

บทที่ 2

ตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง

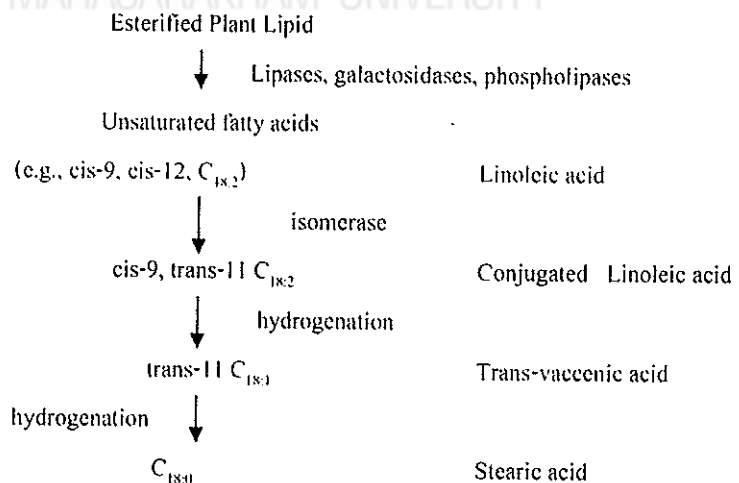
ไขมันจัดเป็นโชนะที่ให้พลังงาน ประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ต่อเป็นสายยาว มีหมู่ carboxyl group (COOH) อยู่ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่ง แบ่งออกเป็น 2 ชนิด

1. กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีไฮโดรเจนอยู่เต็มระหว่างอะตอมของคาร์บอนจะจับติดต่อกันแบบพันธะเดี่ยว (single bond) ถ้ามีจำนวนคาร์บอนต่ำกว่า 10 อะตอมจะมีสภาพเป็นของเหลว ถ้ามีจำนวนคาร์บอนมากกว่า 10 อะตอมจะมีสภาพเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง
2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ (double bond) ระหว่างอะตอมของคาร์บอน

2.1 เมแทบอลิซึมของไขมันในระบบทางเดินอาหารและในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

กรดไขมันที่พบในพืชอาหารสัตว์ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว แต่เมื่อมาถึงกระเพาะหมักซึ่งมีสภาพแบบไร้ออกซิเจน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น 3 ขั้นตอน (จลอง, 2541) คือ

1. Hydrolysis โดย triglyceride ถูก hydrolyse ได้เป็น glycerol และ fatty acid
2. Hydrogenation โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก ที่สำคัญคือ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดกระบวนการนี้ เช่น *Butyrivibrio fibrisolvens* (Latham et al., 1972) และ *Anaerovibrio lipolytica* (Jenkins, 1993) เป็นหลัก โดยมีการเติมไฮโดรเจนเข้าไปในพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้กลายเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (Drackley, 2000) ดังรูปที่ 1

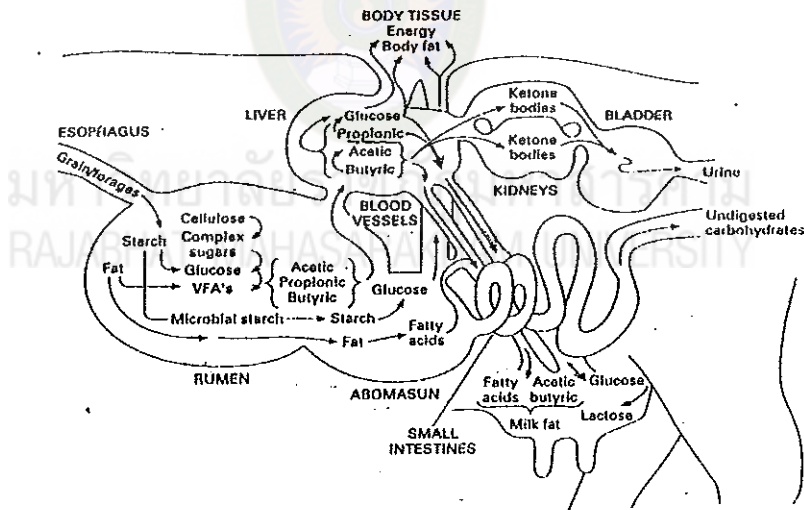


รูปที่ 1 : ขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในกระเพาะหมัก

ที่มา : Jenkins (1993) ; Drackley (2000)

