

牛奶中脂肪酸相关性及其样本容量的确定

杨晋辉 周凌云* 卜登攀 杨永新 袁廷杰 张军民

(中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所/动物营养学国家重点实验室,北京 100193)

摘要 为分析牛奶中各种脂肪酸的变异性和相关性,确定采样所需适宜的样本容量,以大兴区泌乳早期奶牛为研究对象,利用气相色谱对牛奶中的脂肪酸进行测定,数据通过 SAS 8.0 进行统计分析。结果显示:牛奶中脂肪酸的变异范围为 5.57%~28.02%;C6~C14 脂肪酸之间呈极显著的正相关,C17、C18、c9C18:1 与 C6~C16 脂肪酸有显著的负相关关系;在 95%置信度条件下,采样适宜的样本容量为 10~16。牛奶脂肪酸之间存在广泛的关联性,试验设计时,可以根据研究脂肪酸的不同确定所需的样本容量。

关键词 牛奶; 脂肪酸; 描述统计; 相关性; 样本容量

中图分类号 TS 252.1

文章编号 1007-4333(2012)04-0123-06

文献标志码 A

Correlation of the fatty acids in milk and determination of the study sample size

YANG Jin-hui, ZHOU Ling-yun*, BU Deng-pan, YANG Yong-xin,
YUAN Ting-jie, ZHANG Jun-min

(State Key Laboratory of Animal Nutrition/Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract To determine correlation and variation of milk fatty acids and figure out proper sample size in experiments, dairy cattle in early lactation from Daxing farm were used in this study. The determination for fatty acids in milk was accomplished through gas chromatography and data were analyzed by SAS 8.0. The results suggested that coefficients of variation of FA in milk varied from 5.57% to 28.02%. There are significant positive correlations among C6 - C14, however, negative correlations were observed between C17, C18, c9C18:1 and C6 - C16. The best sample size for experiments would be 10~16 with the confidence level of 95%. There were extensive correlation existed among FA in milk, and the FA sample size for studies should be determined especially according to the targets.

Key words milk; fatty acids; descriptive statistics; correlation; sample size

脂肪酸是人类食物营养中重要的组成部分,不仅可以氧化提供能量,某些必需脂肪酸还有维持细胞膜功能、合成激素、保持器官和组织的通透性、降低血脂等特殊功效^[1]。牛奶是脂肪酸的天然来源之一,其中对人类健康有益的亚油酸、亚麻酸,特别是共轭亚油酸含量丰富。然而,牛奶中脂肪酸组成受多种因素的影响,饲料中牧草的种类、青贮类型和精料的添加水平都会改变乳脂肪酸成分^[2],奶牛的泌乳阶段和胎次显著影响牛奶中中短链脂肪酸的比

例^[3],乳中饱和脂肪酸随季节有显著变化趋势^[4];此外,乳脂肪酸还受养殖方式、畜群等多种因素的影响。瘤胃中微生物的氢化和乳腺的脱饱和作用使得长链脂肪酸之间可以相互转化^[5-6],中短链脂肪酸由于乳腺的从头合成作用而具有较高的同源性^[7]。样本容量确定是试验设计中的一个重要环节,较小的样本容量往往会影响试验结果的准确性和可靠性,而样本容量过大也会造成各种资源的浪费。但是国内对于牛奶脂肪酸之间的相关关系以及适宜采样样

收稿日期: 2012-01-12

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金资助(nycytx-04-01)

第一作者: 杨晋辉,硕士研究生,E-mail:710593491@163.com

通讯作者: 周凌云,助理研究员,主要从事反刍动物营养和乳品质量研究,E-mail:anya1977@263.net

本容量的报道文献较少。为此,本试验对牛奶中脂肪酸的基本统计特征、脂肪酸之间的相关性以及采样适宜的样本容量进行研究,旨在为相应的动物试验设计提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集

