

반추동물 생산물 유래 기능성 지방산 CLA

전승우, 배문희, 이홍구* (Seung-Woo Jeon, Moon-Hee Bae, Hong-Gu Lee*)

건국대학교 동물자원과학과

Department of Animal Science & Technology, Konkuk University

서론

최근 천연유래 기능성 성분에 대한 안전성, 편이성 관점에서의 연구가 활발해지면서 천연 유래 특정 성분들이 직, 간접적으로 인체의 각종 생리적 기능 조절 효과를 나타낸다는 사실들이 밝혀지고 있다. 이러한 이유로 이들 천연물 유래 생리활성 기능성 성분들의 이용도를 높이기 위하여 이들을 식품 내 효과적으로 축적시켜 고 기능성 식품생산 위한 연구와 개발이 활발해지고 있는데 Conjugated linoleic acid (CLA)도 그것들 중 하나다.

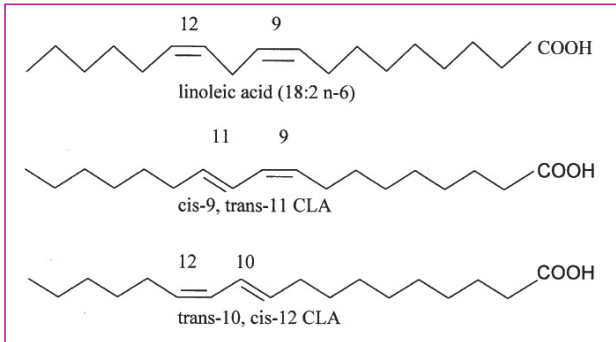
이 CLA는 cis형과 trans형을 가진 두 개의 이중 결합된 트랜스지방으로 항암(Doyle, 1998), 항산화(Park 등, 1998), 항동맥경화(Nicolosi 등, 1997), 면역성증가(Miller 등, 1994), 콜레스테롤저하(Lee 등, 1994), 체지방 감소효과(Thom 등, 2001), 항균효과(Wang 등, 1992) 및 당뇨병의 예방(Houseknecht 등, 1998) 등의 생리적 기능가지고 있는 기능성 지방산으로 널리 알려져 있다. 이와 같이 인체의 건강에 이로운 작용을 하는 것으로 알려짐에 따라 관심이 높아지고 있는데, 여러 종류의 CLA isomer(9/11, 10/12 및 11/13 등의 position) 중 cis-9, trans-11 CLA가 가장 많은 생리적 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

특히 반추가축의 생산물 즉 시유, 치즈, 고기와 버터 등에 천연 CLA가 많이 함유되어 있는데 이는 반추동물의 독특한 소화 생리에서 기인된다(Fogerty 등, 1988; Jiang 등, 1996). 반추동물 유래 식품에 존재하는 CLA의 함량은 유지방의 0.3~0.6%로 유지방 g 당 2.0~30 mg정도이며(Parodi, 1994), 쇠고기에서는 이보다 더 낮은 것으로 보고되고 있다. 하지만 Chin 등 (1992) 은 CLA의 효과를 보기 위해서는 그 이상의 함량을 함유하는 것이 기능성 식품으로 인정되어진다고 보고하였다. 이와 같은 이유로 반추동물 유래 생산물에서 고기능성 천연 CLA를 높이기 위한 심도 있는 연구와 노력이 필요한 실정이다.

따라서 본 논고에서는 반추동물 유래의 생산물에서 기능성 지방산으로 알려져 있는 CLA의 특성 및 체내 합성 기전

*Corresponding author: Hong-Gu Lee
Department of Animal Science and Technology, Konkuk University,
Seoul 143-701, South Korea
Tel: +82-2-450-0523
Fax: +82-2-455-1044
E-mail: hglee66@konkuk.ac.kr

Figure 1. Structure of Linoleic acid, cis-9, trans-11 CLA and trans-10, cis-12 (Evans *et al.*, 2002)



과 생산물중 CLA를 높이기 위한 연구동향을 살펴보기로 한다.

본 론

I. CLA의 구조

CLA는 구조적으로 탄소수 18개로 이들 탄소의 결합중 두 개의 불포화 결합(C9와 C10사이, C12와 C13사이)이 기하학적으로 또는 위치상에서 리놀레인산(linoleic acid)과 다른 시스(cis) 및 트랜스(trans) 이성체(예, c-9, t-11; t-10, C-12; t-9, t-11;과 t-10, t-12-octadecadienoic acid 등)를 나타내고 있는 혼합물을 말한다. 비록 28개의 서로 다른 이성질체가 동정되었지만 이들 이성체들 모두가 생물학적으로 인체에 유익한 기능을 가졌다 하더라도 지금까지 알려진 CLA이성질체 중 다음 두 가지 이성체가 가장 널리 알려져 있다. 그것은 바로 반추동물유래 생산물중 전체 CLA의 72~94%를 차지하고 있는 cis-9, trans-11 isomer (c9, t11 CLA 또는 rumenic acid라 불림)이고 다른 하나는 trans-10, cis-12 isomer (t10, c12 CLA)이지만 이 CLA는 반추동물 식품에 미량 함유되어있다. 이들의 구조적 차이점은 linoleic acid의 기본구조에서 이중결합의 위치만 그림 1과 같이 변한 차이이다.