ไขมันที่เป็นองค์ประกอบของแบคทีเรียในกระเพาะหมักอยู่ระหว่าง 10 -15% ซึ่งใน liquid-associated bacteria มีไขมันต่ำกว่าใน solid-associated bacteria (Bauchart et al., 1990) ไขมันในแบคทีเรียได้มาจากอาหาร (exogenous sources) โดยเฉพาะ long-chain fatty acid และจากการสังเคราะห์โดยตัวจุลินทรีย์เอง (endogenous or de novo synthesis) การสังเคราะห์นั้นขึ้นอยู่กับไขมันในอาหารและชนิดของแบคทีเรีย และการเพิ่มระดับของไขมันในอาหารจะช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ไขมันในจุลินทรีย์ได้ (Jenkins, 1993)

3. Isomerization เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจาก cis ให้เป็น trans กระบวนการดังกล่าว ทำให้จุดหลอมเหลวของกรดไขมันสูงขึ้น ไขมันมีลักษณะแข็งตัวขึ้น กรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากคือ stearic acid และ palmitic acid นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำนวนคาร์บอนเป็นเลขคี่จากกรดโพพิออนิก และกรดไขมันที่มีสายไฮโดรคาร์บอน ที่เป็นแขนงได้ โดยสังเคราะห์ได้จาก valine, leucine และ isoleucine (ศรีสกุล และรณชัย, 2539) นักวิทยาศาสตร์ได้มีความพยายามที่ลดกรดไขมันอิ่มตัวในเนื้อสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น การใช้ไขมันผ่านกรรมวิธี (protected fat) เพื่อป้องกันการย่อยสลายในกระเพาะหมักโดยให้ไขมันที่ได้รับจากอาหาร ไปถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กได้โดยตรง อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์ของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้อง สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 : การใช้ประโยชน์ของไขมันในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

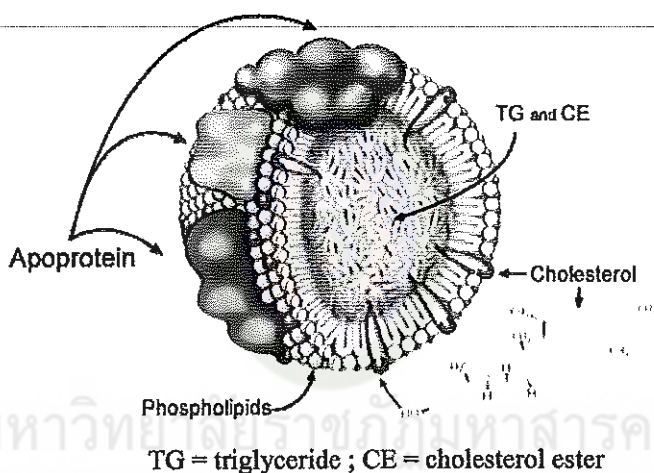
ที่มา : ฉลอง (2541)

การดูดซึมกรดไขมันนั้นพบว่า หากเป็นกรดไขมันสายสั้นและสายยาวปานกลาง (C4-C12) สามารถดูดซึมเข้าสู่ mucosal cell ของลำไส้ได้โดยตรงจากนั้นผ่านเข้ากระแสเลือดทางหลอดเลือด portal โดยอาศัยโปรตีน albumin เป็น carrier (ปนัดดา, 2546) ส่วนกรดไขมันสายยาว (C มากกว่า 12) พบว่า

2- monoacylglycerol และคลอเลสเตอรอลอิสระจะรวมตัวกับเกลือของกรดน้ำดีในรูปของไมเซลล์ผสม (mixed micelle) ทำให้สามารถละลายได้ จากนั้น ไมเซลล์ผสมจะถูกดูดซึมผ่าน brush border ของผนังลำไส้เล็กต่อไป หลังจากไขมันเข้ามาอยู่ใน mucosal cell ของลำไส้เล็กจะเกิดการเปลี่ยนแปลงกับไขมันดังกล่าวให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมก่อนที่จะมีการส่งออกไปในรูปของโคโลไมครอน (chylomicrons)

