

KONJUGE LİNOLEİK ASİTLERİN ÖNEMİ VE BAZI PROBİYOTİK SUŞLAR TARAFINDAN ÜRETİMİ

Recep Güneş¹, Ahmet Şükrü Demirci^{2*}

¹Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kırklareli

²Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ

Geliş tarihi / *Received*: 17.12.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 23.02.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 12.03.2016

Özet

Konjuge linoleik asit (KLA), yağ asidi zincirinde iki adet doymamış çift bağ içeren linoleik asidin (LA) çeşitli pozisyonel ve geometrik izomerlerini ifade etmektedir. İzomerler, LA'nın geniş getiren hayvanların rumeninde stearik aside bakteriyel biyohidrojenasyonu esnasında ara ürün olarak veya memeli salgı bezi ve adipoz dokularında Δ^9 -desaturaz enzimi aracılığıyla *trans* vaksenik asidin desatürasyonu ile sentezlenmektedir. KLA izomerleri birçok gıdada bulunmakla birlikte ağırlıklı olarak geniş getiren hayvanlardan elde edilen et ve süt ürünlerinde bulunmaktadır. KLA izomerlerinin sağlık üzerine çeşitli olumlu etkilerinin olduğu, bununla beraber oluşturabilecekleri potansiyel endişeler de bazı araştırmalarda belirtilmiştir. KLA üretimi sadece rumen bakterilerine özgü olmayıp; bazı laktik asit ve propiyonik asit bakterilerinin yanı sıra süt ürünlerinden, insan ve hayvan bağırsağından izole edilen mikroorganizmaların da üretimde yer aldığı belirlenmiştir. Bu türlerin başta süt endüstrisi olmak üzere gıda sanayinde KLA ile zenginleştirilmiş geleneksel veya yeni fermente ürünlerin üretiminde kullanılması büyük önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Biyohidrojenasyon, konjuge linoleik asit, linoleik asit, probiyotik bakteriler.

IMPORTANCE OF CONJUGATED LINOLEIC ACIDS AND THEIR BIOPRODUCTION BY SOME PROBIOTIC STRAINS

Abstract

Conjugated linoleic acid (CLA) is a common term of various positional and geometric isomers of linoleic acid (LA) which contains two unsaturated double bonds in the fatty acid chains. Isomers are synthesized as an intermediate product during the bacterial biohydrogenation of LA to stearic acid in the rumen of ruminants or from the conversion of *trans* vaccenic acid by the Δ^9 -desaturase enzyme in the mammary glands and adipose tissues. CLA isomers are found in many foods, but mainly present in meat and dairy products obtained from ruminant animals. Although there are diverse positive effects of CLA isomers on health, some potential concerns that can be caused by these compounds have been stated in some studies. CLA production is not specific to rumen bacteria; it was determined that some lactic acid and propionic acid bacteria as well as microorganisms isolated from the milk products, human and animal intestines involved in the production. Therefore, use of these microorganisms in food industry, especially within the dairy branch, for the production of traditional or new fermented products enriched with CLA is a great importance.

Keywords: Biohydrogenation, conjugated linoleic acid, linoleic acid, probiotics.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ademirci@nku.edu.tr,

☎ (+90) 282 250 2165,

☎ (+90) 282 250 9954

GİRİŞ

Beslenmenin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, insülin direnci ve obezite gibi kronik hastalıkların ortaya çıkmasında veya önlenmesinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar giderek artmaktadır. Bu nedenle kronik hastalıkların olumsuz yöndeki ekonomik ve sosyal etkilerini azaltmak için insan sağlığına yararlı olan gıdaların, yeni beslenme konseptlerinin geliştirilmesi, aynı zamanda bu anlayışın halk sağlığına yönelik girişimlere öncülük olması gerekmektedir (1). Bu amaca yönelik olarak son yıllarda bilimsel araştırmacılar, gıdalardaki insan sağlığı üzerine olumlu etkiler gösteren biyolojik aktif bileşenlerin üzerine yönelmişlerdir (2, 3).

KLA, LA'nın izomerlerine verilen genel bir ad olup, bu spesifik konfigürasyon karbon zincirindeki çift bağların yer değiştirmesi ile oluşmaktadır (4, 5). Diğer bir ifadeyle KLA terimi, yağ asidi zincirinde iki adet doymamış çift bağ içeren LA'nın, çeşitli pozisyonel ve geometrik izomerlerini ifade etmektedir (6). Bu farklı izomerler arasında doğada en yaygın olarak *c9,11* oktadekadienoik asit ve *11,12* oktadekadienoik asit bulunmaktadır. İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda her iki izomerin özellikle farelerde göğüs, mide ve kolon kanseri hücrelerinin yayılmasına karşı olumlu etki gösterdiği, bunun yanı sıra organizmanın yağ modülasyonu ve ateroskleroz lezyonlarının azaltılması gibi diğer sağlık etkileriyle de ilişkili olduğu tespit edilmiştir (7-14).