II. CLA의 건강기능성

CLA의 건강기능성에 대한 연구의 시작은 Ha 등(1987)이 항암작용을 밝히면서부터 시작되었다. 초기연구는 사람과 동물 암세포 및 실험동물 모델을 이용한 많은 항암 연구가 진행되었는데 주요 항암기작은 암세포의 자살(apoptosis)을 유도하는 것을 비롯하여 다양한 항암 기작 규명 연구가 보고되고 있다(Doyle, 1998, Kim 등, 2003). 특히 CLA 중 cis-9, trans-11형 CLA의 건강 기능성 생리적작용이 다양한 분야에서 보고되고 있는데 그 연구내용을 간단히 요약하면, 죽상동맥경화증 유전자의 활성 감소(Arbonés-Mainar 등, 2006), 심각한 기관지 상피 세포, 호산구, 백색 지방 조직의 항염증 효과(De Roos 등, 2005; Jaudszus 등, 2005; Moloney 등, 2007), 대식세포의 유착 방지(Lee 와 Vanden Heuvel, 2010), 신경 전구 세포 증식 강화(Wang 등, 2011)가 있다. 또 다른 중요한 CLA 이성체인 trans-10, cis-12형 CLA는 cis-9, trans-11형 CLA와 구별되는 몇 가지 효과를 나타낸다(Pariza 등, 2001). 재미있는 것은 젖소에서 이것이 증가되면 우유의 지방 합성을 억제시켜 유지방량 감소의 원인이 되기도 하여 생산물내 trans-10, cis-12형 CLA생성은 감소되고 cis-9, trans-11형 CLA생성을 증가시키는 연구가 요구되어진다(Baumgard 등, 2001). Warren 등 (2003)의 생쥐실험에 의하면 trans-10, cis-12형 CLA가 증가함에 따라 간 지질 및 지방 조직내 지질이 감소한 반면, cis-9, trans-11형 CLA는 이러한 효과가 없었다고 하였고, HDL 콜레스테롤 비율이 증가한다는(Tricon 등, 2004) 보고 등을 비추어 볼 때 향후 trans-10, cis-12형 CLA에 대한 건강 기능성 효과에 대한 보다 다양한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

III. 반추동물 유래 식품에 존재하는 CLA함량

이러한 CLA는 반추동물유래의 식품에서는 단위 지방당 CLA의 함량이 다른 식품에 비하여 높게 나타난다. 일반적으로 반추동물 유래 식품에 존재하는 CLA의 함량은 유지방의 0.3~0.6%로 유지방 g 당 2.0~30 mg정도이며

Table 2. CLA content of milk and meat (Dhiman et. al., 2005)

Samples*	Total CLA** (% of fat)	c9, t11 CLA***(%)	Samples*	Total CLA** (% of fat)	c9, t11 CLA***(%)
Fluid milk products			Ruminants		
Whole milk	0.34~0.68	82~97	Beef		
Evaporated milk	0.49	-	Ground	0.16~0.43	72~85
UHT milk	0.80	-	Round	0.29~0.68	51~79
Homogenized milk	0.55	92	Ribeye	0.30~0.64	61
Condensed milk	0.63~0.70	82	T-bone	0.61	59
Cultured butter milk	0.54~0.67	89	Sirloin	0.12~0.58	59
Cheeses			Frank	0.33	83
Cheddar	0.40~0.53	78~82	Smoked sausage	0.38	84
Feta	0.49	81	Veal	0.27	84
Cottage	0.45~0.59	83	Lamb	0.18~1.20	92
Mozzarella	0.34~0.50	78~95	Non-ruminants		
Processed cheese	0.41~1.07	75	Turkey	0.20~0.25	40~76
Processed American	0.36~0.50	79~93	Turkey frank	0.16	70
Processed Cheddar	0.50	84	Smoked Turkey	0.24	62
Processed Parmesan	0.53	-	Pork	0.06~0.13	25~82
Fermented dairy products			Smoked bacon	0.17	76
Plain yogert	0.38~0.88	83~84	Chicken	0.09~0.15	67~84
Lowfat yogert	0.44	86	Rabbit	0.11	27
Butter	0.47~0.94	78~88	Plant oil		
Sour cream	0.46~0.75	78~90	Sunflower oil		0.04
Ice cream	0.36~0.50	76~86	Soybean oil		2.39

* Numerical superscripts next to samples correspond to reference numbers cited in the reference section. ** Values are mean or minimum and maximum levels. *** Data are expressed as % of total CLA isomers.