ในเลือดประกอบด้วย โปรตีนอัลบูมิน(albumin) และ ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ซึ่งอัลบูมินช่วยลำเลียงกรดไขมันอิสระ ส่วนไลโปโปรตีนมีหลายชนิดช่วยลำเลียงไตรกลีเซอไรด์และไขมันชนิดอื่นๆ ระหว่างตับกับเนื้อเยื่อต่างๆ โดยไลโปโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งไขมันชนิดต่างๆ จะมีลักษณะพิเศษ กล่าวคือ แกนกลางของไลโปโปรตีนจะเป็นไขมันชนิดที่ไม่มีขั้ว (nonpolar lipid) เช่น ไตรกลีเซอไรด์ และคลอเลสเตอรอลเอสเทอร์

ผังรูปที่ 3



รูปที่ 3 : ส่วนประกอบของไลโปโปรตีน

ที่มา : Protech Inc (2007)

นอกจากนี้ปรากฏว่า ไตรกลีเซอไรด์ และคลอเลสเตอรอลเอสเทอร์ ถูกล้อมรอบด้วยไขมันชนิดที่สามารถละลายน้ำได้บางส่วน (amphipatic lipid) เช่น ฟอสโฟลิปิดและ คลอเลสเตอรอล และมีโปรตีนบางชนิดที่เรียกว่า อะโปโปรตีน (apoprotein) แทรกอยู่ในชั้นของไขมันเหล่านี้ โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับส่งสัญญาณ (receptor) ซึ่งไลโปโปรตีนแบ่งเป็นกลุ่มต่างๆตามระดับชั้นเมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงกำลังสูง ได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้

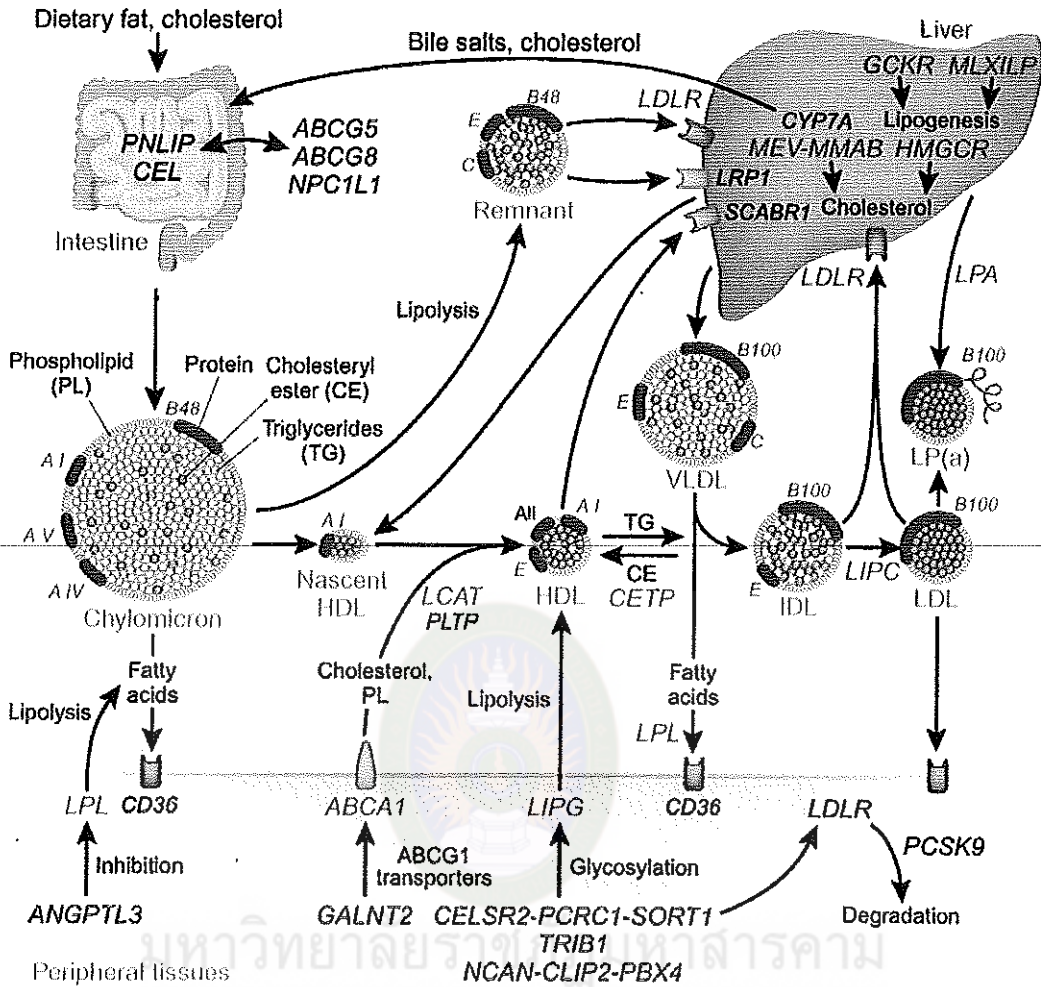
1. โคโลไมครอน (chylomicrons) ทำหน้าที่หลักในการขนส่ง ไตรกลีเซอไรด์ จากลำไส้เล็กไปยังตับ
2. วีแอลดีแอล (very low density lipoprotein, VLDL) ทำหน้าที่ขนส่ง ไตรกลีเซอไรด์ จากตับไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ

3. แอลดีแอล (low density lipoprotein, LDL) ประกอบด้วย คอลเลสเตอรอล เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจะขนส่งคอเลสเตอรอลเหล่านี้ไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ

4. เอชดีแอล (high density lipoprotein, HDL) ประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดมากที่สุด และมีคอเลสเตอรอลรองลงมา จะทำหน้าที่ในการขนส่งไขมันเหล่านี้จากเนื้อเยื่อต่างๆไปกำจัดที่ตับ

การทำงานของไลโปโปรตีนนั้นพบว่า ไขมันชนิดต่างๆจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ลำไส้เล็ก โดยการย่อยให้เป็นกรดไขมันก่อนที่จะดูดซึม กรดไขมันต่างๆที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ผนังลำไส้เล็กจะรวมตัวกันอีกครั้งในรูปของไตรกลีเซอไรด์ ส่วนคอเลสเตอรอลสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้เลยโดยไม่ต้องย่อยก่อน (ปนัดดา, 2546) จากนั้นไตรกลีเซอไรด์จะรวมตัวกับคอเลสเตอรอลและไขมันชนิดอื่นในอัตราส่วนหนึ่งเป็นไลโปโปรตีนที่เรียกว่า ไคโลไมครอน เข้าสู่ระบบน้ำเหลืองเพื่อไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น หัวใจ กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน เป็นต้น ซึ่งเนื้อเยื่อเหล่านี้จะมีเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยไตรกลีเซอไรด์ให้เป็น กลีเซอรอลและกรดไขมันอยู่ คือ ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ที่ขนส่งมาโดยไคโลไมครอน 80 % ถูกย่อยสลายที่เนื้อเยื่อเหล่านี้เพื่อไปใช้เผาผลาญเป็นพลังงานหรือสะสมไว้ที่เนื้อเยื่อไขมัน ส่วนไคโลไมครอนที่ถูกย่อยเอาไตรกลีเซอไรด์ออกไปจะถูกเรียกว่า ไคโลไมครอนเรเมนันท์ (chylomicron remnant) จะเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อไปย่อยสลายต่อที่ตับต่อไป ดังรูปที่ที่

4



รูปที่ 4 : กระบวนการขนส่งไขมัน

ที่มา : Aldons and Pajukanta (2008)

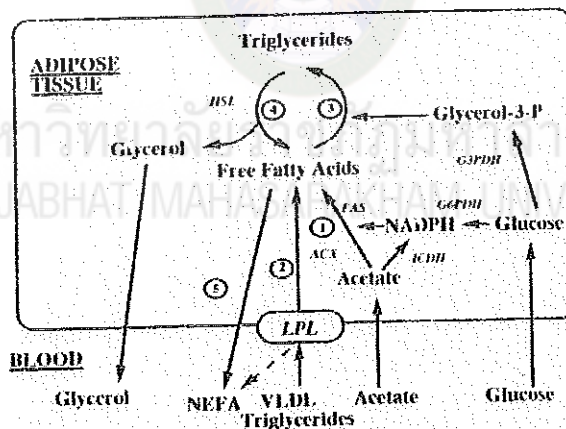
ไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลรวมทั้งไขมันชนิดอื่นๆ ถูกย่อยสลายและนำไปผ่านกระบวนการผลิตสารชนิดใหม่ (hydrolysis and metabolism) เช่น การย่อยไตรกลีเซอไรด์จนได้กรดไขมันเพื่อนำไปย่อยสลายต่อจนได้ อะเซทิลโคเอ (acetyl coA) สร้างพลังงานให้กับร่างกาย หรือ สร้างน้ำดีจากคอเลสเตอรอล นอกจากนี้จะย่อยสลายสารต่างๆแล้ว ตัวเองก็ยังเป็นแหล่งสร้างไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล และไขมันชนิดอื่นๆด้วยเช่นกัน ไขมันเหล่านี้จะรวมกับโปรตีนที่สร้างขึ้นในเซลล์ตับเป็นไลโปโปรตีนชนิดที่เรียกว่า VLDL เพื่อนำไขมันเหล่านี้ที่สร้างจากตับไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ เพื่อเผาผลาญเป็นพลังงานเช่นเดียวกับไลโปไมครอน VLDL ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลโปไลโปโปรตีนไลเปสเพื่อเอา