Tarihsel bir perspektiften bakıldığında, rumen biyohidrojenasyonunun varlığı ve önemi 50 yılı aşkın bir süredir bilinmektedir. Fakat KLA'nın biyolojik faaliyetleri yakın zamanda keşfedilmiş ve rumen lipid metabolizması üzerine yapılan *in vivo* ve *in vitro* araştırmalar ile farklı yağ asidi izomerlerinin oluşumu tespit edilmeye çalışılmıştır (1, 15-17).

KLA izomerleri, LA'nın geviş getiren hayvanların rumeninde stearik aside bakteriyel biyohidrojenasyonu esnasında ara ürün olarak veya memeli salgı bezi ve adipoz dokularında Δ^9 -desaturaz enzimi aracılığıyla *trans* vaksenik asidin desatürasyonu ile sentezlenmektedir. Desatürasyon ile KLA oluşumu hem geviş getiren hem de monogastrik hayvanlarda gözlenirken, biyohidrojenasyon sadece geviş getiren hayvanlarda gözlenmektedir. Söz konusu biyokimyasal

mekanizmalar sayesinde KLA, geviş getiren hayvanların etlerine ve meme yoluyla da sütlerine ulaşmaktadır. Bu bakımdan LA'nın konjuge izomerlerinin ağırlıklı olarak geviş getiren hayvanların ürünlerinde (et ve süt ürünleri) bulunmasının yanı sıra; birçok gıda maddesi izomiktarda da olsa KLA içermektedir (1, 18, 19).

Bugüne kadar en az 28 farklı KLA izomeri tespit edilmiş olup, bu izomerlerden *c9,11* oktadekadienoik asit (rumenik asit, RA), özellikle geviş getiren hayvanların et ve süt ürünlerindeki toplam KLA'nın %80'ni oluşturmaktadır (13, 20). Diğer önemli bir izomer olan *11,12* oktadekadienoik asit ise, bitkisel yağlar ile şorteningler ve margariner gibi kısmen hidrojene edilmiş yağlarda bulunmaktadır. Bunlara ilaveten biyolojik olarak fonksiyonellik gösteren bu izomerler LA'dan veya linolenik asitten çok farklı tekniklerle (alkali ortamda ısıtma veya kısmi hidrojenasyon gibi) elde edilebilmekte; ancak söz konusu izomerlerin çeşitli diğer izomerlerle ve toksik maddelerle kontamine olmasından dolayı doğrudan kullanımı önerilmemektedir. Maliyetin yüksek olması ve izomerlerin saflaştırılmasındaki zorluklar nedeniyle bu şekilde sentezlenmiş KLA güvenilir bir diyet kaynağı olarak değerlendirilememektedir (5, 21).

KLA VE SAĞLIK

KLA'nın insanlardaki kanseri önleme, vücut yağını azaltma, kalp ve damar hastalıklarını önleme, bağışıklık ve enflamatuar tepkilerin modülasyonu ve kemik sağlığının iyileştirilmesi gibi çeşitli sağlık sorunlarına yönelik olumlu etkisine dair çalışmalar literatürde mevcuttur (22-25). Ancak literatürde bu tespitlerin aksini ifade eden ve KLA'nın karaciğer yağlanması, oksidatif stres, insülin direnci, HDL kolesterolde azalma gibi potansiyel sağlık endişelerine neden olabileceğini belirten kaynaklar da bulunmaktadır (22, 26, 27-32). Dolayısıyla yapılan çalışmalarda ulaşılan sonuçlar birbiriyle çelişkili olup kullanılan yöntemler de çeşitlilik içermektedir (26, 33). Hayvanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda ise KLA'nın karsinogenezi ve ateroskleroza engellediği, organizmanın bağışıklık fonksiyonunu geliştirdiği, yağsız vücut kitlesini arttırıp vücut yağ kazancını azaltarak vücut kompozisyonu değişimini olumlu yönde etkilediği ve genç ratların büyümesini teşvik ettiği belirlenmiştir (22, 34-36).