(Parodi, 1994) 이들 중 cis-9, trans-11 CLA 함량은 75~90% 정도이며(Beata Paszczyk 등 2015), trans-10, cis-12 CLA 함량은 2.4~18% (Piperova 등, 2000)이다. 쇠고기에서는 g 당 1 mg정도이며, cis-9, trans-11 CLA 함량은 전체 CLA 중 85%정도(Chin 등, 1992) 더 낮은 것으로 보고되고 있다. 반추동물 및 비반추동물 유래 생산물중 함유된 CLA 함량은 표 2와 같다. 자료에서 보는 바와 같이 다른 축산물에 비하여 반추가축의 생산물에서 CLA 함량이 높게 나타나는 것을 알 수 있다. 아울러 CLA 전구물질인 TVA의 경우 CLA 함량에 3~5배 정도로 높은 함량을 나타내는데, 최근 이러한 TVA가 직·간접적으로 유방암세포의 증식을 억제한다는 결과 등이 보고되면서 반추동물 유래 생산물중 TVA의 건강기능성에 대하여 관심이 증대되고 있다.

IV. 반추동물에서 CLA의 합성기전

1. 반추위(Rumen)

반추동물은 자연계에서 주된 영양소원이 되는 풀을 소화시키기 위하여 반추위가 발달되었고 이러한 반추위내에는 미생물이 서식하는데 특이하게도 이들의 도움을 받아 풀을 소화시켜 살아가는 동물이다. 따라서 풀속에 포함되어있는 지질역시 반추위내 미생물의 소화를 받게 된다. 즉, 반추위에 서식하고 있는 미생물(박테리아)은 혐기적 상태에서 수소첨가(hydrogenation)작용을 통하여 섭취된 지질(lipids)을 분해하고, 분해 산물 중 불포화지방산을 포화지방산으로 변화시킬 뿐만 아니라 그 과정 중에 자연계에서는 특수한 경우를 제외하고는 포함되지 않은 매우

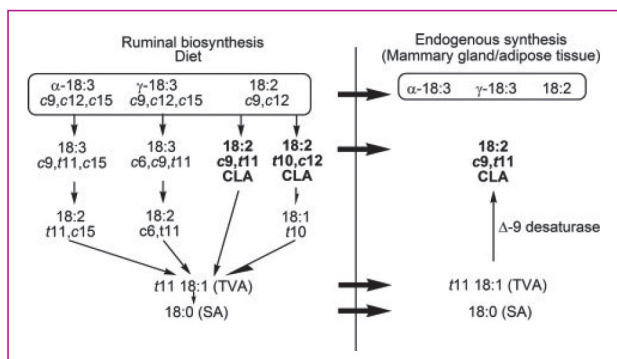
Table 3. Bacterial strains in the metabolic production of cis-9, trans-11 CLA and trans-11 vaccenic acid (Wang and Lee, 2015.)

Strain	Substrate	Production	References
<i>Bifidobacterium breve</i>	linoleic acid	cis-9, trans-11 CLA	Park <i>et al.</i> , 2011
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	linoleic acid	CLA	Kim <i>et al.</i> , 2000; Fukuda <i>et al.</i> , 2005
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	linoleic acid	cis-9, trans-11 CLA	Irmak <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactobacillus brevis</i>	sunflower oil	CLA	Puniya <i>et al.</i> , 2008
<i>Lactobacillus lactis</i>	sunflower oil	CLA	Puniya <i>et al.</i> , 2008; Rodríguez-Alcalá <i>et al.</i> , 2010
<i>Lactobacillus plantarum</i> AKU 1009a	linoleic acid	cis-9, trans-11 CLA	Kishino <i>et al.</i> , 2002; Ogawa <i>et al.</i> , 2005
<i>Lactobacillus reuteri</i>	linoleic acid	cis-9, trans-11 CLA	Lee <i>et al.</i> , 2003
<i>Propionibacterium freudenreichi</i>	linoleic acid	cis-9, trans-11 CLA	Jiang <i>et al.</i> , 1998

특이한 지방산을 생성한다. 그 중 하나가 conjugated linoleic acid (CLA)이다. 반추동물의 반추위와 조직에서 생성되는 기전은 그림 2와 같다.

일반적으로 반추동물의 경우 반추위내 불포화 지방산의 수소첨가반응(biohydrogenation)은 여러 단계에서 이루어지는데 이러한 단계에서 단일 반추위 박테리아 종이 전체의 수소첨가반응을 촉매하지는 않고 반추위에서 서식

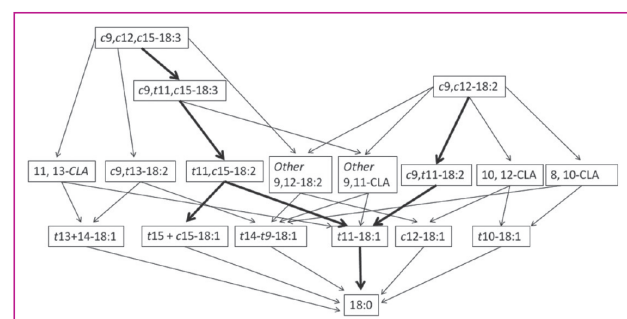
Figure 2. Proposed pathways of CLA biosynthesis by biohydrogenation and endogenous synthesis via desaturase. TVA, Trans-vaccenic acid; SA, stearic acid; biohydrogenation and desaturase pathways; pathway that occurs during milk fat depression. (Adamczak 등, 2008)



하는 *Butyrivibrio fibrisolvens* bacteria를 비롯하여 다양한 미생물(표 3)에 의하여 리놀레인산의 가수소화 반응과정의 중간산물로서 CLA가 만들어진다.