试验以北京市大兴区奶牛场的91头奶牛(泌乳日龄为27~120 d,胎次为1~4胎)为研究对象,奶牛自由采食和饮水,于2011年2月某天挤奶时采集奶样,将早中晚3次采集的奶样按体积比4:3:3的比例混合,混合均匀后储存于-20℃冰箱内,待测定使用。

1.2 脂肪酸测定

乳样在常温下解冻,取2 mL奶样加入正己烷/异丙醇溶液,再加 Na_2SO_4 溶液。振荡离心后吸取上清液至20 mL水解管中,依次经过氢氧化钠甲醇溶液(2 g氢氧化钠溶于100 mL甲醇)和盐酸甲醇溶液(10 mL乙酰氯注入100 mL甲醇)水浴皂化。脂肪酸经正己烷萃取后采用气相色谱仪(Agilent, CA, USA)进行测定;具体方法以及仪器参数的设定参考文献[8];每种脂肪酸的含量以甲酯化脂肪酸占总脂肪酸的百分比形式表示。

1.3 数据处理

采用SAS(8.0)软件对数据进行描述统计分析和相关性分析。相关性分析中, $P < 0.05$ 为显著, $P < 0.01$ 为极显著。

1.4 样本容量的确定^[9-11]

设某随机变量 X 总体均值为 μ ,方差为 σ^2 ,估计的样本容量为 N ,样本平均值记为 \bar{X} , $1-\alpha$ 置信区间长度为 $2d$ (d 为确定的估计精度),则确定的样本容量为(设置信度为 $1-\alpha$)

$$N = z_{\alpha/2}^2 \frac{\sigma^2}{d^2} \quad (1)$$

若 $d = K\mu$,则

$$N = z_{\alpha/2}^2 \left(\frac{CV}{K} \right)^2 \quad (2)$$

令 $d = K\bar{X}$,则

$$N = t_{\alpha/2}^2(df) \left(\frac{CV}{K} \right)^2 \quad (3)$$

式中: $t_{\alpha/2}^2(df)$ 为 t 分布的特征值,由显著水平 α 和自由度 $df = n - 1$ 所确定, $z_{\alpha/2}$ 为显著水平 α 所对应的正态分布的双侧分位数, K 为与测定值和期望值之差有关的系数。 K 的取值基本上由 CV (变异系数)值所确定,当 $CV < 10\%$, $CV = 10\% \sim 20\%$, $CV = 20\% \sim 30\%$ 和 $CV > 30\%$ 时, K 值分别取5%、10%、20%和30%。确定样本容量(N)时,首先用单次的方差 S^2 代替 σ^2 ,由(1)、(2)两式确定 N_1 ,然后确定 $t_{\alpha/2}^2(df)$ 代入(3),得出 N_2 ,再将由 N_2 确定 $t_{\alpha/2}^2(df)$ 的代入(3),循环带入,直至最终样本容量 N 稳定下来。

2 结果与分析

2.1 牛奶脂肪酸基本统计特征

牛奶中脂肪酸描述统计特征如表1所示,由表可以看出,牛奶中含量最高的脂肪酸是C16,占总脂肪酸的30.58%,其次为c9C18:1、C18,分别是23.68%和12.74%。多数脂肪酸具有中等变异范围($CV = 10\% \sim 30\%$),C16含量相对恒定,变异最小($CV = 5.57\%$),而C14:1的变化最大,变异系数为28.02%。饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)占总脂肪酸比例分别为67.87%、26.91%和5.22%,且含量稳定($CV < 11\%$),Trans FA的比例则为3.02%。由峰