Hayvanlar üzerinde yapılan ve biyolojik etkiye bağlı olarak değerlendirilen, KLA'nın etkili dozları hakkında deneysel modellerde farklılıklar bulunduğu gibi insanlar için önerilen günlük alım miktarı da çok çeşitlidir (19, 37). Çeşitli metodolojiler kullanılarak yapılan hesaplamalara göre, RA alımı günlük 50-1000 mg arasında değişmektedir. ABD'de diyetle tavsiye edilen alım miktarı 50-250 mg/gün, Almanya'da ise 350-430 mg/gün arasında değişmektedir. RA alımına dair bildirilen farklılıkların, muhtemelen bazı toplumlardaki (örneğin Almanya) yüksek yağ tüketiminin yanı sıra, ilgili bölgelerde bulunan gıdaların daha yüksek konsantrasyonlarda RA içermesinden kaynaklandığı belirtilmektedir (38). Bununla birlikte yapılan farklı çalışmalarda 3-6 g/gün arasındaki KLA alım dozu güvenilir olarak kabul edilmiştir (39).

Diğer yandan Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin mevcut trans yağ etiketleme kuralına göre; "Bir veya daha fazla izole edilmiş çift bağ (yani konjuge olmayan) içeren tüm doymamış yağ asitleri, trans konfigürasyonundadır" şeklinde tanımlanmaktadır. Bu nedenle 'konjuge' trans yağ asitleri, özellikle KLA, trans yağ etiketleme kuralı dışında tutulmuştur. Buna ek olarak KLA'nın 50:50 oranındaki karışımları 2008 yılından bu yana ABD'de belirli gıda türleri için genel olarak güvenli (GRAS) kabul edilmiştir (22).

Tüm bunlara ilaveten KLA'nın anti-kanserojen ve anti-obezite etkilerinin kemirgenlerde *in vivo* ve *in vitro* olarak tespitiyle birlikte, insan beslenmesinin yanı sıra hayvanlar tarafından tüketimine yönelik ilgi de artmıştır (18). Besicilikte buna yönelik çalışmaların üç ana amacı bulunmaktadır. Birincisi; geniş getiren hayvanlarda rasyonla birlikte alınan KLA miktarının artırılıp, bunlardan elde edilen ürünlerin tüketimine bağlı olarak insanlardaki KLA alım dozunun yükseltilmesidir (40, 41). İkincisi; hayvanların vücut yağının azaltılması, büyüme ve beslenmede verimliliğin artması gibi besicilikte önemli faktörlerin iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Son olarak; KLA'nın sağlık üzerine doğrudan anti-enflamatuar ve/veya immün-iyileştirici etkileri neticesinde çiftlik hayvanlarında sağlığın iyileştirilmesi ve korunması hedeflenmiştir (41).

KLA'NIN PROBİYOTİK SUŞLAR TARAFINDAN SENTEZİ

KLA üretiminde ruminal anaerob *Butyrivibrio fibrisolvens* ilk bakteri olarak tespit edilmiştir. Ardından yapılan araştırmalar neticesinde KLA

üretiminde sadece rumen bakterilerine özgü olmadığı ortaya çıkmıştır. Laktik asit bakterileri ile propiyonik asit bakterilerinin dâhil olduğu, süt ürünlerinden, insan ve hayvan bağırsağından izole edilen mikroorganizmaların da KLA üretiminde yer aldığı tespit edilmiştir. Şu ana kadar; *Lactobacillus reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. acidophilus*, *L. lactis*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Bifidobacterium* spp. ile *Streptococcus* spp. gibi organizmaların KLA oluşturabildiği belirlenmiştir (42, 43). Bu türlerin, başta süt endüstrisi olmak üzere gıda sanayinde KLA ile zenginleştirilmiş geleneksel veya yeni fermente ürünlerin üretiminde kullanılması büyük önem arz etmektedir.