CLA 및 CLA 전구물질인 TVA가 반추위 내에서 생성되는 과정은 다양한 기전을 통하여 이루어진다. 먼저 공급되어지는 Linoleic acid(C18:2)의 이성질화(isomeration)로 인하여 cis-9, trans-11 CLA(C18:2) 그리고 TVA로 전변되거나 trans-10, cis-12 CLA로 전변되는 2가지의 기작을 가지고 있다. 아울러 Linolenic acid(C18:3)의 경우는 수소

Figure 3. Biohydrogenation pathways in the rumen. Linoleic acid: c9,c12-18:2; Linolenic acid:c9,c12,c15-18:3. (Chilliard *et al.* 2007)



첨가 및 이성질화(isomeration)로 인하여 CLA는 직접적으로 생성하지 않으나 TVA(trans-11 C18:1)로 전변되어 유선 및 지방조직의 cis-9, trans-11 CLA의 전구물질로 이용되어 진다(그림 3). 따라서 CLA는 반추위내에서 미생물에 의한 linoleic acid의 수소첨가 과정에서 생성되는 것으로 반추위 미생물의 지방산 대사기능의 조절에 따라 CLA를 보다 많이 생성시킬 수 있다. 이러한 반추위 미생물의 수소첨가반응은 단순히 불포화지방산을 포화지방산으로의 전변과 함께 자연계에서 존재하지 않는 특이한 지방산을 생성하는 독특한 시스템이라는 측면에서 반추동물 유래 생산물에서 더 많은 기능성 지방산의 발굴이 가능할거라 생각의 근거가 되기도 하다.

2. 유선 및 지방조직

반추동물 유래 생산물에서 CLA 함량 증가를 위한 연구가 활발하게 진행되면서 trans-11 C18:1 지방산(Trans vaccenic acid, TVA)이 유선 및 지방조직에서 CLA로 전변할 수 있다는 많은 연구가 보고되고 있다 (Field 등, 2009). 이들의 연구에 의하면 반추동물에서 TVA가 유선조직에서 CLA로 전변한 효율은 전체 CLA합성의 60%이상 차지하며 사료원료에 따라 최대 90%이상까지 가능한 것으로 알려져 있다. 또한 단위동물인 생쥐(Santora 등, 2000; Loor 등, 2002), rat(Banni 등, 2001; Corl 등, 2003; Jin 등, 2009)와 사람(Salminen 등, 1998; Adlof 등, 2000)에서도 TVA를 섭취에 따라 CLA로 전변되는 것이 확인 되었는데, 이러한 원인은 TVA는 cis-9, trans-11 CLA의 전구물질로서 인체 및 동물생체에서 SCD (stearoyl-CoA desaturase 또는 delta-9 desaturase)효소에 의해 cis-9, trans-11 CLA로 전변되기 때문이다. 반추동물의 경우 linolenic acid 가 많이 포함된 linseed oil을 사료로 급여 할 경우 반추위에서 미생물의 작용으로 linolenic acid는 주로 TVA로 hydration 되면서 다량 생성되는데 이것이 유선 및 지방조직에서 다시 SCD효소의 작용에 의하여 cis-9, trans-11 CLA로 전변되기 기전이 다른 동물에 비하여 뛰어나다 (Bauman 등, 2000). 따라서 보다 높은 쇠고기 및 우유내 CLA를 높이기

위하여서는 TVA를 이용한 유선 및 지방조직에서의 CLA 함량의 증가를 위한 보다 과학적인 연구가 필요한데 최근 필자의 연구팀에서 이러한 유선에서의 CLA합성에 관여하는 다양한 단백질을 발굴하여 보고하였다. 이중 PGAM1 단백질은 TVA가 유선상피세포의 세포막으로의 유입을 도와주는 단백질로 밝혀져(Wang T 등, 2015), 향후 이들을 이용한 유선내 CLA함량 증가를 위해 효과적으로 활용된다면 보다 높은 CLA우유 생산이 가능할거라 생각된다.

V. 반추동물 유래 식품에서 천연 CLA를 높이기 위한 최근연구 동향

반추가축으로부터 생산되는 식품 즉 쇠고기나 우유에서의 CLA 함량을 높이기 위하여 지난 수십 년간 줄곧 사료 조절 및 사료 내 지방 공급원을 달리 할 때 어떻게 그 함량이 달라지는가에 대한 연구가 주류를 이루어왔다. 그 연구내용을 살펴보면 다음과 같다.

