



T.C.

**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
(NKÜBAP)**

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
SONUÇ RAPORU**

Proje No: NKUBAP.00.AR.24.15.01.

**Manda Sütü Yağı Konjuge Linoleik Yağ Asitleri Kompozisyonlarının
Belirlenmesi**

Yürütücü : Yrd. Doç Dr.
Araştırmacı: Prof.Dr.
Araştırmacı: Prof.Dr..

Binnur KAPTAN
M. İhsan SOYSAL
Murat TAŞAN

2017

ÖNSÖZ

Manda sütü zengin bileşimi ve kendine özgü tat ve kokusuyla besinsel ve teknolojik açıdan özel bir önem taşımaktadır. Manda sütü inek sütüne oranla daha yüksek kurumadde, mineral madde ve protein içermesi yanında yüksek yağ ve kalori içeriği üstün ve ayırıcı özellikleri olarak değerlendirilmektedir. Süt yağının önemli bir bileşeni olan konjuge linoleik asitlerin (KLA) kanser, ateroskleroz ve şeker hastalıklarını engellediği, vücut yağ içeriğini azalttığı, kemik mineralizasyonunu arttırdığı ve immün sistemini kuvvetlendirdiğine dair bilgiler vardır. KLA, diyabet, aşırı kilo ve çeşitli kanserler gibi hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici özellikler, ayrıca bağışıklık ve sinir sistemlerini destekleyici etkiler göstermektedir. KLA, birçok hastalığı tedavi edici ve birçok hastalığa karşı da koruyucu etkileri nedeniyle, 1999'da Amerikan Diyet Kurumu tarafından fonksiyonel gıda olarak kabul edilmiştir. Son zamanlarda yapılan KLA'in insan sağlığına faydalı etkilerine dair yapılan çalışmalar büyük ilgi uyandırmış ve konjuge linoleik asit üzerinde yoğunlaşmıştır.

Bu bağlamda teşvik ve desteklerle yeniden üretimi artırılan manda süt yağında fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi süt kompozisyonuna yönelik veri elde edilmesi açısından önemli olacaktır.

Manda Sütü Yağında Konjuge Linoleik Asit Miktarlarının Belirlenmesi amaçlandığı bu çalışma, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından "NKUBAP.00.AR.24.15.01" proje numarası ile desteklenmiştir

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın yűrűtűlmesinde desteklerinden űtűrű NKU BAP komisyonuna, Manda sűtlerinin temin edilmesini saęlayan “Çatalca Manda Yetiőtiricileri Birlięi” Birlik Baőkanı sayın Sezai Ural’a, Birlik alıőanları sayın Mehmet Aksel ve sayın Talat Tan’a katkılarından dolayı Proje grubu teőekkűrlerini sunar.

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate the change of conjugated linoleic (CLA) isomers content in fatty acid composition of buffalo milk. CLA isomer content of the fatty acids was determined using a combination of gas chromatography and Flame Ionization Detector (FID). According to the results, the average content of total conjugated linoleic acid ($6,06 \pm 0.96$ mg/g fat) was higher than the maximal values generally reported for Argentina buffalo, and similar to Kundi and Nili Ravii buffalo. The content of *c9-t11* CLA which is one of the biologically active isomer, was found as 5,22 mg/g fat, and was 86.13% of the total CLA. Whereas, *t10-c12* CLA represented 3,96% of the total CLA. The rest of the CLA isomers was determined as 3,16% and 6,76% for *c10-c12* CLA and *t9-t11* CLA, respectively.

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, manda sütü yağ asidi bileşiminde bulunan konjuge linoleik asit (KLA) izomer içeriğinin değişimini araştırmaktır. Yağ asitlerinin KLA izomer içeriği, gaz kromatografisi ve Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) kullanılarak belirlenmiştir. Araştırmamızın bulgularına göre; toplam konjuge linoleik asidin ($6,06 \pm 0,96$ mg / g yağ) ortalama içeriği ortalama içeriği Arjantin'deki nehir mavileri için (4,8 mg / g yağ) bildirilen değerlerden daha yüksekti, Kundi ve Nili Ravii manda değerlerine benzerdir. Biyolojik açıdan aktif izomerden biri olan *c9-t11* KLA'nın içeriği 5,22 mg/g yağ olarak bulunmuştur ve bu da toplam KLA'nın% 86,13'ünü oluşturmaktadır. Buna karşın, *t10-c12* KLA toplam KLA'nın% 3,96'sını temsil ettiği belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen diğer *c10-c12* KLA ve *t9-t11* KLA izomerleri sırasıyla % 3,16 ve% 6,76 olarak tespit edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	I
TEŞEKKÜR	II
ABSTRACT	III
ÖZET	IV
1. GİRİŞ	
2. KLA KAYNAKLARI	2
2. 1. İnek, koyun, keçi ve manda sütünde KLA	3
2. 2. İşlenmiş sütlerde KLA	5
2. 3. KLA sentezlenmesi	6
2. 3. 1. Rumende linoleat <i>c9-t11</i> KLA izomeraz enzimi ile	6
2. 3. 2. Dokularda Δ^9 desaturaz enzimi	
2. 4. KLA'nın SAĞLIĞA ETKİLERİ	7
2. 4. 1. Anti-aterojenik etkisi (Hiplipidemik etki)	8
2. 4. 2. Antiobezite ve Yağ Birikimini Azaltıcı Etkisi	8
2. 4. 3. KLA'nın kemik dokusuna etkisi	10
2. 4. 4. KLA'nın tümör oluşumunu önleyici etkisi	10
2. 4. 5. KLA'nın immün ve inflamatuvar üzerine etkileri	12
2. 4. 6. Günlük Tüketim	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3. 1. Manda sütü örneklerin toplanması	13
3. 2. Süt örneklerinde fiziksel ve kimyasal analizler	13
3. 3. Manda sütü örneklerinden yağ ekstraksiyonu	13
3. 4. KLA Metil Esterlerinin Hazırlanması	14
3. 5. Gaz kromatografisi ile KLA yağ asitleri metil esterlerinin belirlenmesi	14
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	15
4. 1. Süt örneklerinin temel bileşimi	15
4. 2. Konjuge yağ asitleri metil esterlerinin belirlenmesi	16
4. 3. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması	16
4. 4. Manda sütü yağı konjuge linoleik yağ asitleri profili	18
5. SONUÇ	23
6. KAYNAKLAR	23

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Bazı gıdalarda toplam KLA ve <i>c9-t11</i> KLAizomer içerikleri	2
Tablo 2. Süt türleri <i>c9-t11</i> KLA, <i>t10-c12</i> KLA içerikleri	3
Tablo 3. İŞlenmiş sütlerde KLA miktarları	5
Table 4. KLA izomerleri biyolojik aktiviteleri	7
Tablo 5. Manda süt bileşimine ait analiz sonuçlar (ortalama \pm Sdt)	15
Tablo 6. Konjuge yağ asitleri için LOD ve LOQ değerleri	18
Tablo 7. Manda süt yağı Konjuge linoleik yağ asitleri profili (mg/g yağ)	18
Şekil 1. Linoleik ve aktif KLA	6
Şekil 2. Rumende ve dokularda Δ^9 –desaturaz enzimi aracılığıyla KLA sentezi	6
Şekil 3 Internal standart (tricosanoate metil ester (C23:0) ve KLA standart kromotogramı (4 <i>c9-t11</i> ; 2 <i>c11-c13</i> ; 3 <i>t10-c12</i> ; 5-6 <i>cc tt</i>)	16
Şekil 4. Konjuge yağ asiti standartları kalibrasyon kurveleri	17

1. GİRİŞ

Son yıllarda fonksiyonel bazı besinlerin doğal yollardan hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinliğinin bilimsel olarak ortaya konulması sağlığımızın korunmasında beslenmemizdeki önemini artırmıştır. Bu nedenle fonksiyonel besinler ve doğal sağlık ürünleri daha fazla tüketilmeye başlanmıştır. Bu fonksiyonel bileşiklerden biriside, son yıllarda büyük ilgi gören ve gerek deney hayvanları gerekse insanlar üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu, insan sağlığı üzerine çok önemli etkileri bulunan ve özellikle ruminant hayvanlardan elde edilen ürünlerde bulunan konjuge linoleik asit (KLA) izomerleridir (Bauman ve ark. 2000, (Chen ve ark. 2012, Steinhart ve ark. 2003, Wang ve Jones 2004)

KLA, esansiyel bir omega-6 yağ asidi olan ve 18 karbon atomu ile iki çift bağ içeren linoleik asidin (C18:2 *cis-9,cis-12*) konjuge olmuş çok sayıdaki pozisyonel ve geometrik izomerlerinin karışımı için kullanılan ortak bir terimdir (Tvrzicka ve ark. 2011). Yapılan yaptıkları çalışmalar yirmi sekiz kadar KLA izomerinin varlığını ortaya çıkarmıştır (Kramer ve ark. 2004; Kramer ve ark. 1998).

Geometrik ve pozisyonel izomerizasyon, bileşiklere farklı biyolojik özellikler kazandırır. Araştırmalarda tespit edilen 28 izomerden sadece rumenik asit olarak adlandırılan ve gıdalarda %80 ile en yüksek miktarda bulunan *cis-9, trans-11* oktadekadienoik asit (18:2) (*c9-t11* KLA) izomeri (Schmid ve ark. 2006) ile %3-5 oranında bulunan *trans-10, cis-12* oktadek adienoik asit (18:2) (*t10-c12* KLA) izomeri Huang ve ark. 2008, Parodi 2003, Choi ve ark. 2004) biyolojik özelliklere sahiptir (Banni, 2002, Pariza ve Park 2001, Benjamin ve ark. 2005, Bhattacharya ve ark. 2006, Jiang ve ark. 1999, Kelly ve Cashman 2004, Lin ve ark. 1995).

KLA, yağ asidi zincirinde farklı karbon pozisyonlarında iki doymamış çift bağa sahiptir. Konjuge linoleik asit moleküllerinde, linoleik asitten farklı olarak bir adet çift bağdan sonra tek bağ gelmektedir. Bu tek bağ ise yine bir çift bağ takip etmektedir (Chin ve ark 1992). Üç esansiyel yağ asidinden biri olan linoleik asitin bir veya her iki çift bağının yeri reaksiyonlarla değiştiğinde KLA oluşmaktadır (Kelly 2001).

c9-t11 KLA izomeri, hücre zarındaki fosfolipidlerle kolaylıkla birleşebilme özelliğine sahip olması nedeniyle biyolojik önemliliğe sahip en aktif izomerdir (Bessa ve ark. 2000, Pariza ve Park 2001, Banni 2002, Jenson 2002,).

Antikarsinojenik, antimutajenik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, arteriosklerozis (damar serliği) ve vücut yağ birikimini azaltıcı, kemik mineralizasyonunu arttırıcı, antioksidan etki, metabolik hızı arttırıcı etkilerinin belirlenmesi (Pariza ve ark. 2001, Ryder ve ark. 2001, Risérus ve ark 2002, Wang ve Jones 2004, Mitchell ve McLeod 2008, Kennedy ve ark. 2010, Bassaganya-Riera ve ark. 2012, Chen ve ark. 2012, Salter 2013, Thuillier ve ark. 2013, Malinska ve ark. 2015) ile son zamanlarda fonksiyonel gıda üretiminde önemli rol oynamasıyla dikkat çekmektedir.

2. KLA KAYNAKLARI

Konjuge linoleik asit izomerleri doğal olarak değişik miktarlarda birçok gıdada bulunmakla birlikte, insan beslenmesinde ana kaynağı ruminant hayvanlardan elde edilen et ve süt ürünleri oluşturmaktadır (Ip ve ark. 1994, Steinhart ve ark. 2003, Van Nieuwenhove ve ark. 2004). Et ve süt yağının başlıca izomeri olan *c9-t11* KLA mevcut KLA'nın %90'ını oluştururken bitkisel yağlar 0,1-0,7 mg/g düzeyinde KLA içermekte ve bunun % 50'sinden daha az miktarı *c9-t11* KLA izomeridir (Lock ve Bauman 2004, Pariza ve Ha 1990, Pariza ve ark. 2001). Ruminant hayvanlardan elde edilen ürünlerin KLA içerikleri, domuz gibi ruminant olmayan hayvanların etinden ve kanatlılardan elde edilen et ve yumurtadan daha yüksektir (Faucitano ve ark 2008). Kırmızı et 2,7 ile 5,6 mg/g arasında KLA içerirken, beyaz ette bu değer 0,9 mg/g, somon balığının 0,3 mg/g ve yumurta sarısında 0,6 mg/g olarak bulunmaktadır (Tablo 1). Bu ürünlerde bulunan KLA miktarları hayvanların beslenme durumun, yaşına ve türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Çayır-mera ve yeşil yemlerle beslenen hayvanların ürünlerindeki KLA miktarları, sunni yemle beslenenlere göre yüksektir (Cordero ve ark. 2011, Ferlay ve ark.2014, French ve ark. 2000, Kim ve Liu 2002, Lee ve ark. 2014, Resende ve ark. 2015).

Tablo 1. Bazı gıdalarda toplam KLA ve *c9-t11* KLA izomer içerikleri

Gıda	Total KLA (mg/g yağ)	<i>c9-t11</i> -KLA (%)
Et		
Sığır eti	4,3	85
Dana Eti	2,7	84
Koyun eti	5,6	92
Domuz eti	0,6	82
Tavuk	0,9	84
Yumurta sarısı	0,6	–
Somon balığı	0,3	–
Karides	0,6	–
Deniz Tarağı	0,3	–
Yağlar		
Sığır eti don yağı	2,6	84
Kolza yağı	0,5	44
Mısır yağı	0,2	39
Aspir yağı	0,7	44
Zeytin yağı	0,2	47

Kaynak: Chin ve ark. (1992)

2. 1. İnek, koyun, keçi ve manda sütünde KLA

c9-t11 KLA, izomerinin ilk olarak 1987 yılında, süt yağından izole edilmesiyle çalışmalar bu yönde sürdürülmüştür (Pariza ve ark. 2000, 2001. Khanal, 2004). Sütün toplam KLA içeriğinin % 82-97'si *c9-t11* KLA'dan oluşmaktadır (Dhiman ve ark. 2005a). Çeşitli Avrupa ülkelerinde sütün KLA izomerleri miktarının 0,1-1,9 g/100g süt arasında değiştiği belirlenmiştir (Precht ve Molquentin, 2000). Süt türlerine göre miktarı değişmekle birlikte baskın izomer olarak *c9-t11* KLA (% 0,07–1,35) belirlenirken daha az miktarlarda *t9-t11* (% 0,00–0,04 FAME) ve *t10-c12* KLA (% 0,00–0,08) belirlenmiştir (Tablo 2). Süt yağının KLA içeriği, beslenme, yaş ve iyonoforlar gibi yem katkı maddeleri ile önemli miktarda etkilendiği bulunmuştur (Bessa ve ark. 2000). Sentetik *c9-t11* konjuge linoleik asit takviyeli yemlerle merada beslenen ineklerin süt yağında %91 den daha fazla *c9-t11* KLA oluşmuştur (Kay ve ark. 2004). Besleme rejimi daha çok meraya dayalı olduğu için koyun sütü inek ve keçi sütüne oranla daha yüksek miktarda *c9-t11* KLA içeriğine sahip olması nedeniyle KLA içeriği bakımından daha zengindir (Antongiovanni ve ark. 2003, Mele, 2009, Tsiplakou ve ark. 2009, Talpur ve ark. 2009). Manda sütlerinde *c9-t11* KLA izomeri miktarının 0,17-0,43 mg/g yağ düzeyinde belirlenmiştir (Mihaylova 2007). Han (2012) süt yağının *c9-t11* KLA içeriğini manda süt yağında ortalama $4,4 \pm 0,0-7,6 \pm 0,4$ (mg/g yağ) arasında olduğunu, Bergamo ve ark. (2003) ise bu değeri $7,3 \pm 0,8$ (mg/g yağ) olarak belirlemiştir.