Fermantasyon sürecinde probiyotik bakteriler tarafından KLA sentezini etkileyen en önemli parametrelerden biri substrat niteliği ve konsantrasyonudur. Ancak substrat niteliğinde olan LA, bakterilerin üremesini inhibe etmektedir. Bu nedenle yakın zamanda yapılan araştırmalarda LA'nın inhibe edici etkisini önlemek için mikroorganizma hücreleri uygun bir buffer kullanılarak yıkanmaktadır. Bu sayede reaksiyon boyunca substrat olan LA konsantrasyonu arttırılabilmektedir (44). KLA üretimi, substrat konsantrasyonunun yanı sıra kullanılan bakteri türünden, kültür ortamından, fermantasyon sıcaklığından ve süresinden de etkilenmektedir. Oluşturulan izomerlerin de aynı zamanda suşa bağlı olduğu ve bazı mikroorganizmaların sadece bir izomer üretirken; bazılarının ise iki ya da daha fazla KLA formu oluşturduğu belirlenmiştir (37, 45-50). Araştırmacıların çeşitli bakteri türleri tarafından KLA üretiminde kullandıkları substratlar çoğunlukla serbest yağ asitleri olsa da alternatif substrat kaynakları da değerlendirilmiştir. Birçok çalışmada bitkisel yağlar (hidrolize veya hidrolize edilmemiş) ve eksojen yağ asidi kaynağı olarak mono- veya di-linoleinler kullanılmıştır (37, 51).

Probiyotik laktik asit bakterileri fonksiyonel gıdaların önemli bir bileşeni olarak kabul edilmekte ve bu gruptaki organizmaların sağlık üzerine çeşitli olumlu etkileri bulunmaktadır (52). Bilinen özelliklerinin yanı sıra araştırmacılar bu organizmaların KLA oluşumu ile anti-kanserojen aktivite sergilediklerini tespit etmişlerdir (53). Bu araştırmalarda KLA oluşum mekanizmasının, elde edilen izomerlerin oranlarının ve optimum koşulların türden türe oldukça değişkenlik gösterdiği görülmektedir (37, 54, 55). Bu bağlamda,

serbest yağ asitlerini konjuge forma dönüştürme yeteneğine sahip probiyotik bakteriler sayesinde bu gruptaki mikroorganizmalara sağlığı olumlu yönde etkileyen ilave özellikler eklenebilir (56).

Diğer yandan *Propionibacteriaceae* ile *Bifidobacteriaceae* familyasına ait belirli türler de insan sağlığına olumlu etkileri nedeniyle probiyotik olarak kullanılmaktadır. Araştırma sonuçlarına göre pek çok fonksiyonel gıda, ürün içeriğine bu türlerin ilavesiyle geliştirilmiştir (57-58). Özellikle süt ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunan propiyonik asit bakterileri, *in vitro* LA izomerizasyon kapasitesi nedeniyle peynir ve yoğurt gibi fermente ürünlere dahil edilebilmektedir (59). Bu bakımdan literatürde uzun bir süreden beri bu iki familyaya ait farklı türler tarafından KLA üretimine yönelik çeşitli araştırmalar yoğun bir şekilde yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (48, 60-63).

Konuya ilişkin çalışmalara bakıldığında; Kishino ve ark. (64)'nın *L. plantarum* AKU 1009a ile LA'dan KLA üretimi; pH, süre, sıcaklık ve substrat konsantrasyonu gibi farklı parametreler optimize edilerek gerçekleştirilmiştir. Oluşan KLA izomerlerinin reaksiyon koşullarına bağlı olarak değiştiği ve yüksek substrat konsantrasyonunda c9,t11 izomerinin daha fazla oluşurken, düşük substrat konsantrasyonunda bu izomerin daha az miktarda meydana geldiği belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen bulgular, *L. plantarum* AKU 1009a'nın KLA üretiminde gelecek vaat eden bir biyokatalizör olduğunu göstermiştir.

Xu ve ark. (65) tarafından yapılan bir çalışmada probiyotik bakteriler tarafından üretilen fermente sütün KLA içeriği ve duyu özellikleri incelenmiştir. *L. rhamnosus*, *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* 51, 56 ve *P. freudenreichii* subsp. *freudenreichii* 23 olmak üzere 4 probiyotik bakteri tek başına ya da geleneksel yoğurt kültürleri (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*) ile birlikte değerlendirilmiş ve lipid kaynağı olarak hidrolize soya yağı kullanılmıştır. Yoğurt kültürü ile birlikte inoküle edilen *L. rhamnosus* grubunda en yüksek KLA verimi elde edilmiştir. Lin ve ark. (66) tarafından *L. delbrueckii* ve *L. acidophilus*'un immobilize edilmiş hücreleri kullanılarak KLA üretimine yönelik yapılan diğer bir araştırmada, immobilizasyon işleminin KLA üretiminin artırılmasında potansiyel bir uygulama olduğu belirlenmiştir.