1. 쇠고기

반추동물 고기에서 CLA 함량을 높이기 위한 방법으로 방목 및 조사료와 농후사료의 비율 조절에 의한 방법 (Dhiman 등, 1996)과, 리놀레인산(linoleic acid)의 함량이 풍부한 식물성 오일(oil)을 함유한 사료를 육우에게 급여하는 방법이 보고되고 있지만(Dhiman 등, 2000) 불포화도가 높은 식물성 프리 오일(free oil)를 급여할 경우 반추위내의 미생물의 활성을 억제하고 섬유소원의 피복 등으로 인한 소화율이 감소하며(Kowalczyk 등, 1977) 불포화 지방산이 반추위내 미생물에 의해 포화지방산으로 빠르게 전변되면서 CLA의 합성기회를 감소시킨다. 특히 비육 말기 농후사료 다량 급여 사양시스템에서 리놀레인산의 급여는 지방합성 억제작용이 있는 trans-10, cis-12 CLA가 증가되기 때문에 고급육 형성에 좋지 못한 원인이 될 수 있다. 따라서 리놀레인산 또는 리놀레닌산의 함량이 풍부한 식물성 오일을 사료에 증가시켜 육중 CLA를 높이

고 근내지방에 영향을 주지 않으며 리놀레인산 또는 리놀레닌산의 함량이 풍부한 오일의 CLA로의 전변효율을 극대화 시킬 수 있는 기술개발이 요구된다. Renee M. Petri 등 (2014)의 연구에 의하면 조사료와 농후사료의 비율을 70:30을 기반으로 한 육우에게 아마씨와 해바라기씨를 건초와 청초로 구분하여 급여한 결과, 아마씨 건초를 급여한 육우의 CLA가 증가하였다. I. Gómez 등 (2015)은 홀스타인 수소에게 아마씨와 CLA보호제를 급여한 결과, 아마씨 혹은 CLA보호제를 단독으로 급여한 근육보다 아마씨와 CLA보호제를 혼합 급여한 근육 내 CLA가 더 증가하였다. 이러한 결과는 육우에 있어 리놀레인산 또는 리놀레닌산의 함량이 풍부한 식물성 첨가물을 급여 하는 것이 근육 내 CLA 함량 증가에 유리할 것으로 볼 수 있다.

2. 우유

여러 해 동안 젖소에서 많은 연구자들의 실험결과를 종합해 보면, 반추가축의 생산물에서 CLA 생산성을 높일 수 있는 가능성은 다음과 같은 두 가지의 방법으로 요약할 수 있다. 첫 번째로 공급하는 사료지방의 조절 즉 C18:2 또는 C18:3의 함량이 많은 지질(전지대두, 낙화생류, 해바라기유, 아마유, 채종유 등)을 사료에 첨가하여 공급하는 방법, 혹은 농후사료와 조사료의 비율을 달리하는 방법이다(Bauman 등, 1999; Kelly 등, 1997; 1998; Dhiman 등, 1997; Lawless 등, 1998; Xiang 등, 2015; Siurana, 2016). 두 번째 방법으로는 반추위 미생물의 환경을 변화시키는 방법인데 그 좋은 예가 Ionophore의 하나인 monensin (모넨신)을 사용하는 것이다(Chouinard 등, 1998; Dhiman 등, 1999; Wonsil 등, 1994). 그 외에 신선하고 양질의 조사료를 공급하는 방법이라고 할 수 있다. 또한 최근 국제사회는 항생제 투여의 제한으로 인한 국제사회의 인식의 변화와 세계 곡물가의 상승으로 인하여, 항생제 대체 및

CLA를 증가시키는 천연물질 및 각종 부산물들을 이용한 연구가 진행되어지고 있다. 따라서 부존 사료자원으로서 각종 부산물들을 이용한 사료자원을 확보하고, 저비용의 투입으로 고품질의 축산물을 생산하려는 연구가 제시되고 있다(Baek 등, 2004). Kim 등 (2011)의 연구에 의하면 바이오디젤유 부산물(Bio-diesel byproduct, BDB)을 비유중기 젖소에게 급여한 결과, 우유의 Stearic acid와 Oleic acid 함량은 감소한 반면, total CLA 함량은 증가하였다. 아울러 Kim 등 (2016)에 의하면 젖소에게 잣나무 부산물 추출 피톤치드(0.016%/feed)를 급여 실험한 결과, 우유 내 cis-9, trans-11 CLA와 trans-10, cis-12 CLA 함량이 증가하였다. 이러한 결과는 착유우 사료에 부산물 부존자원을 이용한 환경친화적 고품질 축산물 생산한다는 측면에서 주목되어진다.

결론

이상과 같이 반추동물은 천연 CLA를 생산할 수 있는 독특한 소화생리를 가지고 있어 기능성 CLA 고함유 축산식품을 생산에 유리하다. 하지만 지금까지 유지원료사료를 이용한 CLA함량증가를 위한 연구가 주류를 이루어 왔는데 유선 및 지방조직에서도 CLA합성이 가능하므로 이들에 대한 연구를 활발히 수행한다면 현재의 CLA함량보다 더 많은 반추동물 유래 천연 CLA함유 축산물 생산이 가능하게 될 것이다. 이러한 노력은 결국 우유와 쇠고기 내 동물성 지방에 대한 소비자들의 인식개선과 위축된 축산물 소비촉진에 기여될 거라 생각한다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 외부공동연구과제(과제번호: PJ01002303)로 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