表1 牛奶脂肪酸的描述统计特征

Table 1 Descriptive statistics of FA in milk

脂肪酸	平均值/%	标准差	最小值	最大值	变异系数	偏度	峰度	W 统计量	D 统计量
C4	3.611	0.781	2.122	5.118	21.641	-0.118	-0.854	0.972	0.089
C6	2.414	0.343	1.595	3.460	14.200	0.127	0.591	0.986	0.085
C8	1.370	0.248	0.791	2.254	18.079	0.249	1.102	0.979	0.068
C10	2.705	0.569	1.443	4.142	21.020	-0.152	-0.075	0.986	0.064
C12	2.780	0.565	1.438	3.888	20.340	-0.510	-0.318	0.964	0.091
C14	9.676	1.290	6.445	11.795	13.330	-0.684	-0.343	0.941	0.136

续表

脂肪酸	平均值/%	标准差	最小值	最大值	变异系数	偏度	峰度	W 统计量	D 统计量
C14:1	0.711	0.199	0.312	1.150	28.023	0.110	-0.759	0.982	0.084
C15	0.957	0.106	0.638	1.217	11.055	-0.506	0.754	0.978	0.071
C16	30.578	1.702	27.421	34.803	5.567	0.575	0.009	0.963	0.094
C16:1	1.236	0.256	0.658	1.939	20.734	0.563	0.014	0.970	0.086
C17	0.563	0.063	0.466	0.788	11.123	1.300	1.675	0.892	0.165
C18	12.743	1.772	8.409	16.704	13.903	-0.041	-0.118	0.988	0.061
t9C18:1	0.347	0.041	0.246	0.452	11.971	0.206	0.174	0.985	0.064
t11C18:1	0.878	0.138	0.578	1.283	15.740	0.479	0.306	0.984	0.059
c9C18:1	23.682	2.761	18.533	30.783	11.660	0.803	0.125	0.941	0.116
c9c12C18:2	2.891	0.389	1.925	4.000	13.441	-0.074	0.100	0.992	0.053
c9t11CLA	1.763	0.304	1.157	2.523	17.267	0.489	-0.314	0.970	0.095
C18:3	0.285	0.039	0.192	0.366	13.606	-0.047	-0.291	0.984	0.070
C20:0	0.116	0.014	0.077	0.150	12.326	-0.386	0.946	0.956	0.118
其他	0.697	0.243	0.093	2.321	—	—	—	—	—
饱和脂肪酸	67.874	2.843	59.959	72.814	4.188	-0.687	0.102	0.957	0.116
单不饱和脂肪酸	26.909	2.801	21.933	34.295	10.410	0.838	0.242	0.939	0.153
多不饱和脂肪酸	5.217	0.570	4.006	6.950	10.931	0.219	-0.002	0.991	0.058
反式脂肪酸	3.020	0.424	2.163	4.081	14.026	0.497	-0.418	0.967	0.104

度、偏度、W(Shapiro-Wilk 检验)和 D(Kolmogorov-Smirnov 检验)统计量可以得知,C6、C8、C10、C14:1、C15、C18、t9C18:1、t11C18:1、c9c12C18:2、C18:3、PUFA 均呈现较好的正态分布。

2.2 脂肪酸间的相关性

脂肪酸之间的相关系数如表 2 所示,由表可知,中短链脂肪酸 C6~C14 间有极显著的正相关关系,特别是相邻 2 个碳原子的偶数脂肪酸 C8 与 C10、C10 与 C12、C12 与 C14 之间的相关系数达到了 0.90 以上,C16 和 C16:1 与 \leq C14 的脂肪酸之间相关性并不一致。除 c9t11C18:2 与 C18、C20 之间的相关系数为负外, \geq C18 的脂肪酸之间主要呈正相关关系,其中,C18:3 与 t9C18:1、c9c12C18:2 的相关系数、c9t11C18:2 与 t11C18:1 以及 C18 与 c9C18:1 的相关系数都达到了 0.40 以上。C17、C18、c9C18:1 与中短链脂肪酸(C6~C16)存在显著的负相关关系。