Yapılan farklı bir çalışmada; *L. acidophilus* ve *L. casei* içeren probiyotik 'Dahi' ürününde, fermantasyon esnasında ve 4°C'de 10 günlük depolama sonrasında serbest yağ asitleri ve KLA üretimi incelenmiş ve probiyotik laktobasillerin; süt yağının lipolizi ile serbest yağ asitlerini arttırdığı, aynı zamanda serbest LA'yı kullanarak KLA ürettiği ve böylece ürüne besleyici ve tedavi edici özellikler kazandırabileceği rapor edilmiştir (67).

Salamon ve ark. (68) tarafından ayçiçek yağı ilave edilerek, süt ürünlerinde KLA içeriğinin artırılmasına yönelik yapılan araştırmada *L. plantarum*, *L. casei* ve *L. acidophilus*'a ait saf kültürlerin KLA sentezinde uygun probiyotikler oldukları belirlenmiştir.

KLA'nın probiyotik suşlar tarafından sentezine yönelik diğer bir çalışmada, KLA oluşturabilen 43 laktik asit bakteri suşu, 3 çeşit doğal fermente turşudan izole edilmiş ve neticesinde yüksek LA toleransı ve yüksek oranda KLA dönüşüm oranı sergileyen *L. plantarum*'un Ip15 suşu, fermente gıda ürünlerinde KLA içeriğinin zenginleştirilmesine yönelik değerli bir biyokatalizör olarak ifade edilmiştir (21).

SONUÇ

KLA, fonksiyonel bir gıda bileşeni olmasının dışında önemli hastalıkların önlenmesi için bir umut ışığıdır. Araştırmacılar tarafından fonksiyonel gıdaların KLA ile zenginleştirilmesine ilişkin çalışmalar yoğun bir şekilde yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Günümüzde KLA alımını artırmak için gıda ürünlerinde besin kaynaklı veya besin kaynaklı olmayan ürünler rutin olarak kullanılmaktadır. Geviş getiren hayvanların rasyonlarına LA içeren bitkisel veya hayvansal kaynaklı yağların katılanması, gıda kaynaklı KLA alımının artırılmasına yönelik popüler uygulamalar arasında yer almaktadır. Öte yandan, gıda kaynaklı bakteri suşları kullanılarak da diyetel olmayan yöntemler ile KLA sentezi yaygın olarak yapılmakta ve dünya çapında dikkat çekmektedir. Bu amaca yönelik olarak LA'dan KLA eldesinde çeşitli probiyotik bakteri türleri yakın zamanda farklı çalışmalara konu olmuştur. Yapılan bu çalışmalarda bazı suşların ciddi oranlarda KLA oluşumuna katkıda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle starter veya yardımcı kültürler kullanılarak gıdaların KLA açısından zenginleştirilmesi, fonksiyonel gıda imalatında ve bu bağlamda insan sağlığına yönelik olumlu sonuçların elde edilmesinde umut verici bir saha yaratmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Shingfield KJ, Wallace RJ. 2014. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Sels BF, Philippaerts A (eds), The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 1-65.
2. Manzano S, Williamson G. 2010. Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Mol Nutr Food Res*, 54 (12): 1773-1780.
3. Oyeleke GO, Olagunju EO, Ojo A. 2012. Functional and physicochemical properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed and seed-oil. *J Appl Chem*, 2 (2): 29-31.
4. Simakova OA, Leino AR, Campo B, Mäki-Arvela P, Kordás K, Mikkola JP, Murzin DY. 2010. Linoleic acid isomerization over mesoporous carbon supported gold catalysts. *Catal Today*, 150 (1): 32-36.
5. Quirino RL, 2014. Commercial CLA and its chemical use. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Sels BF, Philippaerts A (eds), The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 117-130.
6. Philippaerts A, Goossens S, Jacobs PA, Sels BF. 2011. Catalytic production of conjugated fatty acids and oils. *ChemSusChem*, 4 (6): 684-702.
7. Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Czarnecki SK. 2002. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. *Nutr Res*, 22 (11): 1275-1279.
8. Kelley NS, Hubbard NE, Erickson KL. 2007. Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *J Nutr*, 137 (12): 2599-2607.
9. Park Y, Pariza MW. 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid. *Food Res Int*, 40 (3): 311-323.
10. Soel SM, Choi OS, Bang MH, Park JHY, Kim WK. 2007. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *J Nutr Biochem*, 18 (10): 650-657.
11. Dilzer A, Park Y. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit Rev Food Sci*, 52 (6): 488-513.
12. McGowan MM, Eisenberg BL, Lewis LD, Froehlich HM, Wells WA, Eastman A, Kuemmerle NB, Rosenkrantz KM, Barth RJ, Schwartz GN, Li Z, Tosteson TD, Beaulieu BB, Kinlaw WB. 2013. A proof of principle clinical trial to determine whether conjugated linoleic acid modulates the lipogenic pathway in human breast cancer tissue. *Breast Cancer Res Treat*, 138 (1): 175-183.
13. Bhatia A, Sharma A, Balgir PP, Kapoor D. 2015. Anti-cancerous effect of linoleic acid and conjugated linoleic acid on hepatic cancer cells and histocytic lymphoma cells: *In vitro*. *Adv Appl Sci Res*, 6 (4): 114-117.
14. Martins SV, Madeira A, Lopes PA, Pires VMR, Alfaia CM, Prates JAM, Moura T, Soveral G. 2015. Adipocyte membrane glycerol permeability is involved in the antiadipogenic effect of conjugated linoleic acid. *Biochem Biophys Res Commun*, 458 (2): 356-361.
15. Alves SP, Maia MRG, Bessa RJB, Fonseca AJM, Cabrita ARJ. 2012. Identification of C18 intermediates formed during stearidonic acid biohydrogenation by rumen microorganisms *in vitro*. *Lipids*, 47 (2): 171-183.
16. Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim Feed Sci Tech*, 174 (1): 1-25.
17. Huws SA, Kim EJ, Cameron SJS, Girdwood SE, Davies L, Tweed J, Vallin H, Scollan ND. 2015. Characterization of the rumen lipidome and microbiome of steers fed a diet supplemented with flax and echium oil. *Microb Biotechnol*, 8 (2): 331-341.
18. Singh P, Senani S, Prasad CS, Rao SBN. 2013. Manipulation of conjugated linoleic acid in milk and meat through dietary management in ruminant animals: A Review. *Indian J Hill Farm*, 26 (2): 1-15.
19. Demirok E, Kolsarıcı N. 2010. Et ve et ürünlerinde konjuge linoleik asit ve önemi. *GIDA*, 35 (1): 71-77.
20. Buhrke T, Merkel R, Lengler I, Lampen A. 2012. Absorption and metabolism of *cis*-9, *trans*-11-CLA and of its oxidation product 9,11-furan fatty acid by caco-2 cells. *Lipids*, 47 (4): 435-442.