Tablo 2. Süt türleri *c9-t11* KLA, *t10-c12* KLA içerikleri

Süt Türü	izomer	mg/100g yağ	
İnek sütü	<i>c9-t11</i> KLA	0,18-0,26 0,05-0,08	Kargar ve ark. 2012
	<i>c9-t11</i> KLA	1,44 (yaz) 0,64 (Kış)	Collomb ve Bühler, 2000
	<i>c9-t11</i> KLA	0,39	Abu-Ghazaleh ve ark. 2001
	<i>c9-t11</i> KLA	0,60	Chilliard ve ark. 2003
	<i>c9-t11</i> KLA <i>t10-c12</i> KLA	0,35 0,004	Chichlowski ve ark. 2005
Koyun sütü	<i>c9-t11</i> KLA <i>t10-c12</i> KLA	1,73 0,04	Nudda ve ark. 2005
	<i>c9-t11</i> KLA	0,6 (yaz) 0,6(kış)	Buccioni ve ark. 2012
	<i>c9-t11</i> KLA <i>t10-c12</i> KLA	0,55-0,71 0,086-0,096	Chow ve ark. 1990
Keçi sütü	<i>c9-t11</i> KLA <i>t10-c12</i> KLA	0,37-0,47 0,012	Miri ve ark. 2013
Manda sütü	<i>c9-t11</i> KLA	0,17-0,43	Mihaylova 2007
	<i>c9-t11</i> KLA <i>c9-t11</i> KLA	4,7 0,2	Van Nieuwenhove ve ark. 2007

İnsanlarda bu iki izomerden *t10-c12* KLA hiperlipidemik ve *c9-t11* KLA hipolipidemik özellik göstermesi araştırmaları, insan tüketimi için süt ve süt ürünlerini *c9-t11* KLA izomerlerinin geliştirmek için ruminatlar üzerinde değişik uygulamalara sevketmiştir.

Süt yağında *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA izomer içeriği diyet (yeşil yem, organik yem, suni yemler silaj, yağlı bitki tohumları, tahıllar), yem katkı maddeleri, laktasyon evresi, laktasyon sayısı, cins, parite, hayvanın sağlığı, iklim, çoğrafi şartlar (yükseklik, ova, yayla) rumen mikrobiotası özellikle bakteri ve protozoalar, süt yağı miktarındaki değişiklikler süt yağı KLA içeriğini etkileyen faktörlerdir (Butler ve ark. 2011, O'Donnell-Megaró ve ark. 2011).

Bu güne kadar yapılan çalışmalarda hayvanların rasyonlarına bazı besin maddesi takviyelerinin süt yağ asitlerindeki KLA miktarını olumlu yönde etkilediği açıkça ortaya koyulmuştur (Schmid ve ark. 2006). Hayvanın beslenme şekline göre farklılık göstermekle birlikte, çayır-mera ve yeşil yemlerle beslenen serbest dolaşan hayvanlarda daha yüksek KLA bulunurken, suni yemlerle beslenenlerde daha düşük bulunmuştur (Zlatanov ve ark. 2008, Collomb ve ark. 2004, Rego ve ark. 2004). Hayvan rasyonlarına bağlı olarak KLA miktarı 2,9-8,92 mg KLA/g yağ aralıklarında ve toplam KLA'nın %73-93'ü *c9-t11* KLA olacak şekilde değişebilmektedir (Kelly 2001, Wahle ve ark. 2004, Lerch ve ark. 2012). Rasyonlara ayçiçeği, soya fasulyesi veya keten tohumu yağı gibi bitkisel yağlar ilave edilerek hayvanların beslenmesi süt yağında *c9-t11* KLA içeriğini artırmaktadır (Hervas ve ark. 2008, Stanton ve ark. 2003, Ivan ve ark. 2013, Caroprese ve ark. 2010). İnek, koyun, keçi rasyonlarına ilave edilen katkılar rumen biyohidrojenizasyonun düzenlenmesinde etkili olarak sütte *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA içeriğinin artmasına neden olmuştur (Toral ve ark. 2010, Gagliostro ve ark. 2006, Shingfield ve ark. 2006, Lerch ve ark. 2012, Ferlay ve ark. 2013).

Üçgüllu yem ile beslenen inek ve manda sütlerindeki toplam KLA değerini 3 kat artırdığı belirlenmiştir (Tyagi ve ark. 2007, Ferlay ve ark. 2013).

Mir ve ark. (1999) süt keçisi rasyonlarına %0, 2, 4 ve 6 düzeylerinde linoleik ve linolenik yağ asitleri bakımından zengin kanola yağı ilave ederek yapmış oldukları araştırmada rasyona kanola yağı ilavesinin süt yağındaki KLA miktarını önemli derecede etkilediğini ve grupların KLA oranlarını sırasıyla, 10,53, 19,42, 32,05 ve 29,46 mg/g yağ olarak açıklamışlardır.

Lee ve ark. (2006) KLA'nın sütteki yağ oranı ve süt yağının KLA içeriği üzerine etkisini incelemek amacıyla, Holstein sığırının abomasumlarına doğrudan % 0, 50 100 ve 150 g/gün KLA vererek yürüttükleri çalışmada hayvanlara KLA verilmesinin sütteki yağ oranını azalttığını ve süt yağındaki KLA içeriğini çok önemli ölçüde etkileyerek, KLA oranını % 6,8'den % 63,8'e kadar yükselttiğini belirlemişlerdir. Genetik olarak farklı sığırın meme dokusundaki Δ^9 desaturaz aktivitesine bağlı olarak sütteki KLA miktarı artırılabilir (Wahle ve Heys, 2004, Kelsey ve ark. 2003).

t10-c12 KLA izomerinin süt yağını azaltıcı etkisi, süt yağında bulunma miktarı ile ilişkilidir. Süt yağının azalması ile rumende oluşumu arasında ters bir ilişki vardır. İnfüzyon ile 150 g/d KLA karışımı % 31,7 *c9-t11* KLA (47,6 g) ve % 30,4 *t10-c12* KLA (45,6 g) 11 günlük bir süre verildikten sonra süt yağ içeriği yaklaşık % 25 ve % 57 oranında düşmüştür (Bell ve Kennelly 2003).

Ruminantın laktasyon sayısı ve yaşı sütün KLA içeriğini etkiler (Dhiman ve ark. 2002). Holstein Friesian sütünde Jersey inekler ile karşılaştırıldığında yüksek KLA içerdiği, denatüre enzim aktiviteleri, yağ asidi metabolizması ve KLA sentezindeki farklılıklar nedeniyle yaşlı ineklerde (> 7 laktasyon), genç ineklere oranla daha yüksek KLA içerdiği bildirilmiştir. Dağlık ve yüksek bölgelerde elde edilen sütlerin KLA içeri yüksekliğinin bir fonksiyonu olarak *c9-t11* KLA izomerini artırıcı etkide bulunmuştur. Sentetik *c9-t11* KLA takviyeli yemlerle merada beslenen ineklerin süt yağında %91 den daha fazla *c9-t11* KLA oluşmuştur (Kay ve ark. 2004). E vitamini takviyeli diyetlerle beslenmiş ineklerin süt yağın bileşiminde özellikle artırmıştır (Lerch ve ark. 2012, Ferlay ve ark. 2013).

2. 2. İşlenmiş sütlerde KLA

Rodriguez-Alcala ve ark. (2007) işleme ve buzdolabında saklama süresince KLA-güçlendirilmiş süt ürünlerinde *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA izomerlerinin 0,97 ve 1,05 mg/g yağ değişen oranlarda baskın yağ asitleri olarak belirlemişlerdir. KLA izomerleri dağılımı üzerine yapılan çalışmada düşük yağlı sütlerde *c9-t11* KLA izomerinin % 89,87 oranında bulunduğu belirlenmiştir (Park ve ark. 2008). Yağlı, yarım yağlı ve meyveli sütlerde *c9-t11* KLA izomerinin (%0,859-%0,937) *t10-c12* KLA izomerine (% 0,07-% 0,106) oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur (Güler ve ark. 2010) (Tablo 3).

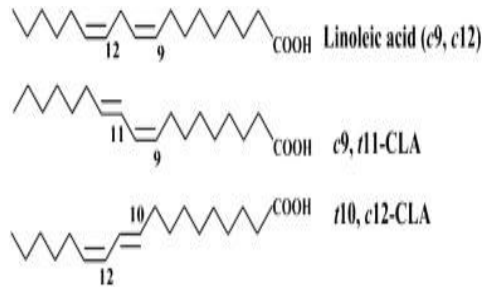
Çiğ, pastörize, UHT ve kondanse sütlerde *c9-t11* KLA izomeri oranlarını sırasıyla %1.16, 0,98, 0,80 ve % 0,63 olarak belirlenmiştir (Fritsche ve Steinhart 1998).

Tablo 3. İşlenmiş sütlerde KLA miktarları

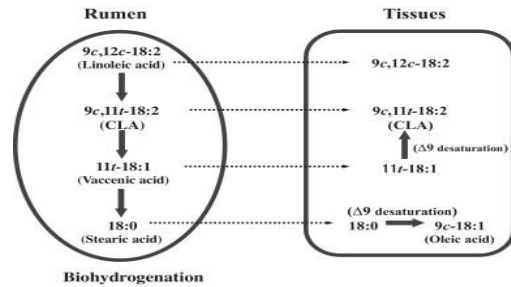
Süt Ürünleri	Toplam KLA (mg/g yağ)	g/100g yağ	
Tam yağlı süt	3,4–6,8	1,020	Güler ve ark. 2010
Homojenize süt	5,5	-	Chin ve ark. 1993
UHT süt	8,0	0,80	Fritsche ve Steinhart 1998
Kondanse süt	6,3-7,0	0,63	Fritsche ve Steinhart 1998
Evapare süt	4,9	0,7	Chin ve ark. 1993
Light süt		-	Fritsche ve Steinhart 1998
Meyveli süt		0,965	Güler ve ark. 2010
		0,961	Güler ve ark. 2010

2. 3. KLA sentezlenmesi

KLA izomerleri doğal olarak ruminant hayvanların rumenlerinde linoleik ve linolenik gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin rumen bakterileri tarafından biyohidrojenasyonu esnasında veya *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA izomerlerinin (Şekil 1) meme salgı bezi ve adipoz dokularında Δ^9 -desaturaz enzimi aracılığıyla trans vaksenik (C18:1, *t-11*) (Şekil 2) asitten sentezlenir (Benjamin ve ark. 2005, Grinari ve ark. 2000, Kay ve ark. 2004, Kepler ve ark. 1966, Kramer ve ark. 2004, Vlaeminck ve ark. 2015).



Şekil 1. Linoleik ve aktif KLA



Şekil 2. Rumende ve dokularda Δ^9 – desaturaz enzimi aracılığıyla KLA sentezi

2. 3. 1. Rumende linoleat *c9-t11* KLA izomeraz enzimi ile

Birinci metabolik yolda, *c9-t11* KLA izomeri ruminant hayvanların rumenlerinde linoleik asitten rumen bakterisi *Butyrivibrio fibrosolvens* tarafından üretilen stoplazmik bir enzim olan linoleat *c9-t11* KLA izomeraz aracılığıyla mikrobiyel biyohidrojenasyon yoluyla sentezlenir. Linoleat *c9-t11* KLA izomeraz enzimi ortamda bulunan serbest (-COOH) grubu varlığında pH 7,2-8,2 aralığında maksimum aktivite göstererek linoleik asidin 12. karbon atomunda bulunan çift bağı 11. karbon atomuna taşıyarak *cis/cis* konfigürasyonunu *cis/trans* konfigürasyonuna dönüştürür. Bu aşamada *c9-t11* KLA izomeri ara ürün olarak sentezlenir ve bir kısmı dokulara taşınır. Dokulara taşınmayan KLA izomerleri, redüktaz enzimi aracılığıyla redükte edilir ve *trans* vaksenik asit (*trans*-11-oktadesenoik asit C18:1) oluşur. Bu bileşiğinde bir kısmı dokulara taşınır. Metabolik yolun son basamağında, taşınamayan *trans*-11-oktadesenoik asit C18:1 bir başka rumen bakterisi tarafından hidrojene edilerek stearik asit oluşur.

2. 3. 2. Dokularda Δ^9 desatüraz enzimi

İkinci metabolik yol ile KLA izomerlerinin sentezi adipoz dokularda ve memeli salgı bezinde gerçekleşir. Linolenik asidin biyohidrojenasyonu esnasında oluşan *trans*-11-oktadesenoik asit C18:1 asitin rumen biyohidrojenasyonuna uğramayan kısmının bağırsaklardan emilerek dokularda endojen Δ^9 -desaturaz enzimi aracılığıyla *c9-t11* KLA ve *trans*-10-oktadesenoik asitten *t10-c12* KLA izomerleri desatürasyonla sentezlenir (Grinari ve Bauman, 1999, Khanol, 2004, Bauman ve ark. 2001, Jenkins ve ark. 2008). *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA metabolik aktiviteleri oldukça farklı olmakla birlikte her iki izomerde insan sağlığı üzerinde etkilidirler. (Benjamin ve ark. 2013, Benjamin ve ark. 2005)

2. 4. KLA'nın SAĞLIĞA ETKİLERİ

Bugüne kadar KLA'nın sağlığa etkileri konusundaki çalışmalar *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA izomerleri ve bunların eşit miktarda karışımları ile yapılmıştır (Tablo 4).