Reference

1. Adamczak, Marek, Uwe T. Bornscheuer, and Włodzimierz Bednarski. 2008. Properties and biotechnological methods to produce lipids containing conjugated linoleic acid. *European journal of lipid science and technology* 110,6: 491–504
2. Adlof, R.O., Duval, S., Emken, E.A. 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans, *Lipids* 35(2): 131–135
3. Arbores–Mainar, J. M., Navarro, M. A., Acín, S., Guzmán, M. A., Arnal, C., Surra, J. C., Carnicer, R., Roche, H. M. and Osada, J. 2006. Trans–10, cis12– and cis–9, trans–11–conjugated linoleic acid isomers selectively modify HDL–apolipoprotein composition in apolipoprotein E knockout mice, *J. Nutr.* 136(2): 353–359
4. A. Siurana, S. Calsamiglia. 2016. A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *J. Animal Feed Science and Technology*. 13–26
5. Baek, I. K., W. J. Maeng, S. H. Lee, H. G. Lee, S. R. Lee, J. K. Ha, S. S. Lee, and J. H. Hwang. 2004. Effects of the brown seaweed residues supplementation on in vitro fermentation and milk production and composition of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci. & Technol.* 46: 373–386
6. Banni, S., Angioni, E., Murru, E., Carta, G., Melis, M.P., Bauman, D., Dong, Y., Ip, C. 2001. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland, *Nutr. Cancer* 41(1–2): 91–97
7. Baumgard, L. H., Sangster, J. K. and Bauman, D. E. 2001. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans–10, cis–12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.* 131(6): 1764–1769
8. Chin, S. F., W. Liu, J. M. Storkson, Y. L. Ha, and M. W. Pariza. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.* 5: 185–197
9. Corl, B.A., Barbano, D.M., Bauman, D.E., and Ip, C. 2003. cis–9, trans–11 CLA derived endogenously from trans–11 18:1 reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 133: 2893–2900
10. De Roos, B., Rucklidge, G., Reid, M., Ross, K., Duncan, G., Navarro, M. A., Arbones–Mainar, J. M., Guzman–Garcia, M. A., Osada, J., Browne, J., Loscher, C. E. and Roche, H. M. 2005. Divergent mechanisms of cis9, trans11– and trans10, cis12– conjugated linoleic acid affecting insulin resistance and inflammation in apolipoprotein E knockout mice: A proteomics approach. *FASEB J.* 19(12): 1746–1748
11. Dhiman, T. R., E. D. Helmink, D. J. McMahon, R. L. Fife, and M. W. Pariza. 1999a. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci* 82: 412–419
12. Dhiman, T.R. Dhiman, S.H. Nam, A.L. Ure. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 45: 463–482
13. Doyle, E. 1998. Scientific forum explores CLA knowledge. *INFORM*, 9: 69–73
14. Emken, E. A. 1995. Trans fatty acids and coronary heart disease risk: physicochemical properties, intake, and metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 659S–669S
15. Evans M, Brown J, McIntosh M. 2002. Isomer–specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem*, 13: 508–516
16. Fogerty, A. C., G. L. Ford, and D. Svoronos. 1988. Octadeca9,11–dienoic acid in foodstuffs and in the lipids of human blood and breast milk. *Nutr. Rep. Int.* 38: 937–944
17. Field, C.J., Blewett, H.H., Proctor, S., and Vine, D. 2009. Human health benefits of vaccenic acid. *Footnote: Reprinted from the Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(5): 979–991
18. Fukuda, S., Furuya, H., Suzuki, Y., Asanuma, N., and Hino, T. 2005. A new strain of *Butyrivibrio fibrisolvens* that has high ability to isomerize linoleic acid to conjugated linoleic acid. *Journal of General and Applied Microbiology*, 51: 105–113
19. Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W. 1987. Anticarcinogens from Fried Ground Beef: Heat Altered Derivatives of Linoleic Acid. *Carcinogenesis*, 8: 1881–1887
20. Houseknecht, K. L., J. P. Vanden Heuvel, S. Y. Moya–Camarena, C. P. Portocarrero, L. W. Peck, K. P. Nickel, and M. A. Belury. 1998.

- Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat, *Biochem, Biophys. Res. Commun.* 244: 678–682
21. I. Gómez, J.A. Mendizabal, M.V. Sarriés, K. Insausti, P. Albertí, C. Realini, M.J. Beriain, 2015. Fatty acid composition of young Holstein bulls fed whole linseed and rumen-protected conjugated linoleic acid enriched diets, *Livestock Science*, 180, pp. 106–112
 22. Irmak, S., Dunford, N.T., Gilliland, S.E., Banskalieva, V. and Eisenmenger, M, 2006. Biocatalysis of linoleic acid to conjugated linoleic acid, *Lipids*, 41: 771–776
 23. Jaudszus, A., Foerster, M., Kroegel, C., Wolf, L. and Jahreis, G, 2005. Cis-9, Trans-11-CLA exerts anti-inflammatory effects in human bronchial epithelial cells and eosinophils: Comparison to Trans-10, Cis-12-CLA and to linoleic acid, *BBA-Mol. Cell Biol. L.* 1737(2–3): 111–118
 24. Jin YC, Lee HG, Xu CX, Han JA, Choi SH, Song MK, Kim YJ, Lee KB, Kim SK, Kang HS, Cho BW, Shin TS, Choi YJ. 2009. Proteomic analysis of endogenous conjugated linoleic acid biosynthesis in lactating rats and mouse mammary gland epithelia cells (HC11), *Biochim Biophys Acta*. Nov 26
 25. Jiang, J., L. Bjoerck, R. Fonden, and M. Emanuelson, 1996. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen, *J. Dairy Sci.* 79: 438–445
 26. Jiang, J., Bjoerck, L., and Fonden, R. 1998. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures, *Journal of Applied Microbiology*, 85: 95–102
 27. Kim, I. H., Kim, H. K., Lee, K. T., Chung, S. H and, Ko, S. N. 2001. Lipase-catalyzed incorporation of conjugated acid into tricaprylin, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78: 547–551
 28. Kim, Y. J., Liu, R. H., Bond, D. R., and Russell, J. B. 2000. Effect of Linoleic Acid Concentration on Conjugated Linoleic Acid Production by *Butyrivibrio fibrisolvens* A38, *Applied and Environmental Microbiology*, 66(12): 5226–5230
 29. Kim, M.J, Jung, U. S, Jeon, S. W, Lee, J. S, Kim, W. S, Lee, S. B, Kim, Y.C, Kim, B.Y, Wang, T, Lee, H.G. 2016. Improvement of Milk Fatty Acid Composition for Production of Functional Milk by Dietary Phytoncide Oil Extracted from Discarded Pine Nut Cones (*Pinus koraiensis*) in Holstein Dairy Cows, *Asian Australas. J. Anim. Sci.* ED16–0281
 30. Kim, S. B, Ku, M. J, Lim, D. H, Lee, H. J, Park, S. J, Kwon, E. G, Kim, S. C, Park, J. K. 2011. Effects on the Levels of Dietary Conjugated Linoleic Acid (CLA) Produced from Bio-Diesel By-Products on the Production and Composition of Dairy Cow Milk, *J. Anim. Sci. & Technol.* 45: 63–71
 31. Kim, Y. J., Lee, K. W., Lee, S.; Kim, H. and Lee, H. J. 2003. The production of high-purity conjugated linoleic acid (CLA) using two-step urea-inclusion crystallization and hydrophilic arginine-CLA complex, *J. Food Sci.* 68: 1948–1951
 32. Kishino, S., Ogawa, J., Omura, Y., Matsumura, K., and Shimizu, S. 2002. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79: 159–163
 33. Lawless, F., J. J. Murphy, D. Harrington, R. Devery, and C. Stanton. 1998. Elevation of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation, *J. Dairy Sci.* 81: 3259–3267
 34. Lee, K. N., D. Kritchevsky, and M. W. Pariza. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits, *Atherosclerosis* 108: 19–25
 35. Lee, S.O., Kim, C.S., Cho, S.K., Choi, H.J., Ji, G.E., and Oh, D.K. 2003. Bioconversion of linoleic acid into conjugated linoleic acid during fermentation and by washed cells of *Lactobacillus reuteri*, *Biotechnology Letters*, 25: 935–938
 36. Lee, Y. and Vanden Heuvel, J. P. 2010. Inhibition of macrophage adhesion activity by 9trans, 11trans-conjugated linoleic acid, *J. Nutr. Biochem.* 21(6): 490–497
 37. Loor, J.J., Lin, X., Herbein, J.H. 2002. Dietary trans-vaccenic acid (trans11–18:1) increases concentration of cis9, trans11-conjugated linoleic acid (rumenic acid) in tissues of lactating mice and suckling pups, *Reprod. Nutr. Dev.* 42(2): 85–99
 38. Miller, A., McGrath, E., Stanton, C., and Devery, R. 2003. Vaccenic acid (t11–18:1) is converted to c9, t11-CLA in MCF-7 and SW480 cancer cells, *Lipids*, 38: 623–632
 39. Miller, C. C., Y. Park, M. W. Pariza, and M. E. Cook, 1994. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection, *Biochem, Biophys. Res. Commun.* 198: 1107–1112