21. Liu P, Shen SR, Ruan H, Zhou Q, Ma LL, He GQ. 2011. Production of conjugated linoleic acids by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented Chinese pickles. *J Zhejiang Univ Sci B*, 12 (11): 923-930.
22. Park Y, Wu Y. 2014. Health benefits of conjugated fatty acids. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Sels BF, Philippaerts A (eds), The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 94-116.
23. Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. 2000. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr*, 130 (12): 2943-2948.
24. Risérus U, Berglund L, Vessby B. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: A randomised controlled trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25 (8): 1129-1135.
25. Chen SC, Lin YH, Huang HP, Hsu WL, Hwang JY, Huang CK. 2012. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on weight loss and body fat composition in a Chinese population. *Nutrition*, 28 (5): 559-565.
26. Gebauer SK, Chardigny JM, Jakobsen MU, Lamarche B, Lock AL, Proctor SD, Baer DJ. 2011. Effects of ruminant trans fatty acids on cardiovascular disease and cancer: A comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Adv Nutr*, 2 (4): 332-354.
27. Vemuri M, Kelley DS. 2010. Insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease induced by conjugated linoleic acid in humans. In: *Modern Dietary Fat Intakes in Disease Promotion*, Meester FD, Zibadi S, Watson RR (eds), Humana Press, USA, pp. 133-147.
28. Venkatramanan S, Joseph SV, Chouinard PY, Jacques H, Farnworth ER, Jones PJ. 2010. Milk enriched with conjugated linoleic acid fails to alter blood lipids or body composition in moderately overweight, borderline hyperlipidemic individuals. *J Am Coll Nutr*, 29 (2): 152-159.
29. Joseph SV, Jacques H, Plourde M, Mitchell PL, McLeod RS, Jones PJH. 2011. Conjugated linoleic acid supplementation for 8 weeks does not affect body composition, lipid profile, or safety biomarkers in overweight, hyperlipidemic men. *J Nutr*, 141 (7): 1286-1291.
30. McCrorie TA, Keaveney EM, Wallace JMW, Binns N, Livingstone MBE. 2011. Human health effects of conjugated linoleic acid from milk and supplements. *Nutr Res Rev*, 24 (2): 206-227.
31. Stout MB, Liu LF, Belury MA. 2011. Hepatic steatosis by dietary-conjugated linoleic acid is accompanied by accumulation of diacylglycerol and increased membrane-associated protein kinase C epsilon in mice. *Mol Nutr Food Res*, 55 (7): 1010-1017.
32. Derakhshande-Rishehri SM, Mansourian M, Kelishadi R, Heidari-Beni M. 2015. Association of foods enriched in conjugated linoleic acid (CLA) and CLA supplements with lipid profile in human studies: A systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutr*, 18 (11): 2041-2054.
33. Lehnen TE, Da Silva MR, Camacho A, Marcadenti A, Lehnen AM. 2015. A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and energetic metabolism. *J Int Soc Sports Nutr*, 12 (36): 1-11.
34. Chin SF, Storkson JM, Albright KJ, Cook ME, Pariza MW. 1994. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *J Nutr*, 124 (12): 2344-2349.
35. Kennedy A, Martinez K, Schmidt S, Mandrup S, LaPoint K, McIntosh M. 2010. Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *J Nutr Biochem*, 21 (3): 171-179.
36. Sagwal R, Kansal VK. 2010. Synergistic effect of synthetic conjugated linoleic acid & non-fat milk on fat deposition & lipid metabolism in mice. *Indian J Med Res*, 131 (3), 449-454.
37. Nieuwenhove CPV, Terán V, González SN. 2012. Conjugated linoleic and linolenic acid production by bacteria: Development of functional foods. In: *Probiotics*, Rigobelo EC (ed), Chapter 3, InTech, Croatia, pp. 55-88.
38. McGuire MK, McGuire MA, Ritzenthaler K, Shultz TD. 1999. Dietary sources and intakes of conjugated linoleic acid intake in humans. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds), Vol:1, AOCS Press, pp: 369-377.
39. Iwata T, Kamegai T, Yamauchi-Sato Y, Ogawa A, Kasai M, Aoyama T, Kondo K. 2007. Safety of dietary conjugated linoleic acid (CLA) in a 12-weeks trial in healthy overweight Japanese male volunteers. *J Oleo Sci*, 56 (10): 517-525.