Table 4. KLA izomerleri biyolojik aktiviteleri

KLA İzomerleri	Etki	Referans
	Tümör gelişimini azaltıcı etki	Ip ve ark.1991, Ip ve
	Antioksidan aktivite	Ip ve ark.1991
	Çeşitli kanser türleri üzerindeki önleyici etkileri (göğüs, deri, mide, bağırsak ve yumurtalık)	Ip ve ark.1999, Ochoa ve ark. 2004
	Bağışıklık etkileri	Bassaganya-Riera ve ark. 2012
<i>c9-t11</i> KLA, <i>t10-c12</i> KLA (1:1)	Vücut yağ kitlesi vücut yağ kütlesini azaltıp azalış	Chen ve ark. 2012, Blankson ve ark. 2000; Gauillier ve ark.,2004; Laso ve ark. 2007; Whigham ve ark. 2007
	Bel bölgesini azaltıcı etkisi	Riserus ve ark. 2001
	İltihaplanma tepkisinin	Belury ve ark. 2002 Pariza ve ark. 2001
	Vücut yağsız kitle indeksini artırıcı etkisi	Gauillier ve ark. 2006
	Glikoz düzeyini azaltıcı etki	Malinska ve ark. 2015
	Belirli bir bölgedeki vücut yağ kitlesini	Gauillier ve ark. 2006
	Bel-kalça oranının azaltılması	Gauillier ve ark. 2006
	Alzheimer hastalığı ile ilişkili biyokimyasal parametreler üzerinde olumlu etkisi	Barbosa ve ark. 2009, Gama ve ark. 2015
<i>c9-t11</i> KLA	Anti-osteoporotik etkiler	DeGuire ve ark. 2012
	Anti-aterosklerotik etkileri,	Stachowska ve ark.
<i>t10-c12</i> KLA	Yumurtalık kanseri gelişimi üzerindeki önleyici etkiler	Thuillier ve ark. 2013
	Prostat kanseri üzerinde önleyici etkileri	Ochoa ve ark. 2004

2. 4. 1. Anti-aterojenik etkisi (Hipolipidemik etki)

Hayvan modellerinde anti-inflammatory etkileri lipoprotein ve kolesterolde meydana gelen değişimlerin bir sonucu olarak KLA'nın anti-aterojenik etkileri belirlenmiştir (Lock ve Bauman 2004, Naumann ve ark. 2006, Weldon ve ark. 2004) .

Nitekim, De Deckere ve ark. (1999) KLA ile ratlar üzerinde yürüttükleri bir araştırmada KLA'nın plazma toplam kolesterol ve LDL düzeylerini önemli derecede düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Tavşanlarda ise HDL kolesterolde kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu saptanmıştır. Bir başka çalışmada ise KLA alımı ile serum trigliserit ve total kolesterol düzeylerinde azalma ile lipit metabolizmasında değişiklikler olduğu vurgulanmıştır (Smedman ve Vessby 2001). Kritchevsky ve ark. (2004) tavşanlarda %0,1-0,2 kolesterol içeren diyetle indüklenen aterosklerozun diyete %0,1 KLA ilave edilmesi ile inhibe olduğunu göstermişlerdir. Bu etkileri doza bağlıdır ve verilen KLA dozu % 0,5 gibi daha yüksek bir değere çıkarıldığında inhibe olan aterosklerozun oranı artmıştır.

Kalp ve damar hastalıklarında KLA'nın insanlar üzerindeki etkileri ile çok az sayıda çalışma olmasına rağmen hem KLA hem de her bir izomerin etkilerinin değerlendirildiği çalışma sonuçları arasında farklılıklar bulunmuştur. İnsanlarda yapılan çalışmalarda KLA, obezlerde diyabetiklerde ve normolipidemik bireylerin serumda lipit profilini geliştirdiği, trigliserid (TG) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), toplam kolesterol ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) kolesterol değerlerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Bhattacharya ve ark. 2006, Chen ve ark. 2012, Moloney ve ark. 2004, Mougios ve ark. 2001). Diyetsetel KLA'nın kalp damar hastalıkları riskini önemli derecede azalttığını ve bunu plazma toplam kolesterol ve düşük dansiteli lipoproteinlerini (LDL) düşürerek sağladığını bildirmişlerdir (Bhattacharya ve ark. 2006, Kritchevsky ve ark. 2004, Nagao ve ark. 2003). KLA ve KLA takviyesi ile zenginleştirilen gıdaların tüketimi sağlıklı yetişkinlerde LDL kolesterol seviyeleri üzerinde olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir (Derakhshande-Rishehri ve ark. 2015).

2. 4. 2. Antiobezite ve Yağ Birikimini Azaltıcı Etkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyetsetel KLA izomerlerinin vücutta yağ dokusunu azaltıp, protein, mineral ve su birikimini ve buna bağlı olarak da yağsız kas dokusunu arttırdığı ifade edilmektedir (Syvertsen ve ark. 2006). Bu mekanizma ile ilgili olarak KLA sağlık üzerinde son derece etkili olmakta ve bu etkilerin en önemlilerinden biri de vücut yağ birikimini azaltıcı ve obeziteyi önleyici etki olarak görülmektedir.

KLA izomerlerinin, vücutta yağların depolanmasını sağlayan lipoprotein-lipaz enziminin (Stearol-CoA desaturaz mRNA) aktivitesini inhibe ederek adipoz dokularda lipogenez oluşumunu yani yağ dokularının sentezini engelleyerek vücutta yağların depolanmasını azalttığı bildirilmektedir (Pariza ve ark. 2001). Ayrıca, KLA kaslarda toplam karnitin palmitol transferaz aktivitesini artırarak, depolanmış yağların yıkımını da hızlandırmaktadır (Park ve ark. 1999, Pariza ve ark. 2001, Reardon ve ark. 2012, Ma ve ark. 2014).

İlk kez 1997 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada; ratlarda diyete % 0,05 oranında ilave edilen KLA'nın vücut yağını yüzde 60 oranında azalttığı belirlenmiştir (Park ve ark. 1999). Yapılan bir başka çalışma ise KLA gelişmekte olan rat, sığır ve domuz gibi hayvanlarda denenmiştir. Bu araştırmada; hayvan diyetlerine 0,5 g/100g ile 2 g/100g düzeyinde KLA eklenmiş ve bu şekildeki bir tüketim ile vücudun yağ içeriğini azalttığı belirtilmiştir.

KLA'nın vücut yağını azalttığına dair hayvan denekler ile ilgili çok fazla çalışma yapılmış olmasına karşın, insanlar üzerinde konu ile ilgili yapılmış çalışma sayısının az sayıda olduğu görülmektedir. KLA'nın insan vücut kompozisyonu üzerine doza bağlı etkileri ile ilgili yapılan ilk çalışmada vücut kitle indeksi 25 ile 35 kg/m² arasında olan 60 obez veya fazla kilolu kadın ve erkek gönüllülerde değişik dozlarda (1,7- 3,4- 5,1 ve 6,8 gr/gün) KLA izomer karışımı diyetle beraber 12 hafta süre ile verilmiştir. 3,4 ve 6,8 gr/gün KLA alan gönüllülerde vücut ağırlığı değişmemekle birlikte vücut yağ kitlesinde anlamlı derecede azalma gözlenmiş ve 3,4 gr/gün KLA'nın 12 hafta süre ile kullanımının obez ve fazla kilolularda vücut yağ kitlesini azaltmakta yeterli olacağı sonucuna varılmıştır (Blankson ve ark. 2000).

Obezite üzerine KLA'nın etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; normal kilolu 10'ar kişilik egzersiz yapan gönüllülerden oluşan deney grubuna günde 1,8g KLA karışımı, kontrol grubuna ise hidrojel verilmiştir. 12 haftalık araştırma sonucunda her iki grubun vücut ağırlığında herhangi bir fark bulunmama ile birlikte, KLA verilen grubun vücut yağ oranında kontrol grubuna göre % 4 düzeyinde bir azalma tespit edilmiştir (Thom ve ark. 2001). KLA takviyesinin sağlıklı bireylerde (Mougios ve ark. 2001) obez olmayan sağlıklı kadın ve erkeklerde (Smedman ve Vessby 2001), kilolu erişkinlerde (Watras ve ark. 2006) 6 ay boyunca vücut yağında önemli ölçüde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Yeşil çay ekstresi ile birlikte 3,4 g/gün dozda KLA tüketiminin psikiyatri hastalarında toplam vücut yağını % 5,1-8,1 oranında azaltmış fakat vücut yağsız kitlesini % 4,4-11 oranında artırmıştır. Bu etkinin muhtemelen direkt olarak pankreatik ve gastrik lipazını inhibe eden yeşil çay ekstresinde epigallokateşin-gallat içeriğinin yüksek olması, böylece termogenesisin artırılması ve muhtemelen kahverengi adipoz doku solunum hızında önemli bir rol oynayan bir enzim olan catechol O-metiltransferazın enzimatik degregasyonunu önlemesi ile açıklanmıştır (Katzman ve ark. 2007). 18-44 yaş aralığında vücut kitle indeksi 25-30 kg/m² olan 40 sağlıklı yetişkine 6 ay süresince 3.2 g/gün KLA takviyesi bireylerin vücut yağ içeriği (1,0-2,2 kg) azaltmış ve yaz sezonu süresince bireylerin kilo alımını engellemiştir (Watras ve ark. 2006). Sadece günde 6 g düzeyinde % 39 *t10-c12* KLA ve %37 *c9-t11* KLA içeren KLA tüketen tip 2 diyabetli hastalarda vücut ağırlığında azalmalar gözlenmiştir (Belury ve ark. 2003). Ayrıca değişik miktar ve uygulama sürelerine bağlı olarak *c9-t11* KLA ve *t10-c12* KLA izomerlerin yer aldığı diyetler ile çeşitli hayvan modelleri kullanılarak yapılan son çalışmalarda da vücut yağını azaltıcı etkisi ortaya konulmuştur (Takahashi ve ark. 2002, Terpstra ve ark. 2002, Wang ve ark. 2015). *t8-c10 + c9-t11* KLA ile beslenen erkek hamsterlarda yağ kitlesinin azaltılmasının mümkün olduğunu görülmüştür (Joseph ve ark. 2010). 8 hafta süresince *t10-c12* KLA (% 0,5) diyet ile beslenen farelerde vücut yağ içeriğinin azaldığı belirlenmiştir (Marques ve ark. 2015). KLA izomerlerinin antiobezite etkisi, vücutta yağ

depolanmasını sağlayan lipoprotein-lipaz enziminin aktivitesini engellediğini ve bunun neticesinde de metabolizmada az yağ depolanması gerçekleştiği ile açıklamaktadırlar (Blankson ve ark. 2000, Moloney ve ark. 2004).

2. 4. 3. KLA'nın kemik dokusuna etkisi

KLA'nın iskelet sistemi üzerine olan pozitif etkisi yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda KLA'nın kemik yoğunluğu, kemik mineral içerikleri, kemik kuru ağırlıkları, kemik uzunluğu veya kalsiyum, magnezyum, fosfat içeriğini arttırdığı bildirilmiştir (Kelly ve Cashman 2004, Park ve ark. 2013, Rahman ve ark. 2014). Erkek farelerde %1 kalsiyumlu diyet ile beraber KLA'nın kemik kütlesini artırmak için kullanılacak bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür (Park ve ark. 2011). KLA'nın kemik yoğunluğuna etkisi ile ilgili tutarlı olmayan sonuçlarda vardır Bu tutarsızlığa kısmen KLA ve diyetteki kalsiyum arasındaki etkileşime bağlı olduğu belirtilmiştir (Park ve Pariza 2008).

2. 4. 4. KLA'nın tümör oluşumunu önleyici etkisi

Yapılan çalışmalarda KLA'nın tümör büyümesi veya metastatik potansiyelini inhibisyonda rolü belirsiz olduğu buna ek olarak KLA'nın antikarsinogenik etki mekanizması da tam olarak bilinmemektedir. Elde edilen bazı araştırma sonuçları anjiyojenez inhibisyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Singeneik sarkoma hücreleri ile deri altı angiogenesis uyarılan farelerde KLA'nın inhibitör etkisi bulunduğu (Sommer ve ark. 2002), memeli beyinde yeni damarların büyümesi üzerine KLA'nın önleyici bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (Sikorski ve ark. 2008). Bu büyüme salgısı depresyon faktörleri ile bağlantılı olabileceği belirtilmiştir. Diyetik KLA, serumda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (Bhattacharya ve ark. 2006, Stachowska 2008). Hücre döngüsü bileşenlerine müdahale ile tümör tedavisinde yarar olabileceği belirtilmiştir (Kelley ve ark. 2007, Stachowska 2008). KLA doğrudan yada dolaylı olarak beyin antitümör ilacı ve muhtemelen bir kemopreventif ajan olarak, beyin tümörü hücreleri üzerinde büyüme önleyici, pro-apoptotik ve hücre ayırıcı etkinin kombinasyonunda, uygun olabileceği, habis beyin tümöründen etkilenen hastalar için yeni bir tedavi stratejisini de sunabileceği görülmüştür (Spector 1988, Cimini ve ark. 2005). KLA'nın tümör oluşumuna etkisi lipid peroksidasyonu, eikosanoid metabolizması ve genetik faktörlerin değiştirilmesi olarak belirtilmiştir (Kelley ve ark. 2007). Bütün bunların mekanizması henüz tam olarak tanımlanamamıştır. Son zamanlarda, yapılan çalışmalarda KLA ve n-3 yağlı asitlerinin meme tümörü neden olan kök hücrelere karşı toksik etkiyi artırmış fakat çoğalmayı azaltmamıştır (Erickson ve Hubbard 2010). KLA'nın antitümör aktivitesini analiz ederken insan denemelerinden elde edilen sonuçlar farklı olma eğilimi gösterirken hayvan ve insan modelleri arasındaki bazı tutarsızlıkları ayırt etmek önemlidir (Kelley ve ark. 2007, Plourde ve ark. 2008, Stachowska 2008). Hayvan modelleri üzerindeki çalışmalarda, kimyasal olarak indüklenen meme bezi, deri, kolon tümörleri yanı sıra, insan mide peritoneal metastazı inhibe ettiği rapor edilmiştir (Kuniyasu ve ark. 2006, Sakai ve ark. 2006, Stachowska 2008, Shiraishi ve ark. 2010). İlginç bir şekilde, tümör oluşumunun engellenmesi KLA karışımlarının (0,05-1%) diyetteki konsantrasyonuna bağlıdır. Bununla birlikte toplam yağların %1'inin üstünde KLA alımının artırılması antikanserojenik

aktiviteyi artırmamakta, KLA ile beslenme süresi ve zamanının önemli rol oynadığı görülmektedir (Kelly 2001). İnsanlarla yapılan çalışmaların sonucu daha az ikna edici bulunmaktadır. Doza ve zamana bağlı olarak insan kolon kanseri hücreleri üzerinde *t9-t11* apoptosis etkisi bildirilmiştir (Beppu ve ark. 2006). Larsson ve ark. (2009) meme kanserine karşı KLA'nın koruyucu bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Belirtmek gerekir ki geviş getiren hayvanların ürünlerinden kaynaklanan KLA karışımlarının tümör hücrelerinin çoğalmasını önleyici gücü sentetik olarak hazırlananlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (De La Torre ve ark. 2007). Bunlar literatürde bildirilen KLA etkilerinin tutarsızlığının açıklaması olabilir. Ayrıca çalışmalarda kullanılan doz, izomerler ve bunların oranı önemli ölçüde etkiyi değiştirmektedir. KLA'nın kilo kaybına neden olduğu iddiası da kanserli hastaların tedavisinde KLA kullanımında önemli bir konu ve KLA takviyesini yapılması hala tartışmalı bir durumdadır (Rastmanesh 2011).