2.3 脂肪酸样本容量确定

脂肪酸样本容量的确定如表 3 所示,C8、

t11C18:1、c9t11C18:2 确定的样本容量要大于其他脂肪酸,90%、95%和 99%的置信度条件下确定的最适宜样本容量分别为 11、16 和 26。

3 讨论

3.1 乳中脂肪酸的含量

2008 年美国对全国各地的鲜奶调查发现^[12],SFA、MUFA 和 PUFA 分别占牛奶总脂肪酸的 63.7%、29.1%和 4.1%,t11C18:1 是反式脂肪酸主要的异构体,占总脂肪酸的 1.48%,具有抗癌活性的 c9t11C18:2 的比例为 0.55%,这与本研究的数据相一致。与水牛奶相比^[13],奶牛乳中 C14:0 和 C18:0 的含量较高,而 C18:1 含量较低。也有学者对其他物种乳中的脂肪酸含量进行了报道^[14],绵羊乳中 C16、C18 和 c9C18:1 分别占总脂肪酸的 22.04%、10.50%和 15.35%,且比例相对稳定(CV<30%),SFA、MUFA 和 PUFA 相应的比例为 71.35%、22.10%和 6.54%,对人体有益的 t11C18:1、c9t11CLA 分别是 2.53%、0.89%。巴基

表2 牛奶脂肪酸间的相关系数

Table 2 Correlation coefficients of FA in milk

	C6	C8	C10	C12	C14	C14:1	C15	C16	C16:1	C17	C18	t9C18:1	t11C18:1	e9C18:1	e9c12C18:2	e9t11C18:2	C18:3	C20
C4	0.58**	0.19	0.03	0.00	-0.05	-0.16	-0.17	-0.28**	-0.20	0.07	-0.06	-0.25*	-0.46**	-0.06	-0.03	-0.21	-0.12	-0.29**
C6		0.86**	0.67**	0.57**	0.46**	0.10	0.10	-0.04	-0.30**	-0.39**	-0.32**	-0.31**	-0.34**	-0.55**	-0.03	-0.21*	-0.11	-0.36**
C8			0.93**	0.83**	0.68**	0.26*	0.21*	0.12	-0.33**	-0.60**	-0.38**	-0.26*	-0.20	-0.71**	-0.10	-0.12	-0.12	-0.28**
C10				0.96**	0.83**	0.39**	0.36**	0.26*	-0.32**	-0.71**	-0.45**	-0.21*	-0.19	-0.82**	-0.10	-0.05	-0.05	-0.22*
C12					0.92**	0.54**	0.47**	0.38**	-0.27**	-0.77**	-0.57**	-0.17	-0.21*	-0.85**	-0.10	0.08	-0.02	-0.27*
C14						0.61**	0.61**	0.55**	-0.24*	-0.78**	-0.67**	-0.09	-0.18	-0.89**	-0.08	0.22*	0.06	-0.26*
C14:1							0.45**	0.61**	0.10	-0.64**	-0.75**	-0.10	-0.18	-0.47**	-0.11	0.46**	0.02	-0.44**
C15								0.44**	-0.19	-0.37**	-0.44**	0.22*	-0.05	-0.55**	0.12	0.37**	0.39**	0.05
C16									0.17	-0.53**	-0.60**	-0.05	-0.09	-0.60**	-0.25*	0.27*	-0.08	-0.32**
C16:1										0.05	-0.18	-0.06	-0.04	0.33**	-0.35**	0.13	-0.37**	-0.26*
C17											0.61**	0.15	0.17	0.75**	0.04	-0.22*	0.03	0.23*
C18												0.10	0.25*	0.45**	0.08	-0.52**	0.00	0.73**
t9C18:1													0.39**	0.11	0.29**	0.26*	0.41**	0.18
t11C18:1														0.14	0.14	0.44**	0.22*	0.29**
e9C18:1															0.07	-0.05	-0.06	0.14
e9c12C18:2																0.04	0.87**	0.09
e9t11C18:2																	0.17	-0.23*
C18:3																		0.17