40. Angulo J, Hiller B, Olivera M, Mahecha L, Dannenberger D, Nuernberg G, Losand B, Nuernberg K. 2012. Dietary fatty acid intervention of lactating cows simultaneously affects lipid profiles of meat and milk. *J Sci Food Agric*, 92 (15): 2968-2974.
41. Everaert N, Koppenol A, Buyse J. 2014. Use of CLA in animal feed. In *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Sels BF, Philippaerts A (eds), The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 66-93.
42. O'Shea EF, Cotter PD, Stanton C, Ross RP, Hill C. 2012. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: Bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int J Food Microbiol*, 152 (3): 189-205.
43. Andrade JC, Ascençao K, Gullon P, Henriques SMS, Pinto JMS, Rocha-Santos TAP, Freitas AC, Gomes AM. 2012. Production of conjugated linoleic acid by food-grade bacteria: A review. *Int J Dairy Technol*, 65 (4): 467-481.
44. Ogawa J, Takeuchia M, Kishino S. 2014. Recent advances in the production of CLA and conjugated vegetable oils: Microbial and enzymatic production of conjugated fatty acids and related fatty acids in biohydrogenation metabolism. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Sels BF, Philippaerts A (eds), The Royal Society of Chemistry, UK, pp. 131-150.
45. Zhao HW, Lv JP, Li SR. 2011. Production of conjugated linoleic acid by whole-cell of *Lactobacillus plantarum* A6-1F. *Biotechnol Biotec Eq*, 25 (1): 2266-2272.
46. Rahnama F, Pourahmad R, Vanak ZP. 2013. Production of probiotic soy yogurt containing conjugated linoleic acid. *Annals Biol Res*, 4 (6): 182-187.
47. Soto C. 2013. Effect of isomalto-oligosaccharide and gentio-oligosaccharide on the growth and fatty acid profile of *Lactobacillus plantarum*. *Electron J Biotechnol*, 16 (4): 1-10.
48. Khosravi-Darani K, Reihani FS, Feili R. 2014. Bioproduction of conjugated linoleic acid in yogurt by probiotic bacteria. *Int J Biotechnol Wellness Ind*, 3 (2): 62-68.
49. Al-Hindi RR, Abd-El-Ghani S. 2015. Production of free conjugated linoleic acid by fermentation performed using *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. *Global Veterinaria*, 14 (5): 720-728.
50. Khosravi A, Safari M, Khodaiyan F, Gharibzahedi SMT. 2015. Bioconversion enhancement of conjugated linoleic acid by *Lactobacillus plantarum* using the culture media manipulation and numerical optimization. *J Food Sci Technol*, 52 (9): 5781-5789.
51. Rodríguez-Alcalá LM, Braga T, Malcata FX, Gomes A, Fontecha J. 2011. Quantitative and qualitative determination of CLA produced by *Bifidobacterium* and lactic acid bacteria by combining spectrophotometric and Ag+-HPLC techniques. *Food Chem*, 125 (4): 1373-1378.
52. Kumari A, Catanzaro R, Marotta F. 2011. Clinical importance of lactic acid bacteria: A short review. *Acta Biomed*, 82 (3): 177-180.
53. Ongol MP. 2012. Lactic acid bacteria in health and disease. *Rwanda J Health Sci*, 1 (1): 39-50.
54. Abd El-Salam MH, El-Shafei K, Sharaf OM, Effat BA, Asem FM, El-Aasar M. 2010. Screening of some potentially probiotic lactic acid bacteria for their ability to synthesis conjugated linoleic acid. *Int J Dairy Technol*, 63 (1): 62-69.
55. Sosa-Castañeda J, Hernández-Mendoza A, Astiazarán-García H, García HS, Estrada-Montoya MC, González-Córdova AF, Vallejo-Córdoba B. 2015. Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to produce conjugated linoleic acid in milk and to adhere to the intestinal tract. *J Dairy Sci*, 98 (10): 6651-6659.
56. Dubey V, Ghosh, AR, Mandal BK. 2012. Appraisal of conjugated linoleic acid production by probiotic potential of *Pediococcus* spp. GS4. *Appl Biochem Biotechnol*, 168 (5): 1265-1276.
57. Hidalgo-Cantabrana C, Arbolea S, Sanchez B, Gueimonde M, De Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Ruas-Madiedo P. 2014. Intestinal microbiota as a source of probiotic *Bifidobacterium* strains: Challenges and opportunities for the development of functional foods. In: *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*, Rai VR, Bai JA (eds), CRC Press, USA, pp. 309-322.
58. Martínez FAC, Balciunas EM, Converti A, Cotter PD, De Souza Oliveira RP. 2013. Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp.: A review. *Biotechnol Adv*, 31 (4): 482-488.
59. Zárate G. 2012. Dairy *Propionibacteria*: Less conventional probiotics to improve the human and animal health. In: *Probiotic in Animals*. Rigobelo EC (chief ed), InTech, Croatia, pp. 153-202.