KLA izomerleri, yağların oksidasyonu ile açığa çıkan karsinojenik etkili serbest radikallerin oluşumunu engellemesine bağlı, antikarsinojenik özellikleri ile çeşitli hayvan modellerinde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Lee ve ark. 2005, Bhattacharya ve ark. 2006, Kelley ve ark. 2007).

Konu ile ilgili ilk çalışmalar 15 yaş ve üstü kansersiz kadınlarda süt tüketiminin araştırılması ile başlamıştır (Knekt ve ark. 1996). 25 yıl süren çalışma sonunda katılımcılarda süt tüketimi ile meme kanseri insidansı arasında ters bir ilişki olduğu görülmüştür. Klinik çalışmalarla ilgili olarak birçok araştırmacı, insan meme kanseri üzerinde durmuştur. Bunlarda serum ve meme adipoz dokuda KLA seviyeleri analiz edilmiş, meme kanseri ve KLA arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla serum ve adipoz dokulardaki KLA miktarı belirlenmiştir. Postmenopozal kadınlarda yapılan bu çalışmada, serum ve diyetlerdeki KLA seviyelerinin kontrol grubuna göre, meme kanserli hastalarda daha düşük olduğu görülmüştür. Buna karşın meme yağ dokusunda KLA konsantrasyonunun kadınlarda meme kanseri olup olmayacağı ile direkt ilişkisi görülmemiştir. (Aro ve ark. 2000), KLA'nın insanlarda kansere karşı koruyuculuğu konusunda belirsiz bir durum ortaya konmuştur (Chajès ve ark. 2002).

Bazı *in vitro* çalışmalar KLA'nın kolon kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği (Cho ve ark. 2003, Kim ve ark. 2003), KLA'nın aynı zamanda meme kanseri hücre gelişimini (Park ve ark. 2000, Lim ve ark. 2014) ve insanda kanserli karaciğer hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir (Durgam ve Fernandes 1997).

Sonuç olarak, kanser üzerinde diyet konjuge yağ asitlerinin rolü hala tartışmalı olmakla birlikte araştırmalardan elde edilen pozitif bulgular metastazın önlenmesi ve kolon kanserli hastaların tedavisinin iyileştirilmesi için diyetle yapılacak değişimlerin ve düzenlemelerin son derece önemli bir terapötik yaklaşım olabileceğine işaret etmektedir.

2. 4. 5. KLA'nın immün ve inflamatuvar üzerine etkileri

Bağışıklığa karşı yan etkilerin azaltılması, kolonik enflamasyonun azaltılması, bağışıklık hücrelerinde sitokin kaynaklı antijen üretiminin azalması, bağışıklık tipi alerjik tepkilerin azalması, sitokin, prostaglandin ve lökotrien üretiminin düzenlenmesi de dahil olmak üzere immün ve inflamatuvar yanıtları üzerine KLA'nın etkileri bir çok hayvan modellerinde bildirilmiştir (Cook ve ark. 1993, Miller ve ark. 1994, Belury ve Kempa-Steczko, 1997, Whigham ve ark. 2001, Bassaganya-Riera ve ark. 2002, 2003, Yu ve ark.2002). Bununla birlikte farelerde beyaz yağ dokularında *t10-c12* KLA izomerinin inflamatuvar tepkileri indüklediği bildirilmiştir (Poirier ve ark. 2006). İnsanlarda da immün ve inflamatuvar yanıtlar üzerine KLA'nın etki sonuçları tutarsızdır. Özellikle immün teşvik edici deneylerde KLA takviyesinin yararlı etkileri gözlenmiştir (Albers ve ark. 2003, Turpeinen ve ark. 2002, Peterson ve ark. 2009). Huş poleni alerjisi olan kişilerde 2g/gün *c9-t11* KLA takviyesinin 12 haftalık uygulaması sonucunda daha az hapşırma ile iyileşme belirtileri görülmüştür (Turpeinen ve ark. 2002). Buna ilaveten Hepatit B aşısı sonrasında KLA takviyesinin antikör üretimini geliştirdiği bildirilmiştir (Alber ve ark. 2003). Immün ve inflamatuvar hastalıklar üzerinde insan çalışmalarından elde edilen genel sonuçlar biraz tutarsız olmasına rağmen, özellikle bağışıklık tepkilerinin üzerinde KLA uygulama oldukça umut vericidir. Bu durumda immün ve inflamatuvar yanıtlarda KLA'nın rolünü KLA takviyesi ile herhangi bir potansiyele ya da olumsuz etkilerinin onaylanması için daha kapsamlı testlere gereksinim vardır.

2. 4. 6. Günlük Tüketim

KLA esansiyel bir yağ asidi niteliği taşımakta ve günlük gereksinimin gıdalarla sağlanması gerekliliği bulunmaktadır. İnsanlar için gerekli miktarın yüzde 60'ı süt ürünlerinden, yüzde 37'si et ürünlerinden ve çoğunlukla *c9-t11* KLA izomeri olarak sağlanmaktadır. Ticari preparatları ise linoleik asidin izomerizasyonu ile ve *c9-t11* ve *t10-c12* KLA 1:1 oranında hazırlanarak üretilmektedir. KLA kullanımının insanlar üzerindeki biyolojik etkilerini gösterilebilmesi için günlük tüketilmesi gereken KLA miktarları hakkında değişik araştırmacıların önerileri şöyledir Chamruspollert ve Sell (1999) 1,5-3 gr/gün, Blankson ve ark. (2000) 3,4 gr/gün, Ip ve ark. (1995) 3 gr/gün, Cherian ve Ahn (2002) 3 gr/gün olarak bildirmektedirler. KLA'nın günlük tüketim miktarı üzerinde yapılan çalışmalarda, erkekler için tüketilmesi gereken düzey 212 mg/gün, kadınlar için ise 151 mg/gün olarak saptanmıştır. FDA tarafından bir gıda katkı maddesi olarak onaylanan KLA'nın günlük tüketimi %60 *c9*, %90 *t11* ve 50;50 oranında *t10-c9* izomer karışımı olarak tüketilmesi uygun görülmüştür. Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ile insan denekler üzerinde yan etkisinin görülmediği günlük 0,5-7g dozun tüketilebileceği bildirilmiştir (Berven ve ark. 2000, Noone ve ark. 2002, Albers ve ark. 2003, Kamphuis ve ark. 2003, Gaullier ve ark. 2005,2007). Uzun süreli klinik çalışmalarda (1-2 yıl) günde 3,4-6g arasında KLA tüketiminin herhangi bir yan etkisi görülmemiştir (Gaullier ve ark. 2004, 2005). Ancak KLA takviyesi ile ilgili hem hayvan hemde insan çalışmalarına dayanarak yağlı karaciğer, insülin direnci, oksidatif stres ve süt yağı potansiyel güvenlik kaygıları tartışmalıdır (Kelley ve ark. 2007, Risérus ve ark. 2002). 6 aydan az kısa süreli klinik çalışmalarında KLA takviyesinin erkeklerde yağsız kütle, vücut

yağı dağılım oranı ya da kilo azalmasında çok az bir değişim ortaya koyduğu belirlenmiştir (Larsen ve ark. 2003). Whigham ve ark. (2007) günde 3,2 g KLA takviyesinin insanda yağlı dokuda 6 aylık süre ile liner bir azalma olduğunu bildirmiştir. Günde 1,7-6,8 g arasında değişen oranlarda KLA takviyesinin vücut yağ kitlesi etkisinin azalmasını test edildiği çalışmada 3,4 g KLA'nın yağ kitlesi azalmasında etkili olduğu daha fazlasının faydalı olmadığı ifade edilmiştir (Blankson ve ark. 2000). KLA tüketiminin Avustralya'da 1500 mg/gün, İngiltere'de 400-600 mg/gün ve Almanya'da ise 4000 mg/gün civarında olduğu kaydedilmiştir. Süt, 3-6 mg/g düzeyindeki KLA içeriği ile birinci et ve et ürünleri ise ikinci sırada yer almaktadır.

Bu çalışmada yukarıda da belirtildiği gibi sağlık üzerine çok sayıda yararı olan KLA'nın manda süt yağında belirlenmesi amaçlanmıştır

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3. 1. Manda sütü örneklerin toplanması

Bu araştırmada materyal olarak kullanılan 30 adet manda sütü İstanbul ili, Silivri ve Çatalca'da manda yetiştiriciliği yapan çiftliklerden temin edilmiştir. 100 mL'lik örnek kaplarına alınan süt örnekleri 4°C'de en kısa zamanda laboratuvara getirilmiş analiz edilinceye kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3. 2. Süt örneklerinde fiziksel ve kimyasal analizler

Manda sütü örnelerinin % kurumadde, %laktoz ve % protein değerleri FOSS Milko ScanTM 120 (manda sütüne göre standardize edilmiş, Foss electric, Danimarka) süt analizörü kullanılarak; Asitlik, SH (Soxhalet Henkel) cinsinden N/4'lük NaOH çözeltisi ve fenolftalein indikatörü kullanılarak AOAC (2007)'ye göre; Yağ, Süt bütirometresi kullanılarak 1.82'lik H₂SO₄ ile belirlenmiştir. Manda süt örneklerinin pH değeri ölçümü dijital pH-metre (HANNA tipi HI 9321, Portekiz) kullanılarak oda sıcaklığında pH elektrodun süt örneklerine daldırılması ile belirlenmiştir.

3. 3. Manda sütü örneklerinden yağ ekstraksiyonu

Manda sütünden yağın ekstraksiyonu Feng ve ark. (2004) tarafından önerilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 50 ml'lik falkon tüpüne 20 ml süt örneği alınarak 4°C'de 30 dk. 12.000 rpm'de santrifüj (Universal 32R Hettich Centrifuge, Germany) edilmiştir. Ayrılan yağdan ependorf tüpe 100 mg alınarak yaklaşık 20 dk. oda sıcaklığında erimesi için bekletilmiştir. Daha sonra mikro santrifüj ile 20 dk oda sıcaklığında 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Yağ tabakasında beliren 3 farklı fazdan üst kısımda toplanan lipid tabakası ayrılarak azot gazı altında kurtularak -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3. 4. KLA Metil Esterlerinin Hazırlanması

Ayrılan lipid tabakası yağ asitleri Konjuge metil esterlerinin hazırlanmasında sodyum metoksi kullanılarak Christie (1982) göre yapılmıştır. 100 mg yağ asiti örneği test tüpüne alınarak, hexanda çözündürülmüş Internal Standat olarak methyl tricosanoate (23:0) (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) (IS) çözeltisinden her bir örneğe 20 µL ilave edilerek karıştırılmıştır. Metilasyon için 1,5 ml 0.5 M metanolik sodyum (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) ile karıştırılarak 90°C'de 10 dk su banyosunda ısıtılmıştır. Soğutma işleminin ardından 2,5 ml metanolde hazırlanmış % 14'lük BF₃ (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) ilave edilerek karıştırılmış 90°C'de 30 dk su banyosunda bekletilmiştir. Karışım soğutularak 1 mL hegzan eklenerek 30 sn vortekste karıştırılmış, Sanrrifüj işlemini takiben hegzan fazından 1 mL örnek 0.45 µm filitreden geçirilip amber renkli viallere alınarak GC'de analiz edilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır.

3. 5. Gaz kromatografisi ile KLA yağ asitleri metil esterlerinin belirlenmesi

Metil esterlerine dönüştürülen Konjuge yağ asitlerinin belirlenmesinde SP-2560 fused silica kapiler kolon (100m, 0.25mm i.d., 0.2 mm film kalınlığı; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) kullanılarak, FID (Flame Ionization Detector, alev iyonlaştırıcı dedektör) dedektörlü, otomatik enjektörlü gaz kromatografi gaz kromatografisi (model GC-FID- 2010 plus, Shimadzu, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. GC-FID fırın sıcaklığı dakikada 4°C artacak şekilde 100°C'den 220°C'ye kadar programlanmış, enjektör ve dedektör sıcaklıkları 300°C ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (1 mL /dk sabit akış hızı) kullanılmış ve 100:1 split modu seçilmiştir. Konjuge linoleik yağ asitlerinin tanımlanmasında Konjuge linoleik yağ asiti (% 42 *c*9, *t*11-18:2, % 44 *t*10-*c*12, %10 *c*10-*c*12 ve %5 *t*9-*t*11 octadekadienoik asit) metil esterleri geometrik izomerleri içeren, (katalog numarası O5632) standart (SigmaAldrich, St Louis, MO, USA) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4. 1. Süt örneklerinin temel bileşimi

Deneme materyali manda sütü örneklerinin % kurumade, % yağ, % protein, % laktoz SH ve pH değerleri Tablo 5' de verilmiştir.

Tablo 5. Manda süt bileşimine ait analiz sonuçlar (ortalama \pm Sdt)

		Ortalama	Min	Max
Kurumadde	(%)	17,08 \pm 0,98	15,38	18,47
Yağ	(%)	6,16 \pm 0,65	5,33	7,31
Protein	(%)	5,46 \pm 0,81	3,69	6,73
Laktoz	(%)	4,36 \pm 0,40	3,73	5,17
Asitlik (Soxhelet Henkel)		5,50 \pm 0,36	5,30	5,70
pH		6,57 \pm 0,23	6,58	6,95

Süt örneklerinde kurumadde içeriği en düşük %15,38, en yüksek %18,47 arasında ortalama %17,08 \pm 0,98 olarak belirlenmiştir. Han ve ark. (2012) manda sütü kurumadde içeriğini %16,39-%18,47 aralığında, Şahin ve ark. (2016) Anadolu mandalarında ortalama % 16,99 olarak tespit etmişlerdir.