ไตรกลีเซอไรด์ออกไปจะมีคลอเลสเตอรอลสูงชันมากถึง 58% รวมทั้งมีการย่อยเอาอะโปโปรตีนบางตัวออกไปด้วย ทำให้มีความหนาแน่นสูงชัน เรียกว่า LDL ทำหน้าที่ขนส่งคลอเลสเตอรอลเหล่านี้ไปตามกระแสเลือด โดยปริมาณคลอเลสเตอรอล 30 % ถูกส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ที่ต้องการคลอเลสเตอรอล ส่วนอีก 70% ที่เหลือจะนำกลับไปยังตับ LDL ที่ขนส่งคลอเลสเตอรอลไปตามกระแสเลือดสามารถที่จะจับกับเซลล์ของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงได้ เนื่องจากที่หลอดเลือดเหล่านี้มีตัวรับ (receptor) อะโปโปรตีนที่อยู่บน LDL ทำให้เป็นสาเหตุของการสะสมคลอเลสเตอรอลในเส้นเลือดมากขึ้นอันเกิดเนื่องจากการขนส่งของ LDL

ไลโปโปรตีนที่สำคัญตัวหนึ่ง ที่ถูกสร้างขึ้นที่ตับและลำไส้เล็กเช่นกัน คือ HDL จะทำหน้าที่หลักในการขนส่งอะโปโปรตีนไปให้กับไลโปไมครอนและ VLDL เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีนทั้งสองและรับคลอเลสเตอรอลจากเนื้อเยื่อต่างๆ กลับไปย่อยสลายที่ตับ หรือเรียกไลโปโปรตีนตัวนี้ว่าเป็น ไชมันดี

2.2 เมแทบอลิซึมของกรดไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน

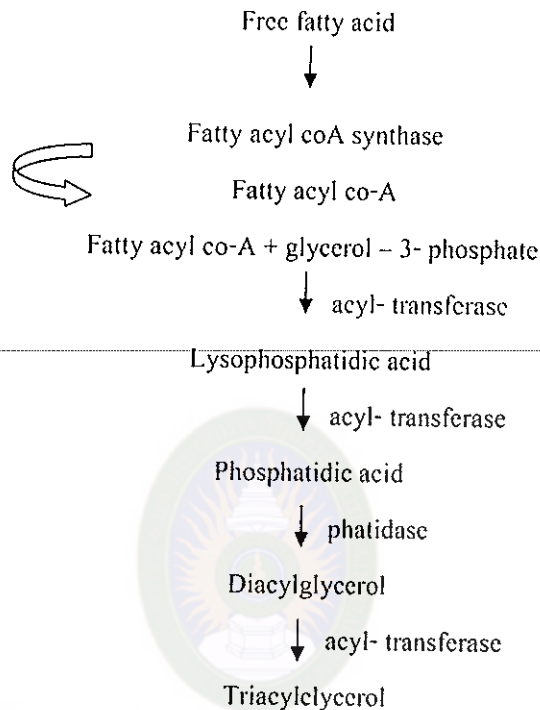
ในสัตว์เลี้ยงเองการสังเคราะห์ไขมัน (de novo fatty acid synthesis) เกิดขึ้นที่เนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) เป็นส่วนใหญ่ประมาณ 92 % (เมธา, 2533) สารตั้งต้นคือ กรดอะซิติก (acetic acid) (รูปที่ 5)



1= De novo fatty acid synthesis, 2 = hydrolysis, 3 = (re)esterification, 4 = lipolysis, 5 = lipomobilization, Very low density lipoprotein (VLDL), Acetyl-coenzyme A carboxylase (ACX), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), Hormone-sensitive lipase (HSL), NADP-isocitrate dehydrogenase (ICDH), Lipoprotein lipase (LPL), Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH)