注: *表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$ 。

表3 脂肪酸样本容量的确定

Table 3 Determination of the FA sample size

置信度	C4	C6	C8	C10	C12	C14	C14:1	C15	C16	C16:1	C17	C18	t9C18:1	t11C18:1	e9C18:1	e9c12C18:2	e9t11C18:2	C18:3	C20:0
90%	6	8	11	6	5	7	8	6	6	6	5	8	6	9	6	7	11	7	7
95%	8	11	16	7	7	10	11	8	8	7	8	10	9	13	8	10	14	10	9
99%	12	18	26	12	11	16	17	12	12	11	12	17	14	21	13	16	24	17	14

斯坦 Sindh 地区的奶牛、水牛、山羊和绵羊的乳中脂肪酸分析调查显示^[4], C10、C14、C16、C18 和 C18:15 种脂肪酸共占总脂肪酸的 75%, transC18:1 在 4 种乳中相应的比例为 2.01%、2.00%、1.69% 和 2.69%。

3.2 脂肪酸之间的相关性

通过表型相关分析可以将牛奶中脂肪酸分为 5 个家族^[7]: C4 和 C6 主要由 β 羟丁酸合成; C6-C14 是乳腺从头合成脂肪酸的主体, 合成受乙酰 CoA 羧化酶和脂肪酸合酶复合体酶活性影响; 不饱和脂肪酸 C16:1、C18:1、C18:2 由于能竞争性的结合酯酰基的 2'、3' 位, 能够抑制脂肪酸的从头合成; C16 一半来源于乳腺的从头合成, 另一半直接来自于血液, 受饲料中脂肪酸变化影响较大; C18 从血液中摄取而得。而在本研究中, C4 和 C6 呈极显著的正相关(相关系数为 0.58); C6~C14 脂肪酸之间会由于代谢途径的相似性而呈现极显著正相关; 虽然 C16:1、c9C18:1 和 C6~C16 之间有极显著的负相关关系, 表现出对脂肪酸从头合成较强的抑制作用, 但 t9C18:1、t11C18:1、c9c12C18:2 和 c9t11C18:2 的抑制作用却体现的不明显, t9C18:1、t11C18:1 仅对 C4 和 C6 等少数脂肪酸表现出负相关, c9t11C18:2 甚至与 C14、C14:1、C15、C16 呈显著的正相关; 表 2 中 C16 与 C6、C8 呈现出较弱的相关性; C18 由于来源不同而与 C6-C16 呈极显著的负相关。对绵羊乳中的 10 种主要脂肪酸进行相关分析时发现^[12], C10、C12 和 C14 3 种脂肪酸之间相关系数都大于 0.6, C18 和 C18:1 与这 3 种脂肪酸的相关系数从 -0.51~ -0.66 分布不等, 而 C18:2、C18:3 与 C10、C12 和 C14 的相关系数大于 -0.40, 18 碳脂肪酸之间呈正相关。Kadegowda 等^[15]对 \geq C14 中长链脂肪酸和反式脂肪酸之间的相关性分析时发现, 除 trans16 外的所有 C18:1 与 C14 都呈极显著的负相关(相关系数约为 -0.4)。Bauman 等^[16]证实乳脂中 transC18:1 含量增加会伴随着 C6~C16 脂肪酸产量的下降。就奇数脂肪酸而言, 虽然 C15 和 C17 主要为瘤胃发酵的产物, 却有着不同的变化趋势, C15 和中短链脂肪酸($<$ C16)随泌乳阶段的变化相一致, 而 C17 和长链脂肪酸($>$ C18)在泌乳早期下降, 这说明 C15 和 C17 代谢途径可能不同^[17], 两者之间极显著的负相关系数(-0.37)证实了这一点。