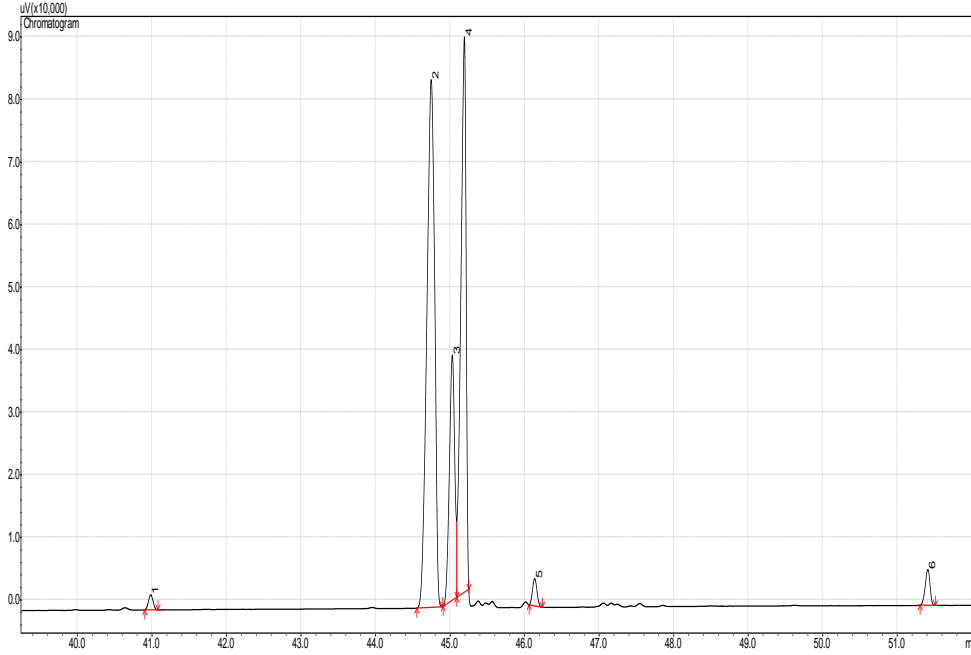
Manda sütü yağı, inek sütüne kıyasla neredeyse iki kat daha zengin yağ içeriği ile sütün yüksek enerji ve besleyici değerinden sorumlu en önemli bileşenidir. Deneme sütlerinin % yağ içerikleri %5,33-7,31 arasında ortalama % 6,16 \pm 0,65 olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Varrichio ve ark. (2007), yağ içeriğinin% 8,3'lük bir ortalama değere sahip olduğunu, ancak normal koşullar altında % 15'e kadar ulaşabileceğini bildirmiştir. Zicarelli (2004) ise İtalyan mandaları süt yağ içeriğini %7,3-% 8,3 değişim aralığında, Qureshi ve ark. (2010) Nili Ravi manda sütleri yağ içeriğini % 3-8,3 aralığında ortalama % 5,36 olarak belirlemiştir.

Sütlerin % protein içeriği ortalama %5,46 \pm 0,81 (%3,69-%6,73) olarak belirlenmiştir. Han ve ark. (2012) manda sütü protein içeriğini %4,59-%5,37 değişim aralığında, Anadolu mandalarında ise % 4,85 olarak belirlenmiştir (Şahin ve ark. 2016).

Süt örneklerinde laktoz ortalama % 4,36 \pm 0,40 olarak % 3,73-%5,17 değişim aralığında bulunmuştur. Manda sütleri laktoz içeriği Han ve ark. (2012)'nin belirlediği değerlere yakın (% 4,49- 4,79), Şahin ve ark. (2016)'nin belirlediği değerden (%5,17) düşük bulunmuştur.

4. 2. Konjuge yağ asitleri metil esterlerinin belirlenmesi

Konjuge linoleik yağ asiti esterleri KLA mix standart kullanılarak KLA yağ asitleri bağlı alıkonma zamanları (relative retention time) gaz kromatografi cihazında analizlenerek belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3 Internal standart (tricosanoate metil ester (C23:0) ve KLA standart kromotogramı (4 c9-t11; 2 c11-c13; 3 t10-c12; 5-6 cc tt)

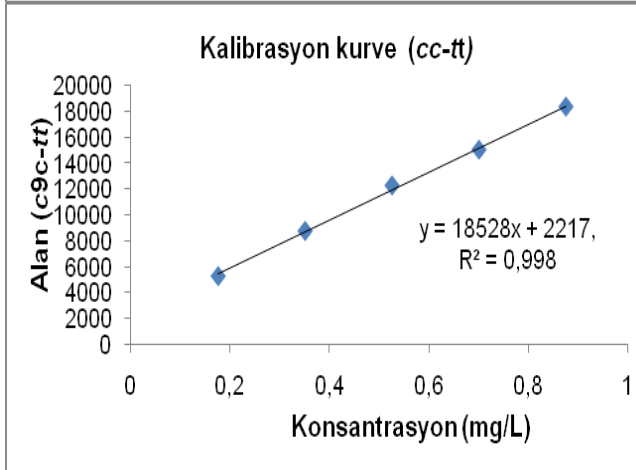
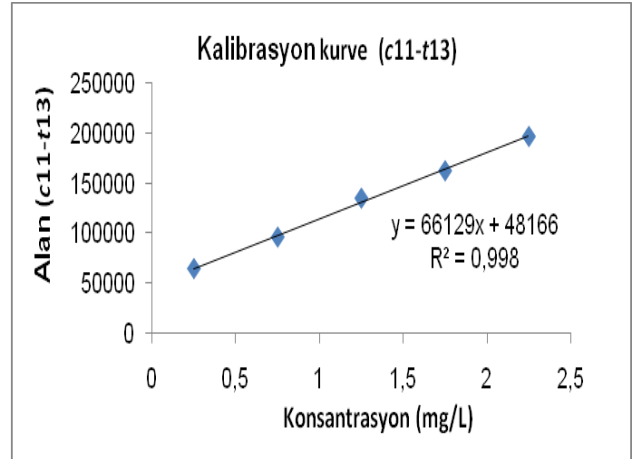
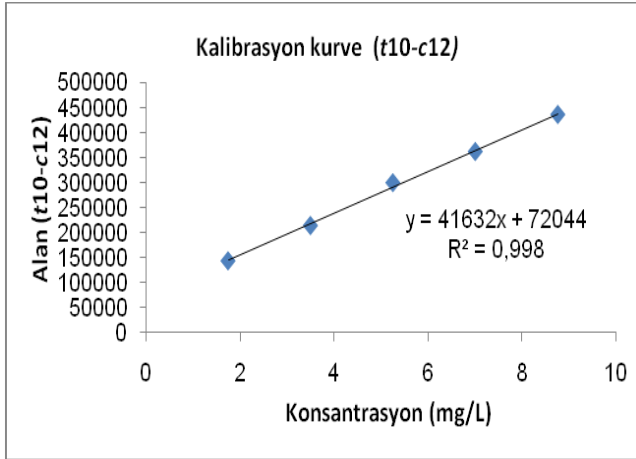
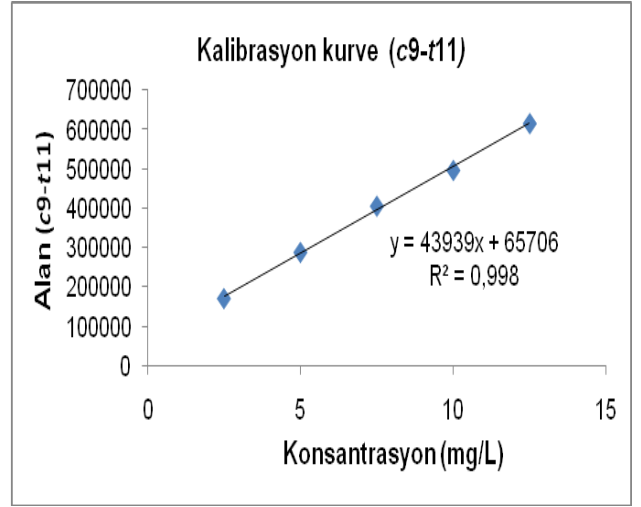
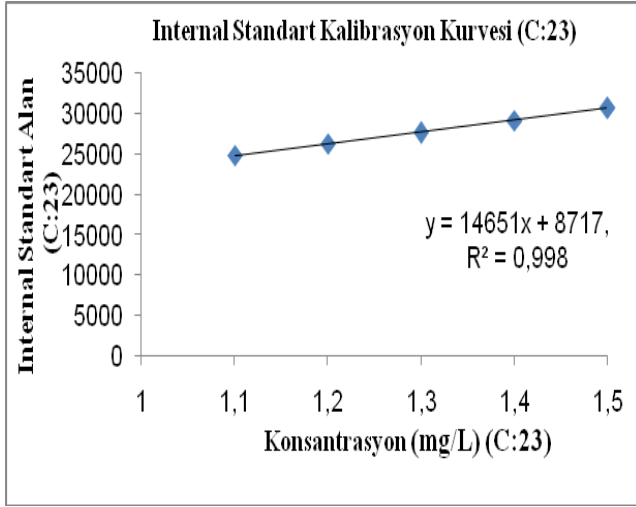
Böylece elde edilen standartların bağlı alıkonma zamanları yardımı ile kromatogramlardaki piklere karşılık gelen Konjuge linoleik yağ asitlerinin hangileri olduğu belirlenmiştir.

Üç tekrarlı olarak elde edilen kromatogramlardaki piklerin yüzde (%) alanlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır (Thompson 1996; Visentainer, 2007) Daha sonra farklı konsantrasyonlardaki yağ asidi standartları cihaza yüklenerek kalibrasyon kurveleri oluşturulmuştur (Şekil 4).

4. 3. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması

Miktar tayini yapılan konjuge yağ asitleri için LOD değeri hesaplanırken S/N oranı 3, LOQ değeri hesaplanırken S/N oranı 10 olarak alınmıştır. Konjuge yağ asitleri için LOD ve LOQ değerleri Tablo 6 de verilmiştir. LOQ konsantrasyonlarında ardarda dokuzar enjeksiyon yapılarak, LOQ konsantrasyonlarına karşılık gelen alanların % RSD değerleri ise deneysel olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD}/\text{Mean}) \times 100$$



Şekil 4. Konjuge yağ asiti standartları kalibrasyon kurveleri

Tablo 6. Konjuge yağ asitleri için LOD ve LOQ değerleri

	LOD	LOQ	Recovery (%)	RSD (%)	R ²
c9-t11 KLA	1,484	2,011	99,590	2,955	0,998
c11-t13 KLA	0,275	0,373	99,614	3,189	0,998
t10-c12 KLA	1,049	1,422	99,772	2,450	0,998
cc-tt KLA	0,100	0,136	99,479	3,286	0,998
IS (C23:0)	0,194	0,263	100,008	0,998	0,998

4. 4. Manda sütü yağı konjuge linoleik yağ asitleri profili

Araştırmada analiz edilen manda sütü örneklerindeki 1g süt yağındaki yağ asitleri bileşiminin mg/g yağ olarak ortalama ve standart hata değerleri Tablo 7’de verilmiştir.

KLA izomerleri arasında süt yağında en yüksek miktarda *c9-t11* KLA izomeri sağlık koruma rolüne sahip olması nedeniyle miktar belirlenmesi amacıyla en fazla üstünde durulan izomer olmuştur.

Genel olarak süt yağında toplam KLA’nın % 80’den fazlasını oluşturan *c9-t11* KLA süt yağlarında 0,2-20 g KLA/100g süt yağı değişim aralığında belirlenmiştir (Chin ve ark.1992, Fritsche ve Steinhart, 1998, Parodi, 1994). AB’de ortalama *c9-t11* KLA miktarı 0,76 g KLA/100 g süt yağı ve aşırı değerler olarak da 0,13 ve 1,89 g KLA/100 g süt yağı düzeyinde belirlenmiştir (Precht ve Molquentin 2000). Varrichio ve ark. (2007) tarafından da manda sütlerinde, KLA ortalama içeriğinin inek sütlerine kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmiştir

Tablo 7. Manda sütü yağı Konjuge linoleik yağ asitleri profili (mg/g yağ)

KLA	Ortalama±Sdt (mg/g yağ)	Min. (mg/g yağ)	Max. (mg/g yağ)	Toplam KLA’daki oranı (%)
<i>c9-t11</i> KLA	5,22±0,75	3,35	5,95	86,13
<i>t10-c12</i> KLA	0,24±0,28	0,04	1,07	3,96
<i>c10-c12</i> KLA	0,19±0,05	0,12	0,27	3,13
<i>t9-t11</i> KLA	0,41±0,21	0,19	0,72	6,76
Toplam KLA	6,06±0,96	3,85	7,33	

Manda sütü konjuge linoleik yağ asitleri belirlenmesine yönelik yapılan bu çalışmada, deneme manda süt yağlarında *c9-t11* KLA izomeri en düşük 3,35 mg/g yağ, en yüksek 5,95 mg/g yağ ve ortalama 5,22±0,72 mg/g yağ olarak belirlenmiştir

Mnard ve ark. (2010) manda sütlerinde başlıca Konjuge linoleik yağ asiti olan *c9-t11* KLA içeriğini ortalama % 0,90, Tonhati ve ark. (2001) % 0,8 yağ asiti ve Tyagi ve ark. (2007) ise, manda sütü yağında *c9-t11* KLA içeriği ortalama 7,0 g/kg yağ olduğunu bildirmişlerdir.

Mihaylova ve Peeva (2007) Bulgar Murrah mandalarda biyolojik aktif izomer *c9-t11* KLA içeriğini %0,17-%0,43 arasında ortalama %0,29 olarak, Tyagi ve ark. (2008) ise Murrah manda süt yağında ise *c9-t11* KLA ortalama değeri 10,8±0,95 mg/g yağ olarak belirlenmiştir. Sun ve ark. (2014) Murrah manda süt yağında *c9-t11* KLA içeriğini 2,36 g/100g yağ ile Nil mandaları süt yağında daha yüksek (1,89 g/100g yağ) olduğunu belirtmiştir.

Talpur ve ark (2007) Kundi mandalarda *c9-t11* KLA içeriğini 0,50-1,0 g/100 g yağ ortalama 0,8 mg/100g yağ olarak, Nili Ravi mandalarında ise 0,40-0,94 mg/100g aralığında ortalama 0,72 mg/100g yağ olarak saptamıştır.

Su mandalarında toplam *c9-t11* KLA içeriği Han ve ark. (2012) tarafından 4,4-7,6 mg/g yağ aralığında ortalama 5,91±0,3 mg/g yağ olarak, Bergamo ve ark (2003) ortalama 7,3±0,8 mg/g yağ olarak belirlenmiştir.

Manda sütlerinde yaz (Mayıs-Temmuz) döneminde 5,5 mg/g, kiş (Aralık - şubat) döneminde 4,65 mg/g ve mevsimsel ortalama değeri 5,75 mg/g olarak belirlemiştir (Talpur ve Bhangar 2005).