รูปที่ 5 : ขั้นตอนการสังเคราะห์กรดไขมันในเนื้อเยื่อไขมัน
ที่มา : Chilliard (1993)

หากเป็นการสังเคราะห์ไขมันในต่อน้ำมันมาใช้ butyric acid เป็นสารตั้งต้น (ฉลอง, 2541) ที่ได้จากกระบวนการหมัก นอกจากนี้ VLDL, triglyceride และ glucose ก็เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไขมัน โดยการเกิดปฏิกิริยาสร้างเป็นพันธะเอสเทอร์กับ glycerol - 3- phosphate จากนั้นกรดไขมันอิสระจะถูกกระตุ้นเพื่อให้อยู่ในรูปที่สามารถไปเชื่อมต่อกับ glycerol - 3- phosphate ได้ดังปฏิกิริยา



รูปที่ 6 : ขั้นตอนการสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล

ที่มา : ปนัดดา (2546)

หลังจากที่ไขมันถูกสังเคราะห์แล้วได้เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล นั้นจะมีการปลดปล่อยกรดไขมันออกจากเนื้อเยื่อไขมันก็ต่อเมื่อ อัตราส่วนของอินซูลิน/กลูคากอนมีค่าลดลง (ภาวะอดอาหาร) ส่งผลให้มีการเติมหมู่ phosphate ให้กับ enzyme lipase โดยการกระตุ้นจากฮอร์โมนกลูคากอน ทำให้ lipase ตัดสายไขมันออกจาก triacylglycerol ทำให้ได้เป็น free fatty acid และ glycerol ซึ่งจะเข้าสู่กระแสเลือดต่อไป (พจน์ และคณะ, 2543)

2.3 การใช้เมล็ดพืชน้ำมัน (oilseed) เพื่อเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

การใช้เมล็ดพืชน้ำมัน เพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปัจจุบันมีการใช้หลายชนิด ที่นิยมใช้ เช่นการใช้เมล็ดฝ้ายจัดเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งของโปรตีนเป็นหลัก อีกทั้งยังประกอบไปด้วยกรดไขมันที่สำคัญอีกหลายชนิด จากการรายงานของ Franke et al. (1981) พบว่าเมื่อใช้เมล็ดฝ้ายที่ระดับ 15 และ 30 % สามารถเพิ่มปริมาณน้ำมันในโคนมได้ นอกจากนี้ ในเมล็ดฝ้าย และเมล็ดทานตะวัน มีส่วน

pericarp ของเมล็ดช่วยป้องกันน้ำมันที่มีอยู่ภายในเมล็ดทำให้ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับจุลินทรีย์ใน กระเพาะหมักได้ (Felton and Kerley, 2004) ซึ่งน้ำมันดังกล่าวประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวปริมาณ ที่สูง เช่น น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน ประกอบด้วย oleic acid 45.3 % และ linolenic acid 39.8 % (NRC, 2001) ดังนั้นการใช้พีชน้ำมันอาจช่วยเพิ่มการนำไปใช้ประโยชน์ ได้ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปริมาณของ กรดไขมันในเมล็ดพีชน้ำมันแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : ชนิดของกรดไขมันในเมล็ดพีชน้ำมัน

Oilseeds	% EE ²	Fatty acids (weight %)					
		14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Sunflower	44.93	-	7.00	4.00	17.00	72.00	-
Coconut	34.03	18.00	11.00	6.00	7.00	2.00	-
Whole cottonseed ¹	15.20	0.77	24.23	2.28	15.45	55.72	0.18
Palm seed	55.74	1.00	48.00	4.00	38.00	9.00	-

EE = ether extract

ที่มา : Dorrell (1978) ; Bertrand et al. ¹ (2005) ; กรมปศุสัตว์² (2547)