40. Moloney, F., Toomey, S., Noone, E., Nugent, A., Allan, B., Loscher, C. E. and Roche, H. M. 2007. Antidiabetic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid may be mediated via anti-inflammatory effects in white adipose tissue, *Diabetes* 56: 574-582
41. Nicolosi, R. J., E. J. Rogers, D. Kritchevsky, J. A. Scimeca, and P. J. Huth. 1997. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters, *Artery* 22: 266-277
42. Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K., and Shimizu, S. 2005. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(4): 355-364
43. Parodi, Peter W. 1994. Conjugated linoleic acid: An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat, *Australian Journal of Dairy Technology* 49,2 (Nov 1994): 93-97
44. Pariza, M. W., Park, Y. H. and Cook, M. E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid, *Prog. Lipid Res.* 40: 283-298
45. Park, H.G., Heo, W., Kim, S.B., Kim, H.S., Bae, G.S., Chung, S.H., Seo, H.C., and Kim, Y.J. 2011. Production of conjugated linoleic acid (CLA) by *Bifidobacterium breve* LMC520 and its compatibility with CLA-producing rumen bacteria, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(3): 984-988
46. Park HS, Ryu JH, Ha YL, Park JH. 2001. Dietary conjugated linoleic acid induces apoptosis of colonic mucosa in 1, 2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA, *Br J Nutr.* 86: 549-555
47. Paszczyk, Beata, and Ryszard Rafałowski. 2015. Conjugated linoleic acid (cis-9, trans-11 C18:2, CLA) and trans isomers of C18:1 and C18:2 acids in yoghurts, kefir and mold cheeses, publisher UWM : 73
48. Petri, R. M., Mapiye, C., Dugan, M. E. R., McAllister, T. A. 2014. Subcutaneous adipose fatty acid profiles and related rumen bacterial populations of steers fed red clover or grass hay diets containing flax or sunflower-seed, *PLoS ONE* 9, e104167
49. Piperova, Liliana S., et al. 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet, *The Journal of nutrition* 130,10:2568-2574
50. Puniya, A.K., Chaitanya, S., Tyagi, A.K., De S., and Singh, K. 2008. Conjugated linoleic acid producing potential of lactobacilli isolated from the rumen of cattle, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(11): 1223-1228
51. Renee M. Petri, Cletos Mapiye, Mike E. R. Dugan, Tim A. McAllister. 2014. Subcutaneous Adipose Fatty Acid Profiles and Related Rumen Bacterial Populations of Steers Fed Red Clover or Grass Hay Diets Containing Flax or Sunflower-Seed, *journal.pone*, 0104167
52. Rodríguez-Alcalá, L.M., and Fontecha, J. 2007. Hot topic: Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomer composition of commercial CLA-fortified dairy products: evaluation after processing and storage, *Journal of Dairy Science*, 90(5): 2083-2090
53. Salminen, I., Mutanen, M., Jauhiainen, M., Aro, A. 1998. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum, *J. Nutr. Biochem.* 9(2): 93-98
54. Santora, J.E., Palmquist, D.L., Roehrig, K.L. 2000. Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice, *J. Nutr.* 130 (2): 208-215
55. Siurana, A., and S. Calsamiglia. 2016. A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption, *Animal Feed Science and Technology* 217: 13-26
56. Sylvane Desrivieres et al. 2003. Comparative proteomic analysis of proliferating and functionally differentiated mammary epithelial cells, *Molecular & Cellular Proteomics*, 2(10): 1039-54
57. Thom, E., Wadstein, J., Gudmundsen, 2001. O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in health exercising humans, *J. Int. Med. Res.* 29: 392-396
58. Tricon, S., Burdge, G. C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J. J., Jones, E. L., Grimble, R. F., Williams, C.M., Yaqoob, P. and Calder, P.C. 2004. Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 614-620
59. T. Wang, S. B. Lee, J. H. Hwang, J. N. Lim, U. S. Jung, M. J. Kim, H. S. Kang, S. H. Choi, J. S. Lee, S. G. Roh & H. G. Lee. 2015. Proteomic Analysis Reveals PGAM1 Altering cis-9, trans-11 Conjugated Linoleic Acid Synthesis in Bovine Mammary Gland, *Lipids*

50: 469–481

60. Wang, H., Liu, T., Wang, J., Qi, Y., Ge, D. and Guan, S. 2011. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid on proliferative activity of cultured neural progenitor cells. *Mol. Cell. Biochem.* 358(1–2): 13–20
61. Wang LL, Johnson EA. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 624–629
62. Warren, J. M., Simon, V. A., Bartolini, G., Erickson, K. L., Mackey, B. E. and Kelley, D. S. 2003. Trans-10, cis-12 CLA increases liver and decreases adipose tissue lipids in mice: Possible roles of specific lipid metabolism genes. *Lipids* 38(5): 497–504
63. Wolff, R.L., Combe, N.A., Destailats, F., Boue, C., Precht, D., Molkenin, J., and Entressangles, B. 2000. Follow-up of the delta4 to delta16 trans-18:1 isomer profile and content in French processed foods containing partially hydrogenated vegetable oils during the period 1995–1999. Analytical and nutritional implications. *Lipids*, 35: 815–825
64. X.Z. Li, Q.S. Gao, C.G. Yan, S.H. Choi, J.S. Shin, M.K. Song. 2015. Conjugated fatty acids and methane production by rumen microbes when incubated with linseed oil alone or mixed with fish oil and/or malate. *Anim. Sci. J.*, 86(8), pp. 755–764
65. Yoo, I. K., Chang, H. N., Lee, E. G., Chang, K. C. and Moon, S. H. 1997. Effect of B vitamins on the lactic acid fermentation by *Lactobacillus casei*. *J. Ferment. Bioeng.*, 84(2): 172–175