İnek sütlerinde *c9-t11* KLA miktarı, Feng ve ark. (2004) metod denemesi yaptığı çalışmada kullandığı inek sütü örneklerinde *c9-t11* KLA içeriğini 3,8 mg/g yağ, denemede kontrol grubu inekstlerinin süt yağı *c9-t11* KLA içeriği ortalama 0,53 g/100 g yağ olarak belirlenmiştir (Thanh ve ark.2015).

Holstein Friesian x Tharparkar inek sütlerinde *c9-t11* KLA içeriğini 12,5±0,86 mg/g yağ olarak (Tyagi ve ark. 2008), Holstein Friesia inek sütlerinde *c9-t11* KLA izomerini 5,57 mg/g yağ düzeyinde (Suksombat ve Chullanandana 2008) saptanmıştır.

Süt sığırlarında, Alman Holstein-Friesian (Stoop ve ark. 2008), İtalyan Holstein-Friesian (Mele ve ark. 2009) ve Holstein-Friesian (Garsnworthy ve ark. 2010) *c9-t11* KLA değerlerinin sırasıyla ,% 0,39,% 0,35 ve % 0,39 olduğu bildirmiştir. Mnard ve ark. (2010) sütlerde başlıca konjuge linoleik yağ asiti olan *c9-t11* KLA içeriğini inek süt yağında ortalama % 0,70 olarak saptamıştır.

Küçük ruminantlardan koyun sütünde *c9-t11* KLA içeriği Mayıs –Temmuz döneminde 8,22 mg/g yağ asiti, Aralık – şubat şubat döneminde ise 7,55 mg/g olarak yaz döneminde daha yüksek değerde belirlenmiştir (Talpur ve Bhangar 2005). Nudda ve ark (2005) koyun sütünde *c9-t11* KLA içeriğini 1,73 mg/100 mg yağ asiti Tsiplakou (2006) otlayan koyunlarda *c9-t11* KLA miktarını % 0,40-% 2,82 toplam yağ asiti ve 48

adet Sarda sütçü koyun üzerinde yürütülen çalışmada süt yağı *c9-t11* KLA içeriği 2,27 g/100g yağ asiti (Cabiddu ve ark. 2017) olarak belirlemiştir.

Keçi sütleri *c9-t11* KLA içeriği yaz ve kış dönemi olarak sırasıyla 5,78 mg/g ile 5,30 mg/g olarak belirleyen Talpur ve Bhanger (2005) mera otlatmasının yapıldığı yaz döneminde *c9-t11* KLA izomer içeriğinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Fernandes ve ark (2014) ise keçi sütünde *c9-t11* KLA 0,53 g/100 g yağ asiti, Tsiplakou (2006) ise *c9-t11* KLA izomerini keçi sütlerinde % 0,20-0,50 değişim aralığında ve ortalama % 0,30 toplam yağ asiti olarak belirlemiştir. Trigueros ve ark (2015) fermente süt ürünü üretiminde kullandığı keçi sütü *c9-t11* KLA içeriğini % 0,81 toplam yağ asiti olarak tespit etmişlerdir. Orta laktasyondaki yirmi dört Mahabadi keçi süt yağında *c9-t11* KLA biyolojik izomeri ortalama 0,35 g/100 yağ asiti olduğunu bildirmiştir (Emami ve ark. 2016).

İnek ve keçi sütünden yüksek, koyun sütünden düşük olarak bulunan *c9-t11* KLA izomer manda süt yağında yapılan literatür çalışmasında Han ve ark. (2012), Talpur ve Bhanger 2005) benzer, Talpur ve ark (2007), Tyagi ve ark. (2008) düşük bulunmuştur.

t10-c12 KLA izomeri linoleik asit ve linolenik asidin biyolojik hidrojenasyonunda *trans-10* C18:1 oluşumu sırasında ara ürün olarak açığa çıkar. Vücutta yeni yağ dokularının oluşumunun engellenmesinde dolayı ikinci önemli KLA izomeridir. *t10-c12* KLA süt yağ yüzdesi ve veriminde güçlü bir düşüşe neden olarak görülen inhibitör ve anti-lipojenik etkiye sahip olması özelliği ile önem taşımaktadır.

t10-c12 KLA izomeri yapılan çalışmalarda tüm ruminant sütlerinde toplam KLA içeriğine katkısı % 3,2-5,9 düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Baumgard ve ark. 2001; Palmquist 2001),

Araştırmamızda manda süt yağında *t10-c12* KLA 0,04 -1,07 mg/g yağ değişim aralığında ortalama $0,24 \pm 0,28$ mg/g yağ olarak bulduğumuz değerler Tyagi ve ark. (2008) tarafından Murrah manda süt yağında *t10-c12* KLA ortalama ($0,9 \pm 0,06$ mg/g yağ) değerinden düşük olduğu görülmektedir. Tonhati ve ark. (2001) ise manda sütlerinin, *t10-c12* KLA içeriğini % 0,12 yağ asiti olarak belirlemiştir.

t10-c12 KLA inek süt yağında 0,02 g/100 g yağ olarak (Thanh ve ark. 2015), mevsimsel değişimin incelendiği diğer bir çalışmada ise inek sütlerinde yaz mevsiminde 0,37 mg/g kış mevsiminde 0,19 mg/g olarak tespit edilmiştir (Talpur ve Bhanger 2005).

Tyagi ve ark. (2008) Holstein Friesian x Tharparkar inek sütlerinde *t10-c12* KLA içeriğini $1,1 \pm 0,09$ mg/g yağ, (Suksombat ve Chullanandana 2008) Holstein Friesian inek süt yağlarında bu değer 0,016 mg/g yağ olarak saptanmıştır.

Küçük ruminant sütlerden koyun süt yağında *t10-c12* KLA içeriği yaz ve kış dönemi boyunca 0.38 mg/g değeri ile değişmeden kaldığı saptanmıştır (Talpur ve Bhanger 2005). Tsiplakou (2006) *t10-c12* KLA içeriğini koyun sütlerinde % 0,00-0,76

aralığında, Cabiddu ve ark. (2017) 48 adet Sarda sütçü koyunlarda süt yağı *t10-c12* KLA içeriğini 0,02 g/100g yağ olarak belirlemişlerdir.

Keçi sütlerinde Emami ve ark (2016) İran Mahabadi keçi süt yağında *t10-c12* KLA miktarını 0,05 g/ 100 g yağ, Fernandes ve ark (2014) 0,03 g/100 g yağ olarak tespit etmiştir. Keçi sütlerinde *t10-c12* KLA içeriğinin her yaz ve kış mevsiminde diğer ruminat sütlerde olduğu gibi değişim gösterdiği yaz sütlerinde 0,27 mg/g yağ, kış sütlerinde 0,25 mg/g yağ asiti olarak belirlenmiştir (Talpur ve Bhangar 2005).

Eser miktarda bulunduğu bildirilen *c9-c11* KLA izomeri araştırma materyali manda süt yağında ortalama 0,19±0,05 mg/g yağ (0,12-0,27 mg/g yağ) olarak belirlenmiştir.

Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada bu değer 0,01 g/100 g yağ olarak (Thanh ve ark. 2015) bildirilmiştir. İran Mahabadi keçi süt yağında *c9-c11* KLA miktarını 0,03 g/ 100 g yağ olarak tespit edilmiştir (Emami ve ark 2016)

Çalışmamızda *t9-t11* KLA izomeri 0,19-0,72 mg/g yağ aralığında ortalama 0,41±0,21 mg/g yağ değerinde belirlenmiştir.

Thanh ve ark. (2015) tarafından süt ineklerinde *t9-t11* KLA izomeri 0,08 g/100 g yağ asiti olarak, Suksombat ve Chullanandana (2008) Holstein Friesian süt yağlarında bu izomeri 0,22 mg/g yağ olarak saptamıştır.

Sütçü koyunlarda Sarda koyunu süt yağının *t9-t11* KLA izomer içeriği 0,04 g/100g yağ asiti (Cabiddu ve ark. 2017) olarak bulunmuştur.

Manda süt yağının KLA içeriğinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız çalışmada, manda süt yağının toplam KLA içeriği en düşük 3,85 mg/g yağ, en yüksek 7,33 mg/g yağ ortalama 6.06±0,96 mg/g yağ olarak belirlenmiştir.

Manda süt yağında KLA konsantrasyonunu 5,10–6,22 mg/g yağ arasında (Talpur ve Bhangar 2005), Murrah manda süt yağının toplam KLA içeriği 11,58±1,98 mg/g yağ (Tyagi ve ark. 2008), su mandalarının toplam KLA içeriğinin 4,4-7,6 mg/g yağ aralığında ortalama 5,91±0,3 mg/g yağ olarak saptamıştır (Han ve ark. 2012).

Toplam KLA içeriği Bulgar Murrah mandalarında (Mihaylova ve Peeva 2007) ortalama % 0,38 (% 0,26-0,54) olarak belirlenirken, Çin mandalarında % 0,17-0,21 belirlenen değer Pakistan mandalarından (0,48-0,66 g/100g) ve diğer mandalardan (Van Nieuwenhove et al. 2007) daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ren ve ark. 2015).

İrlandalı Holstein / Friesian, Hollandalı Holstein / Friesian, Montbeliardes ve Normandes ırkı inek sütlerinin süt yağı toplam KLA içerikleri karşılaştırıldığında, Montbeliardes'in diğer üç ırktan süt yağında %13 daha fazla KLA içerdiği bildirilmiştir (Lawless ve ark. (1999). Tyagi ve ark. (2008) Holstein Friesian x Tharparkar inek sütlerinin toplam KLA içeriğini 13,0±1,56 (mg/g yağ) olarak belirlemiştir

Kapalı veya açık alanda yetiştirilen süt yağı KLA içeriğine etkisi olduğu bildirilen çalışmalarda kapalı alanda yetiştirilen inek süt yağlarında 0,34 g KLA/100 g, ekolojik çiftlikte yetişenlerde ise 0,8 g KLA/100 g olarak belirlenmiştir (Jahreis ve ark. 1997).

Mevsimsel değişimim süt yağı toplam KLA içeriğinde etkili olduğu bildirilen bir çalışmada, Temmuz -Eylül arasında ortalama %1,2 olarak belirlenirken Ağustos ayında ise %1,35 ile en yüksek KLA değeri tespit edilmiştir. Bu değer sonbahar ayı boyunca hızla azaldığı ve kış aylarında % 0,75-0,80'e kadar düştüğü belirlenmiştir (Salamon ve ark. 2009).

Ayrshire inekleri konserve yemlerle beslendiğinde, Guernsey ve Jersey ineklerine (yağın% 0,34'ü) kıyasla süt yağında (% 0,68 yağ) daha yüksek KLA içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Dhiman ve ark. 2002).

Suksombat ve Chullanandana (2008) Toplam KLA (*c9,t11* KLA ve *t10,c12* KLA; *t9,t11* KLA) % 5,81 olarak belirlemiştir. Talpur ve Bhanger (2005) inek sütlerinde toplam KLA içeriği 5,32-10,42 mg KLA/g yağ asiti arasında saptamıştır. White ve ark. (2001), kapatılan veya merada otlayan Holstein ve Jersey ineklerini karşılaştırdıkları çalışmada, Holstein ineklerin (%0,57) Jersey ineklerine kıyasla (%0,46), süt yağında KLA konsantrasyonunun genel olarak %18 daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Beslenmedeki farklılığın süt yağı KLA içeriğine olan etkisi yanında, ırkın da etkili olduğu aynı diyetle beslenen farklı inek türleri ile yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Pešek ve ark 2005, Capps ve Depeters 1999). Daha önce yapılan çalışmalarda, rasyona müdehale edilmeyen inek süt yağı KLA içeriği 3,38-6,39 mg KLA/g yağ arasında olduğu (Lin ve ark 1995) saptanmıştır. İsveç'te süt yağının KLA içeriği 0,25-1,77 g KLA/100 g süt yağı arasında belirlenmiştir (Jiang ve ark. 1996).

Talpur ve Bhanger (2005) keçi süt yağı toplam KLA içeriğini 5,90-6,35 mg/g yağ değişim aralığında, Emami ve ark (2016) ise İran Mahabadi keçi süt yağı toplam KLA içeriğini 0,46 g/100 g yağ olarak saptamışlardır. Keçi süt yağı toplam KLA içeriği Trigueros ve ark. (2015) tarafından ortalama % 0,81 toplam yağ asiti, Tsiplakou ve ark.(2006) ise %0,2-% 0,88 ortalama % 0,3 toplam yağ asiti olarak belirlenmiştir.

Koyun süt yağlarında toplam KLA ise 8,39–9,10 mg/g yağ değişim aralığında olduğu (Talpur ve Bhanger 2005), sütçü koyun ırklarında olan Sarda koyunu süt yağı toplam KLA içeriği 2,77 g/100g yağ (Cabiddu ve ark. 2017) olarak belirlenmiştir. Tsiplakou ve ark. (2006) koyun sütünde toplam KLA içeriğini % 0,13-% 3,16 aralığında, ortalama %1,53 toplam yağ asiti olarak saptamışlardır.

5. SONUÇ

Araştırmamızın bulgularına göre; toplam konjuge linoleik asidin ($6,06 \pm 0,96$ mg / g yağ) ortalama içeriği Arjantin mandalarında 4.8 mg/g yağ, merada otlayan Murrah mandalarında 7,7 mg/g yağ, İtalyan mandalarında 5,1–10,6 mg/g yağ, Fransa'da yetişen mandalarda $9,0 \pm 0,06$ mg/g yağ ve Pakistan'da yetişen Kundi ve Nili Ravii mandalarında (8,0 ve 7,1 mg/g yağ aralığında KLA değerlerine benzer bulunmuştur.

Biyolojik açıdan aktif izomerden biri olan *c9-t11* KLA'nın içeriği 5,22 mg/g yağ olarak bulunmuştur ve bu da toplam KLA'nın% 86,13'ünü oluşturmaktadır. Buna karşın, *t10-c12* KLA toplam KLA'nın% 3,96'sını temsil ettiği belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen diğer *c10-c12* KLA ve *t9-t11* KLA izomerleri sırasıyla % 3,16 ve% 6,76 olarak tespit edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

Abu-Ghazaleh AA, Schingoethe DJ, Hippen AR, Conjugated linoleic acid and other beneficial fatty acids in milk fat from cows fed soybean meal, fishmeal, or both. *Journal of Dairy Science* 84, 1845-1850., 2001.

Albers R, van der Wielen RP, Brink EJ, Hendriks HF, Dorovska-Taran VN, Mohede IC, Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 57: 595-603, 2003.