จากตารางที่ 1 สังเกตได้ว่าจุดเด่นของเมล็ดทานตะวันและเมล็ดฝ้ายจะประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว อยู่สูง โดยเฉพาะลิโนเลอิก แอซิด (C18:2) นอกจากนี้มีการนิยมใช้เมล็ดฝ้ายเป็นอาหารโคนมอีกด้วย เนื่องจากอุดมไปด้วยไขมัน, โปรตีนและเยื่อใย เมื่อมีการเสริมไขมันจากฝ้ายและทานตะวันจะสามารถ เพิ่มพลังงานในอาหาร อย่างไรก็ตามหากระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีสูงเกินไปในสูตรอาหารจะเป็น พิษต่อจุลินทรีย์ และไปเคลือบอาหารส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ย่อยเยื่อใย (cellulolytic bacteria) ไม่สามารถ ทำงานได้ส่งผลต่อความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใย (Eastridge and Firkins, 1991) แต่หากมีการใช้ ในระดับที่เหมาะสมจะไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใย เช่นในเมล็ดฝ้ายพบว่า หากใช้ที่ระดับ 15 % ในอาหาร กรดไขมันในเมล็ดจะถูกปลดปล่อยอย่างช้าๆในกระเพาะหมัก และถูก biohydrogenated อย่างช้าๆทำให้ไม่เกิดพิษต่อจุลินทรีย์ (Moore et al., 1986) แต่หากมีการใช้มากจะ ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการย่อยได้ของเยื่อใย (Martine et al., 1991) เนื่องจากน้ำมันจาก เมล็ดฝ้าย ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่สูงถึง 70 % ทำให้ถูก hydrolyzed อย่างรวดเร็วและเกิด พิษต่อจุลินทรีย์ได้ (Keele et al., 1989) การนำเมล็ดทานตะวันไปเป็นส่วนอาหารสัตว์ สามารถใช้ได้ทั้ง เมล็ดเต็มทีระดับ 10 % และน้ำมัน ที่ระดับ 6% ในสูตรอาหาร ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มน้ำหนักตัว สัตว์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในน้ำมัน ได้อีกด้วย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 : ผลของเมล็ดทานตะวันและเมล็ดฟ้ายต่อปริมาณการกินได้, การเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการหมักในกระเพาะหมักและปริมาณน้ำนมในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Item	Animal	DMI (kg/d)	ADG (kg/d)	Milk (kg/d)	Volatile fatty acid (%)		
					C2	C3	C4
Sunflower seed, SFS							
Control	Finishing	7.38	0.96	-	-	-	-
9% SFS	steers ¹	8.19	1.22	-	-	-	-
14% SFS		8.25	1.36	-	-	-	-
Control	Holstein	15.60	-	25.4 ^d	59.3 ^d	21.8	16.6 ^b
10% SFS	cows ²	15.80	-	28.7 ^b	60.5 ^d	20.7	15.7 ^{ab}
20% SFS		16.60	-	26.8 ^{ab}	64.7 ^b	21.0	12.8 ^a
30% SFS		16.20	-	26.6 ^{ab}	62.8 ^{ab}	22.1	12.6 ^a
Sunflower oil, SFO							
Control	Alpine	1.98 ^d	2.37 ^d	-	-	-	-
FLS	goats ³	1.85 ^b	2.13 ^b	-	-	-	-
3.6% SFO		1.90 ^b	2.27 ^d	-	-	-	-
Control	Steers ⁴	7.60	1.06 ^b	-	-	-	-
6% SFO		6.53	1.23 ^d	-	-	-	-
Control	Steers ⁵	8.73	-	-	68.0 ^d	18.3 ^b	9.9
5% SFO		8.70	-	-	64.0 ^b	21.2 ^a	10.4
Whole cottonseed, WCS							
6 % fat (3 % FFA)	Cows ⁶	21.50	-	32.90	-	-	-
6 % fat (6 % FFA)		22.80	-	35.70	-	-	-
6 % fat (9 % FFA)		22.10	-	32.00	-	-	-
6 % fat (12 % FFA)		23.00	-	33.80	-	-	-
control	Steers ⁷	-	-	-	66.90 ^c	15.80	12.90 ^A
10% WCS		-	-	-	68.80 ^A	16.20	10.80 ^B

^{A,B} Within a column means without a common superscript letter differ ($P < 0.01$).

^{a,b} Within a column means without a common superscript letter differ ($P < 0.05$).

FLS = formaldehyde-treated linseed oil ; FFA = free fatty acid

¹Gibb et al. (2004) ; ²Rafalowski and Park (1982) ; ³Bernard et al. (2005) ; ⁴Mir et al. (2002)

⁵McGinn et al. (2004) ; ⁶Sullivan et al. (2004) ; ⁷Malcolm and Kiesling (1990)