Δ 9 脱饱和酶可以将 C18、t11C18:1 脱饱和形

成 c9C18:1、c9t11C18:2, 并且其形成产物的量分别占乳中对应脂肪酸的 80% 和 95%^[6], 本研究中 C18 和 c9C18:1、t11C18:1 和 c9t11C18:2 的相关系数分别为 0.45 和 0.44, 都达到了极显著水平。而 Δ 9 脱饱和酶还可以将 C14 和 C16 转变为 c9C14:1 和 c9C16:1。此外, 由于瘤胃中微生物的氢化作用, 长链脂肪酸之间存在相互转化, 2 种 *Fusocillus* 细菌可以将油酸和亚油酸氢化成硬脂酸, 而白色瘤胃球菌和 2 种真菌可以将亚油酸和亚麻酸代谢为 C18:1 的混合物^[18]。Jenkins 等对油酸、亚油酸、亚麻酸在瘤胃中氢化过程以及过程中各种代谢产物的变化作了详细的介绍^[5]。这些作用对长链脂肪酸之间相关性都有影响。

长链脂肪酸的灌注试验和饲喂试验为脂肪酸间的相关性进一步提供了佐证, 皱胃灌注 C18:1 可提高乳脂中 C18:2 比例, 并且降低 C14 和 C16 的比例^[19], 而相应的回撤灌注试验也表明, C18:1 可以抑制乳腺脂肪酸的从头合成^[20]。皱胃灌注 C18, 对乳中脂肪酸的无显著影响, 而相应的灌注 C16, 却降低了乳中 C14 的比例^[19]; 饲料中增加 C14 的比例, 降低了 C6、C8、C16、C18 和 C18:1 在乳脂中的比例^[21]。饲料中添加中短链脂肪酸, 乳脂中 $<$ C16 脂肪酸的比例增加, 而 $>$ C16 的脂肪酸比例降低, 添加长链脂肪酸的结果恰好相反^[22]。

3.3 脂肪酸样本容量的确定

样本容量的确定是根据试验条件和统计有效性来确定的。所需的参数可通过已有的调查或搜集样品获得。对于奶牛等大型动物的试验而言, 有时会因为试验条件的限制和样品搜集的便利, 每个处理组内重复数较少, 其结果会受到置信度和统计假设检验的限制。置信度升高, 结果可靠性增强, 但这使得置信区间变小, 样本容量增大。此外, 指标的变异程度也会影响样本容量的确定, 变异系数越大, 所需的样本容量也会变大。虽然大样本容量能够减少误差, 并有助于降低犯存伪错误的概率, 但这会加大试验开展的难度。因此, 适宜的样本含量既有利于试验的开展, 又可以保证结果的准确性与可靠性。

牛奶脂肪酸的报道中, 中长链脂肪酸是研究的重点^[16, 23]。本研究中, 中长链脂肪酸在 90% 置信度条件下确定的样本容量为 5~11, 95% 置信度条件下的样本容量 7~14, 99% 置信度条件下确定的样本容量为 11~24, 从统计有效性和试验便利两方面考虑, 选取 10~16 作为脂肪酸的适宜样本容量。这

与一些脂肪酸研究选取的样本容量相吻合^[22,24-25]。试验设计时,可以根据所要研究的脂肪酸来确定相应样本容量。

4 结 论

本试验通过对 91 头泌乳早期奶牛的奶样中脂肪酸分析,发现牛奶中的脂肪酸 C16、c9C18:1、C18 含量居多,多数脂肪酸具有中等的变异范围(10%~30%);中短链脂肪酸由于代谢途径相似而具有较高的正相关关系,而长链脂肪酸与中短链脂肪酸则呈负相关关系。从统计有效性和试验便利性综合考虑,采集 10~16 头奶牛的奶样便可以达到脂肪酸的测定要求。