Antongiovanni M, Buccioni A, Petacchi F, Secchiari P, Mele M, Serra A. 2003. Upgrading the lipid fraction of foods of animal origin by dietary means: rumen activity and presence of trans fatty acids and CLA in milk and meat. *Italian Journal of Animal Science*,2:3-28, 2003.

AOAC Official Method 945.46. (2007). In: HORWITZ, W. (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (18th ed, revision 2). Gaithersburg, Maryland: AOAC International

Aro A, Mannisto S, Salminen I, Ovaskainen ML, Kataja V, Uusitupa M, Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutrition and Cancer* 38(2):151-157, 2000.

Banni S, Conjugated linoleic acid metabolism. *Curr Opin Lipidol*, 13 (3), 261-266, 2002

Barbosa NR, Gama MAS, Lopes FCF, Defillipo PP, Mury FB, Trevisani R, Oliveira DE, Gattaz WF, Activity of phospholipase A2 (PLA2) subtypes in rat brain is altered by feeding conjugated linoleic acid (CLA) and linseed oil. *Alzheimers Dement*. 5, 326, 2009.

- Bassaganya-Riera J, Hontecillas R, Horne WT, Sandridge M, Herfarth H.H, Bloomfeld R, Isaacs KL, Conjugated linoleic acid modulates immune responses in patients with mild to moderately active Crohn's disease. *Clin. Nutr.* 31, 721–727, 2012
- Baumgard LH, Corl BA, Dwyer DA, Saebo A, Bauman DE, Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.*, 278:R179–R184, 2000.
- Bauman DE, Conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat: A good news story. *Proceeding of Arizona Dairy Production Conference*, 47–52, 2002.
- Baumgard L, Sangster JK, Bauman DE, Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental 67 amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.*, 131:1764-1769, 2001.
- Benjamin S, Hanhoff T, Borchers T, Spener F, An improved molecular test system for the screening of human PPAR transactivation by conjugated linoleic acid isomers and their precursor fatty acids. *Eur J Lipid Sci Technol*, 107(10):706–15, 2005.
- Benjamin S, Flotho S, Borchers T, Spener F, Conjugated linoleic acid isomers and their precursor fatty acids regulate peroxisome proliferator-activated receptor subtypes and major peroxisome proliferator responsive element-bearing target genes in HepG2 cell model. *J Zhejiang Univ Sci B*, 14(2):115–23, 2013
- Bell JA, Kennelly JJ. Short Communication: Postruminal Infusion of Conjugated Linoleic Acids Negatively Impacts Milk Synthesis in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 86:1321-4, 2003.
- Belury MA, Kempa-Steczko A, 2000. Conjugated Linoleic Acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids.*, 32: 199-204, 1997.
- Belury MA, Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action 1. *Annu. Rev. Nutr.* 22, 505–531, 2002.
- Belury MA, Mahon A, Banni S, The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12-CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Nutr* 133(1):257S-260S, 2003.
- Bergamo P, Fedele E, Iannibelli L, Marzillo G. Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.* 82:625-631, 2003.
- Berven G, Bye A, Hals O, Blankson H, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O, Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or

- obese human volunteers. *European Journal of Lipid Science and Technology*.102:455-462, 2000.
- Bessa RJB, Santos-Silva J, Ribeiro JMR, Portugal AV, Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livest Prod Sci*, 63, 201–211, 2000.
- Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G, Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J Nutr Biochem* 17(12):789-810, 2006.
- Blankson H,Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O, Conjugated Linoleic Acid Reduces Body Fat Mass in Overweight and Obese Humans. *The Journal of Nutrition* 130(12):2943-2948, 2000.
- Buccioni A, Minieri S, Conte G, Benvenuti D, Pezzati A, Antongiovanni M, Rapaccini S, Mele M. Changes in conjugated linoleic acid and C18:1 isomers profile during the ripening of Pecorino Toscano cheese produced with raw milk. *Italian Journal of Animal Science*,11:e75, 2012.
- Beppu F, Hosokawa M, Tanaka L, Kohno H, Tanaka T, Miyashita K, Potent inhibitory effect of trans9, trans11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells. *J Nutr Biochem* 17: 830-836, 2006.
- Bassaganya-Riera J, Hontecillas R., Zimmerman DR, Wannemuehler M.J, Long-term influence of lipid nutrition on the induction of CD8(+) responses to viral or bacterial antigens. *Vaccine* 20:1435-1444, 2002.
- Pogranichniy RM, Jobgen SC, Halbur PG, Yoon KJ, O'Shea M, Hontecillas R, Conjugated linoleic acid ameliorates viral infectivity in a pig model of virally induced immunosuppression. *J. Nutr.* 133:3204-3214, 2003.
- Butler G, Stergiadis S, Seal C, Eyre M, Leifert C. Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J Dairy Sci.* 94(1):24–36, 2011.
- Cabiddu A, Addis M, Fiori M, Spada S, Decandia M, Molle G, Pros and cons of the supplementation with oilseed enriched concentrates on milk fatty acid profile of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research*, 147:63-72, 2017.
- Capps VA, Depeters JE, Taylor JS, Perez-Monti H, Rosenberg MW, Effects of breed of dairy cattle and dairy and dietary fat on milk yield and composition *J. Dairy Sci.*,82- 45,1999.
- Caroprese M, Marzano A, Marino R, Gliatta G, Muscio A, Sevi A. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. *J Dairy Sci.* 93:2580–2588, 2010

- Chajès V, Lavillonnière F, Ferrari P, Jourdan ML, Pinault M, Maillard V, Sébédio JL, Bougnoux P, Conjugated Linoleic Acid Content in Breast Adipose Tissue Is Not Associated with the Relative Risk of Breast Cancer in a Population of French Patients. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 11(7):672-673, 2002.
- Chamruspollert M, Sell JL, Transfer of dietary conjugated linoleic acid to egg yolks of chickens. *Poultry Science* 78, 1138–1150, 1999.
- Chen SC, Lin, YH, Huang HP, Hsu WL, Houg JY, Huang, CK, Effect of conjugated linoleic acid supplementation on weight loss and body fat composition in a Chinese population. *Nutrition*, 28, 559–565, 2012.
- Cherian G, Goeger MP, Anh D U, Dietary conjugated linoleic acid with fish oil alters yolk n-3 and trans fatty acid content and volatile compounds in raw, cooked, and irradiated eggs. *Poult. Sci.* 81:1571–1577, 2002.
- Chichlowski MW, Schroeder JW, Park CS, Keller WL, Schimek DE, Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *Journal of Dairy Science*, 88, 3084-3094. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72990-8, 2005.
- Chilliard YA, Ferlay A, Rouel J, Lambert G, A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J.Dairy Sci.*, 86: 1751-1770, 2003.
- Chin SF,W. Liu W, Albright K, Pariza MW,, Tissue levels of cis-9,trans-11 conjugated dienoic isomer of linoleic acid (CLA) in rats fed linoleic acid (LA), *Faseb J.*, 6, A1396, 1992.
- Chin SF, Storkson JM, Pariza MW, Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid.A new class of food-derived anticarcinogens.In: *Food Flavor and Safety: Molecular Analysis and Design*, pp. 262–271, 1993.
- Christie, WW, A simple procedure for rapid transmethylolation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23, 1072-1075, 1982
- Cho HJ, Kim WK, Kim EJ, Jung KC, Park S, Lee HS, Tyner AL, Park JH, Conjugated linoleic acid inhibits cell proliferation and ErbB3 signaling in HT-29 human colon cell line. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284(6):G996-1005, 2003.
- Choi JS, Jung MH, Park HS, Song J, “Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in highfat-fed rats,” *Nutrition*, vol. 20, no. 11-12, pp. 1008–1017, 2004.

- Chow JM, DePeters EJ, Baldwin RL, Effect of rumen-protected methionine and lysine on casein in milk when diets high in fat or concentrate are fed. *J Dairy Sci* 73: 1051-1061, 1990.
- Cimini A, Cristiano L, Colafarina S, Benedetti E, Di Loreto S, Festuccia C, Amicarelli F, Canuto RA, Cerù MP, PPAR γ -dependent effects of conjugated linoleic acid on the human glioblastoma cell line (ADF). *International Journal of Cancer* 117(6):923-933, 2005.
- Collomb M, Sieber R, Butikofer U, CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. *Lipids*, 39, 355–364, 2004.
- Collomb M, Bühler T, Analyse de composition en acides gras de la graisse de lait, optimisation et validation d'une méthode générale à haute résolution, *Trav. Chim. Alim. Hyg.* 91, 306–332, 2000.
- Cook M.E., Miller CC, Park Y, Pariza MW Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult. Sci.* 72:1301-1305, 1993.
- Cordero G, Isabel B, Morales J, Menoyo D, Piñeiro C, Daza A, Lopez-Bote CJ, Conjugated linoleic acid (CLA) during last week of gestation and lactation alters colostrum and milk fat composition and performance of reproductive sows. *Animal Feed Science and Technology* 168(3):232-240, 2011.
- deDeckere EAM, van Amelsvoort JM, McNeill GP, Jones P, Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br J Nutr*, 82(4):309-17, 1999.
- DeGuire JR, Makarem N, Vanstone CA, Morin S, Duque G, Weiler HA, Conjugated linoleic acid is related to bone mineral density but does not affect parathyroid hormone in men. *Nutr. Res.* 32, 911–920, 2012
- De La Torre A, Debiton E, Juane´da P, Durand D, Chardigny JM, Barthomeuf C, Bauchart D, Gruffat D, Beef conjugated linoleic acid isomers reduce human cancer cell growth even when associated with other beef fatty acids. *Br J Nutr* 95: 346-352, 2007.
- Derakhshande-Rishehri SM, Mansourian M, Kelishadi R, Heidari-Beni M, 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 Nutrition* 18(11):2041-2054, 2015.
- Dhiman TR, Zaman MS, Kilmer L, and Gilbert D, Breed of dairy cows has influence on conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *J. Dairy Sci.*, 85:315, 2002.

- Dhiman TR, Nam SH, Ure AL, Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45(6):463–482, 2005a.
- Durgam VR, Fernandes G, The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on MCF-7 cells is related to estrogen response system. *Cancer Lett* 116(2):121-30, 1997.
- Erickson KL, Hubbard NE, Fatty acids and breast cancer: the role of stem cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 82: 237-241, 2010
- Emami A, Fathi Nasri MH, Ganjkanlou M, Rashidi L, Zali A 2016. Effect of pomegranate seed oil as a source of conjugated linolenic acid on performance and milk fatty acid profile of dairy goats. *Livestock Science*,193:1-7, 2016.
- Faucitano L, Chouinard PY, Fortin J, Mandell IB, Lafrenière C, Girard CL, Berthiaume R, Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 2. Meat quality, fatty acid composition, and overall palatability. *Journal of Animal Science* 86(7):1678-1689, 2008.
- Feng S, Lock AL, Garnsworthy PC, A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87:3785–3788, 2004
- Ferlay A, Doreau M, Martin C and Chilliard Y, Effects of incremental amounts of extruded linseed on the milk fatty acid composition of dairy cows receiving hay or corn silage. *Journal of Dairy Science* 96, 6577-6595, 2013.
- Ferlay A, Bernard L, Toral P, Martin C, Chilliard Y, Effects of feeding factors on dairy performance and milk fatty acid composition in cows and goats. 16th AAAP Animal Science Congress (2014), Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia,, 2014. Vol. 1, 2014
- Fernandes D, Gama MAS, Ribeiro, CVDM, Lopes, FCF, De Oliveira DE, Milk fat depression and energy balance in stall-fed dairy goats supplemented with increasing doses of conjugated linoleic acid methyl esters, *Animal*, 8:4, pp 587–595 © The Animal Consortium 2014.
- French P, Stanton C, Lawless F, O'Riordan EG, Monahan FJ, Caffrey PJ, Moloney AP, Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *J Anim Sci* 78(11):2849-55, 2000.
- Fritsche J, Steinhart H, Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake, *Z. Lebensm Unters Forsch A.*, 206, 77-82, 1998.

- Gama, MAS, Raposo NRB, Mury F.B, Lopes FCF, Dias-Neto E, Talib LL, Gattaz WF, Conjugated linoleic acid-enriched butter improved memory and up-regulated phospholipase A2 encoding-genes in rat brain tissue. *J. Neural Transm*, 122, 1371–1380, 2015.
- Gagliostro GA, Rodríguez A, Pellegrini PA, Gatti P, Muset G, Castañeda RA, Colombo D and Chilliard Y, Effects of fish oil or sunflower plus fish oil supplementation on conjugated linoleic acid (CLA) and omega 3 fatty acids in goat milk. *Revista Argentina de Produccion Animal* 26, 71-87, 2006.
- Garnsworthy PC, Feng S, Lock AL, Royal MD, Heritability of milk fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase indices in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93 1743–1748, 2010
- Gaullier JM, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O, Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79, 1118–1125, 2004.
- Gaullier JM, Halse J, Høivik HO, Høye K, Syvertsen C, Nurminiemi, M., Hassfeld, C., Einerhand, A., O'Shea, M., Gudmundsen, O. Six months supplementation with conjugated linoleic acid induces regional-specific fat mass decreases in overweight and obese. *Br. J. Nutr.* 97, 550–560, 2006.
- Gaullier JM, Halse J, Hoivik HO, Høye K, Syvertsen C, Nurminiemi M, Hassfeld C, Einerhand A, O'Shea M, Gudmundsen O, Six months supplementation with conjugated linoleic acid induces regional-specific fat mass decreases in overweight and obese. *Br J Nutr. Mar; 97:550-560*, 2007
- Gaullier J-M, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O. 2005. Supplementation with Conjugated Linoleic Acid for 24 Months Is Well Tolerated by and Reduces Body Fat Mass in Healthy, Overweight Humans. *The Journal of Nutrition*. April 1, 135:778-784, 2005.
- Gaullier JM, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O, Supplementation with Conjugated Linoleic Acid for 24 Months Is Well Tolerated by and Reduces Body Fat Mass in Healthy, Overweight Humans. *The Journal of Nutrition* 135(4):778-784, 2005.
- Griinari J M, Baumann D E, Biosynthesis of Conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminant. In M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza & G. J. Nelson (Eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, 1, Champaign, Illinois, 180-200, 1999.
- Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KV, Bauman DE, Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by D9-desaturase. *J. Nutr.* 130:2285–2291, 2000

- Güler GO, Çakmak YS, Zengin G, Aktumsek A, Akyıldız K, Fatty Acid Composition and Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content of Some Commercial Milk in Turkey, *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16 (Suppl-A): S37-S40, 2010.
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW, 1989. Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 37, 75–81.
- Han XF, Lee L, Zhang L, Guo MR, Chemical composition of water buffalo milk and its low-fat symbiotic yogurt development. *Functional Food in Health and Disease.* 2(4):86-106, 2012.
- Hervas G, Luna P, Mantecon AR, Castanares N, de La Fuente MA, Juarez M, Frutos P, Effect of diet supplementation with sunflower oil on milk production, fatty acid profile and ruminal fermentation in lactating dairy ewes. *Journal of Dairy Research* 75, 399–405, 2008.
- Huang Y, Yanagita T, Nagao K, Koba K, Biological effects of conjugated linoleic acid. In: *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications.* 3rd Edition, 12 p, 2008.
- Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW, Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res*, 51, 6118–6124, 1991.
- Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA, Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res*, 54, 1212–1215, 1994.
- Ip MM, Masso-Welch PA, Shoemaker SF, Shea-Eaton WK, Ip C, Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary cells in primary culture. *Exp. Cell Res.* 250, 22–34, 1999.
- Ivan M, Petit HV, Chiquette J, Wright ADG, Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *Br. J. Nutr.* 109, 1211–1218, 2016.
- Jahreis G, Fritsche J, Steinhart H, Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system, *Nutr. Res.*, 17, 1479-1484, 1997.
- Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE, Board-Invited Review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science*, 86(2), 397-412, 2008.
- Jenson RC, The composition of bovine milk lipid. *J. Dairy Sci.* 85: 295-350, 2002.

