضم کننده فیبر را در شکمبه کاهش می‌دهند که در نتیجه تولید استات کاهش یافته و ساخت اسید چرب در غده پستان کاهش یافته و تولید چربی در شیر کاهش می‌یابد (۱۵). و یا اینکه مقداری



References

۱. فرخنده. ع. (۱۳۵۶): روش‌های آزمایش شیرو و فرآورده‌های آن. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات: ۸۱، ۴۸، ۱۰.
۲. کمیسیون استاندارد (۱۳۷۶): روش تهیه متیل استرها‌های اسیدهای چرب. چاپ اول. انتشارات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۴۰۹۰. صفحه: ۱۵-۱.
3. Ahnadi, C.E., Beswick, N., Kennelly, J.J., Lacasse, P. (1998): Feeding protected and unprotected fish oil to dairy cows: III. Effect on mammary lipid metabolism. *J Anim Sci.* 76 (Suppl. 1), 232.
4. Ahnadi, C.E., Beswick, N., Delbecchi, J., Kennelly, J.J., Lacasse, P. (2002): Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic. *J. Dairy Res.* 69: 521-531.
5. Cant, J.P., Fredeen, A.H., MacIntyre, T., Gunn, J., Crowe, N. (1997): Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *Can J Anim Sci.* 77: 125-131.
6. Chilliard, Y., Doreau, M. (1997): Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supply on cow milk yield and composition. *Reprod Nut, Dev.* 37(3): 338-339.
7. Connor, W.E., Neuringer, M. and Reisbick, S. (1991): Essential fatty acids: the importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr Rev.* 50 (4): 21-29.
8. Crawford, M. (1993): The role of essential fatty acids in neural development implications for prenatal nutrition. *Am J Clin Nutr.* 57, suppl 7035.
9. Donovan, D.C., Schingoethe, D.J., Baer, R.J., Ryali, J., Hippen, A.R. and Franklin, S.T. (2000): Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 83(11): 2620-2628.
10. Doreau, M., Chilliard, Y. (1997): Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 37, 113-124.
11. Fredeen, A.H. (1996): Considerations in the nutritional modification of milk composition. *Anim Feed Sci Technol.* 59: 185-197.
12. Hornstra, G., A.I., MDM, van., Houwelingen, A.C., Foreman-van, drongelen, M.M. (1995): Essential fatty acids in pregnancy and early human development. *Eur J Obset Gynecol Reprod Biol.* 61: 57-62.
13. Jones, D.F., Weiss, 1, W.P., Jenkins, T.C. (2002): Research and Reviews: Dairy, Special Circular 163-99, Dietary Fish Oil for Dairy Cows: 2. Effects on Neutrophil Function and Digestibility. http://ohioline.osu.edu/sc163/sc163_17.html.
14. Keady, T.W.J., Mayne, C.S. and Fitzpatric, D.A. (2000): Effects of supplementation of dairy cattle with fish oil on silage intake, milk yield and milk composition. *J Dairy Res.* 67 (2): 137-153.
15. Kitessa, S.M., Gulati, J.R., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W. and Nichols, P.D. (2001): Utilisation of fish oil in ruminants II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Anim Feed Sci and Technol.* 89: 201-208.
16. Mansbridge, R.M., Blake, J.S. (1996): Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. In D.I. Givens ed. *Fats and diet of animal and man.* Proceedings of ADAS conference. 9 May 1996, NEC, Birmingham.
17. Morgan, C., Stammers, J., Colley, J., Spencer, S.A. and Hull, D. (1998): Fatty acid balance studies in preterm infants fed formula milk containing long-chain polyunsaturated fatty acids (LCP) II. *Acta Paediatric* 87: 318-324.
18. Nordoy, A. (1991): Is there a rational use for n-3 fatty acids (fish oil) in clinical medicine *Drugs* 42: 331-342.
19. Piperova, L.S., Teter, B.B. and Erdman, R.A. (1994): The role of trans fatty acids in diet induced milk fat depression in dairy cows. *J Dairy Sci.* p128.
20. Schmidt, E.B. (1997): n-3 fatty acids and the risk of coronary heart disease. *Dan Med Bull.* 44: 1-22.
21. Simopoulos, A.P. (1991): Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr.* 54: 438-463.
22. Simopoulos, A.P. (1994): The 1st Congress of the International Society for the study of fatty acids and lipids (ISSFAL): Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. *J Lipid Res.* 35: 169-173.
23. Simopoulos, A.P., Leaf, A., Salem, J.r. (1999): Workshop on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids.



Food Aust 51 (8): 3332-3333.

24. Storry, J.E., Hall, A.J., Tuckly, B. and Millard, D. (1969): The effects of intravenous infusion of cold-liver and soya-bean oils on the secretion of milk fat in cow. Br. Nutr. 23: 173-181.