参 考 文 献

- [1] 杨凤. 动物营养学[M]. 北京:中国农业出版社,2004:79-80
- [2] Kalač P, Samková E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review[J]. Czech J Anim Sci, 2010, 55(12): 521-537
- [3] Kelsey J A, Corl B A, Collier R J, et al. The Effect of breed, parity and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows[J]. J Dairy Sci, 2003, 86(8): 2588-2597
- [4] Talpur F N, Bhangar M I, Khooharo A A, et al. Seasonal variation in fatty acid composition of milk from ruminants reared under the traditional feeding system of Sindh, Pakistan [J]. Livestock Science, 2008, 118(1/2): 166-172
- [5] Jenkins T C, Wallace R J, Moate P J, et al. BOARD-INVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(2): 397-412
- [6] Glasser F, Ferlay A, Doreau M, et al. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: A meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis[J]. Journal of Dairy Science, 2008, 91(7): 2771-2785
- [7] Bobe G, Minick Bormann J A, Lindberg G L, et al. Short communication: Estimates of genetic variation of milk fatty acids in US Holstein Cows[J]. J Dairy Sci, 2008, 91(3): 1209-1213
- [8] 王加启. 反刍动物营养学研究方法[M]. 北京:现代教育出版社, 2011: 389-392
- [9] 明道绪. 生物统计附属试验设计[M]. 北京:中国农业出版社, 2002: 320-322
- [10] 杨清云, 曾锋. 森林土壤空间变异性及其样本容量的确定[J]. 水土保持研究, 2004, 11(3): 54-56
- [11] 曾锋, 张金池, 朱丽珺. 下蜀栎林土壤空间变异性及其样本容量的确定[J]. 南京林业大学学报, 2005, 29(2): 51-53
- [12] O'Donnell-Megaró A M, Barbano D M, Bauman D E. Survey of the fatty acid composition of retail milk in the United States including regional and seasonal variations[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(1): 59-65
- [13] Mihaiu M, Pinteá A, Bele C, et al. Investigations on the nutritional and functional value of the buffalo milk [J]. Veterinary Medicine, 2010, 67(2): 1843-5378
- [14] De La Fuente L F, Barbosa E, Carriedo J A, et al. Factors influencing variation of fatty acid content in ovine milk[J]. J Dairy Sci, 2009, 92(8): 3791-3799
- [15] Kadegowda A K G, Piperova L S, Erdman R A. Principal component and multivariate analysis of milk long-chain fatty acid composition during diet-Induced milk fat depression[J]. Journal of Dairy Science, 2008, 91(2): 749-759
- [16] Bauman D E, Mather I H, Wall R J, et al. Major advances associated with the biosynthesis of milk[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(4): 1235-1243
- [17] Craninx M, Steen A, Van Laar H, et al. Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions [J]. J Dairy Sci, 2008, 91(7): 2662-2677
- [18] Kemp P, Lander D J. Hydrogenation *in vitro* of alpha-linoleic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria[J]. Journal of Genetic Microbiology, 1984, 130: 527-527
- [19] Enjalbert F, Nicot M C, Bayourthe C, et al. Effects of duodenal infusions of palmitic, stearic, or oleic acids on milk composition and physical properties of butter[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(7): 1428-1433
- [20] 哈斯额尔敦. 荷兰斯坦奶牛瘤胃后十八碳脂肪酸泌乳需要量研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2010
- [21] Odongo N E, Or-Rashid M M, Kebreab E, et al. Effect of supplementing myristic acid in dairy cow rations on ruminal methanogenesis and fatty acid profile in milk[J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(4): 1851-1858
- [22] 崔海, 王加启, 李发弟. 饲料添加不同碳链长度脂肪酸对泌乳奶牛生产性能和乳脂肪酸组成的影响[J]. 动物营养学报, 2011, 23(7): 1116-1122
- [23] 杨永新, 王加启, 卜登攀. 2010 年国际反刍动物营养研究进展 I. 脂肪(酸)营养[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(2): 10-14
- [24] 刘仕军, 卜登攀, 王加启. 日粮添加植物油脂对乳脂脂肪酸的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1248-1253
- [25] 王建平, 王加启, 卜登攀. 饱和脂肪酸对高温环境条件下泌乳中期奶牛产奶性能及牛奶脂肪酸组成的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(3): 301-311