60. Gorissen L, Raes K, Weckx S, Dannenberger D, Leroy F, De Vuyst L, De Smet S. 2010. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. *Appl Microbiol Biot*, 87 (6): 2257-2266.
61. Park HG, Heo W, Kim SB, Kim HS, Bae GS, Chung SH, Seo HC, Kim YJ. 2011. Production of conjugated linoleic acid (CLA) by *Bifidobacterium breve* LMC520 and its compatibility with CLA-producing rumen bacteria. *J Agric Food Chem*, 59 (3): 984-988.
62. Vinderola G, Binetti A, Burns P, Reinheimer J. 2011. Cell viability and functionality of probiotic bacteria in dairy products. *Front Microbiol*, 2 (70): 1-6.
63. Villar-Tajadura MA, Rodríguez-Alcalá LM, Martín V, Gómez De Segura A, Rodríguez JM, Requena T, Fontecha J. 2014. Production of conjugated linoleic and conjugated α -linolenic acid in a reconstituted skim milk-based medium by bifidobacterial strains isolated from human breast milk. *Biomed Res Int*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/725406> (Accessed 25 November 2015).
64. Kishino S, Ogawa Y, Omura Y, Matsumura K, Shimizu S. 2002. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. *J Am Oil Chem Soc*, 79 (2): 159-163.
65. Xu S, Boylston TD, Glatz BA. 2005. Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *J Agric Food Chem*, 53 (23): 9064-9072.
66. Lin TY, Hung TH, Cheng TSJ. 2005. Conjugated linoleic acid production by immobilized cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. *Food Chem*, 92 (1): 23-28.
67. Yadav H, Jain S, Sinha PR. 2007. Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage. *Int Dairy J*, 17 (8): 1006-1010.
68. Salamon RV, Loki K, Varga-Visi E, Mandoki Z, Csapo J. 2009. Increase of conjugated linoleic acid content of dairy products by adding sunflower oil. *Acta Univ Sapient Alim*, 2 (2): 287-293.