- Jiang J, Björck L, Fonden R, Emanuelson M, Occurrence of conjugated cis-9,trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen, *J. Dairy Sci.*, 79, 438-445, 1999
- Joseph SV, Liu X, Wakefield A, Chouinard PY, Aukema H, Jones PJ, Jacques H. (2010). Trans-8, cis-10+ cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid mixture alters body composition in Syrian golden hamsters fed a hypercholesterolaemic diet. *British Journal of Nutrition* 104(10):1443-1449, 2010.
- Kamphuis M.M., Lejeune M.P., Saris W.H. The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition and resting metabolic rate in overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*,27:840-7,2003.
- Khanal RC, Dhiman TR, Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Pakistan J. Nutr.* 3(2):72–81, 2004.
- Khanol, RC, Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA) a review. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 17(9): 1315-1328, 2004.
- Kargar S, Ghorbani GR, Alikhani M, Khorvash M, Rashidi L, Schingoethe DJ. 2012. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage:Concentrate ratio. *Livestock Science*,150:274-283, 2012
- Katzman MA, Jacobs L, Marcus M, Vermani M, Logan AC. (2007). Weight gain and psychiatric treatment: Is there a role for green tea and conjugated linoleic acid? *Lipids Health Dis* 6:14, 2007.
- Kay JK, Mackle TR, Auldist MJ, Thomson NA, Bauman DE, Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87(2):369–378, 2004.
- Kelley D. S, Simon VA, Taylor PC, Rudolph IL, Benito PG, Nelson J, Mackey BE, and Erickson KL, Dietary supplementation with conjugated linoleic acid increased its concentration in human peripheral blood mononuclear cells, but did not alter their function. *Lipids* 36:669-674, 2001.
- Kelly O, Cusack S, Jewell C, Cashman KD. The effect of polyunsaturated fatty acids,including conjugated linoleic acid, on calcium absorption and bone metabolism and composition in young growing rats. *Br.J Nutr*, 90:743-05, 2003.
- Kelly O, Cashman KD. The effect of conjugated linoleic acid on calcium absorption and bone metabolism and composition in adult ovariectomised rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*,71:295– 301, 2004.

- Kelley NS, Hubbard NE, Erickson KL, Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *J Nutr* 137(12):2599-607, 2007.
- Kennedy A, Martinez K, Schmidt S, Mandrup S, LaPoint K, McIntosh M, Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *J Nutr Biochem* 21(3):171-9,2010
- Kepler CR, Hirons KP, McNeill JJ, Tove SB. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Biol Chem* 1966;241:1350–1354, 1966.
- Kim YJ, Liu RH, Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria, *J. Food Sci.* 67, 1731–1838, 2002.
- Kim EJ, Kang IJ, Cho HJ, Kim WK, Ha YL, Park JH. Conjugated linoleic acid downregulates insulin-like growth factor-I receptor levels in HT-29 human colon cancer cells. *J Nutr*,133:2675– 81, 2003.
- Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Pukkala E, Aroma A, Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 73, 687-691, 1996.
- Kramer JKC, Cruz-Hernandez C, Deng Z, Zhou J, Jahreis G, Dugan MER, Analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 1137S-1145S, 2004.
- Kramer JKG, Parodi PW, Jensen RG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Adlof RO, Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, 33, 835, 1998.
- Kritchevsky D, Teper SA, Wright S, Czamecki SK, Wilson TA, Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: growth and regression of lesions. *Lipids* 2004;39:611-6, 2004.
- Kuniyasu H, Yoshida K, Sasaki T, Sasahira T, Fujii K, Ohmori H, Conjugated linoleic acid inhibits peritoneal metastasis in human gastrointestinal cancer cells. *Int J Cancer* 118: 571-576, 2006.
- Larsen TM, Toubro S, and Astrup A, 2003. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. *J. Lipid Res.* 44:2234-2241, 2003.
- Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A, Conjugated linoleic acid intake and breast cancer risk in a prospective cohort of Swedish women. *Am J Clin Nutr* 90(3):556-60, 2009.
- Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A, Conjugated linoleic acid intake and breast cancer risk in a prospective cohort of Swedish women. *Am J Clin Nutr* 90(3):556-60, 2009.

- Lawless, F, Stanton C, Escop P, Devery R, Dillon P, and Murphy JJ, 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans -11 conjugated linoleic acid content. *Livestock. Prod. Sci.* 62: 43-49, 1999.
- Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108:19–25, 1994.
- Lee JH, Cho KH, Lee KT, Kim MR, Antiatherogenic effects of structured lipid containing conjugated linoleic acid in C57BL/6J mice. *J Agric Food Chem*,53:7295-301, 2005.
- Lee SH, Yamaguchi K, Kim JS. Conjugated linoleic acid stimulates an anti-tumorigenic protein NAG-1 in an isomer specific manner. *Carcinogenesis* 2006.
- Lee SH, Joo YK, Lee JW, Ha YJ, Yeo JM, Kim WY, Dietary Conjugated Linoleic Acid (CLA) increases milk yield without losing body weight in lactating sows. *Journal of Animal Science and Technology* 56(1):1-9,2014.
- Lerch S, Ferlay A, Shingfield KJ, Martin B, Pomiès D, Chilliard Y. Rapeseed or linseed supplements in grass-based diets: Effects on milk fatty acid composition of Holstein cows over two consecutive lactations. *J Dairy Sci.* 95:5221–5241, 2012.
- Lim J N, Oh JJ, Wang T, Lee JS, Kim SH, Kim YJ, Lee HG, trans-11 18:1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. *Nutrients* 6(2):627-36, 2014
- Lin H, Boylston TD, Chang MJ, Luedecke LO, Shultz TD, Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J Dairy Sci* 78: 2358-2365, 1995.
- Lock AL, Bauman DE, Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39(12):1197-206, 2004.
- Ma L, Lengi AJ, McGilliard ML, Bauman DE, Corl BA, Short communication: effect of trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on activation of lipogenic transcription factors in bovine mammary epithelial cells. *J Dairy Sci* 97(8):5001-6, 2014.
- Marques TM, Wall R, O'Sullivan O, Fitzgerald GF, Shanahan F, Quigley EM, Cotter PD, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Stanton C, Dietary trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid alters fatty acid metabolism and microbiota composition in mice. *British Journal of Nutrition* 113(05):728-738, 2015.
- Malinska H, Huttli M, Oliyarnyk O, Bratova M, Kazdova L, Conjugated linoleic acid reduces visceral and ectopic lipid accumulation and insulin resistance in

- chronic severe hypertriacylglycerolemia. *Nutrition*, 31(7-8), 1045-1051, 2015.
- Mele M, Dal Zotto R, Cassandro M, Conte G, Serra A, Buccioni A, Bittante G, Secchiari P, Genetic parameters for conjugated linoleic acid, selected milk fatty acids, and milk fatty acid unsaturation of Italian Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science* 92 392–400, 2009.
- Menard O, Ahmad S, Rousseau F, Briard-Bion V, Gaucheron F, Lopez C, Buffalo vs cow milk fat globules: Size distribution, zeta potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chem.* 120:544-551, 2010.
- Mihaylova G, Peeva T, Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo milk, *Italian Journal of Animal Science*, 6:sup2, 1056-1059, 2007.
- Miller CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem Biophys Res Commun*, 198: 1107–12, 1994.
- Mir Z, Goonewardene LA, Okine E, Jaegear S, Scheer HD, (1999). Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (CLA) and long chain fatty acids in goats milk. *Small Rumin. Res.*, 33, 137-143, 1999.
- Miri VH, Tyagi AK, Ebrahimi SH, Mohini M (2013) Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) extract on milk fatty acid profile and methane emission in lactating goats. *Small Rumin Res* 113: 66-72, 2013.
- Mitchell PL, McLeod RS, Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: studies in animal models. *Biochem Cell Biol* 86(4):293-301, 2008.
- Mougios V, Matsakas A, Petridou A. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J Nutr Biochem* 12:585-94, 2001.
- Nagao K, Inoue N, Wang YM, Hirata J, Shimada Y, Nagao T, Matsui T, Yanagita T The 10trans,12cis isomer of conjugated linoleic acid suppresses the development of hypertension in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Biochem Biophys Res Commun* 306(1):134-8, 2003.
- Naumann E, Carpentier YA, Saebo A, Lassel TS, Chardigny JM, Sebedio JL, Mensink RP. Cis-9, trans- 11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) do not affect the plasma lipoprotein profile in moderately overweight subjects with LDL phenotype B. *Atherosclerosis*.188:167-74, 2006.
- Noone EJ, Roche HM, Nugent AP, Gibney MJ, The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid

- metabolism in healthy human subjects. *British Journal of Nutrition*.88: 243-251, 2002.
- Nudda A, McGuire MA, Battacone G, Pulina G, Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and Ricotta, *J. Dairy Sci.* 88, 1311–1319, 2005.
- Ochoa JJ, Farquharson AJ, Grant I, Moffat LE, Heys SD, Wahle KW. Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomers. *Carcinogenesis* 25:1185–91, 2004.
- O'Donnell-Megaró A, Barbano D, Bauman D. Survey of the fatty acid composition of retail milk in the United States including regional and seasonal variations. *J Dairy Sci.* 2011;94(1):59–65, 2011.
- Palmquist, DL, Ruminal and endogenous synthesis of CLA in cows. *The Austr. J. Dairy Technol.*, 56:134-136, 2001.
- Pariza MW, Park Y, Cook ME, Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 223:8-13, 2000.
- Pariza MW, Park Y, Cook ME, The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40, 283–298, 2001.
- Park Y, Storkson J, Albright K, Liu W, Pariza M, Evidence that trans 10, cis 12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice, *Lipids* 34:235-41, 1999.
- Park Y, Allen KG, Shultz TD, Modulation of MCF-7 breast cancer cell signal transduction by linoleic acid and conjugated linoleic acid in culture. *Anticancer Res* 20:669–76, 2000.
- Park Y, Pariza MW. Lipoxygenase inhibitors inhibit heparin-releasable lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes and enhance body fat reduction in mice by conjugated linoleic acid. *Biochim Biophys Acta*, 1534:27–33, 2001.
- Park SY, Aw JE, Kim GB, Jung MY, Lee BH: Distribution and content of geometric isomers of conjugated linoleic acid in dairy foods from the Quebec province of Canada. *Food Sci Biotechnol*, 17, 31-37, 2008.
- Park Y, Terk M, Park Y, Interaction between dietary conjugated linoleic acid and calcium supplementation affecting bone and fat mass. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 29(3):268-278, 2011.
- Park Y, Kim J, Scrimgeour AG, Condlin ML, Kim D, Park Y, Conjugated linoleic acid and calcium co-supplementation improves bone health in ovariectomised mice. *Food Chem* 140(1-2):280-8, 2013.

- Pariza MW, Ha YL, Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 7(2-3):169-71, 1990.
- Parodi PW, Conjugated linoleic acid: An anticarcinogenetic fatty acid present in milk fat, *Journal of Dairy Technology*, 49, 93-97 1994.
- Parodi PW, 2003. Anti-cancer agents in milk fat. *The Australian J. Dairy Technol.* 58(2): 114-118, 2003.
- Pešek M, Spicka J, Samkova E, Comparison of fatty acid composition in milk fat of Czech Pied cattle and Holsteincattle *Czech J. Anim.Sci.*, 50 122, 2005
- Peterson D G, Matitashvili EA, and Bauman DE, Diet-induced milk fat depression in dairy cows results in increased trans-10, cis-12 CLA in milk fat and coordinate suppression of mRNA abundance for mammary enzymes involved in milk fat synthesis. *J. Nutr.* 133:3098–3102, 2003
- Plourde M, Jew S, Cunnane SC, Jones PJ, Conjugated linoleic acids: why the discrepancy between animal and human studies? *Nutr Rev* 2008;66:415–21, 2008
- Poirier H, Shapiro JS, Kim RJ, Lazar MA. Nutritional supplementation with trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid induces inflammation of white adipose tissue. *Diabetes.* 55:1634–41, 2006.
- Precht D, Molкетин J, Frequency distributions of conjugated linoleic acid and trans fatty acid contents in European bovine milk fats, *Milch-wissenschaft*, 55 12, 687-691, 2000.
- Qurshi M S, Mushtaq A, Khan S, G, Habib, G, Swati ZA, Variation in milk fatty acid composition with body condition in dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Asian-Aust J. Animal Sci.* 23(3):340-346, 2010.
- Rahman MM, Fernandes G, Williams P, Conjugated Linoleic Acid Prevents Ovariectomy-Induced Bone Loss in Mice by Modulating Both Osteoclastogenesis and Osteoblastogenesis. *Lipids* 49(3):211-224, 2014.
- Reardon M, Govern S, Martinez K, Shen W, Reid T, McIntosh M, Oleic acid attenuates trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid-mediated inflammatory gene expression in human adipocytes. *Lipids* 47(11):1043-51, 2012.
- Rego OA, Portugal PV, Sousa MB, Rosa HJD, Vouzela CM, Borba AES, Bessa RJB, Effect of diet on the fatty acid pattern of milk from dairy cows. *Anim Res.* 53:213–220, 2004.
- Ren D, Zou C, Bo Lin B, Chen Y, Liang X, Liu J, A Comparison of Milk Protein, Amino Acid and Fatty Acid Profiles of River Buffalo and Their F1 and F2

Hybrids with Swamp Buffalo in China, Pakistan J. Zool., vol. 47(5), pp. 1459-1465, 2015

Resende TL, Kraft J, Soder KJ, Pereira AB, Woitschach DE, Reis RB, Brito AF, Incremental amounts of ground flaxseed decrease milk yield but increase n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids in dairy cows fed high-forage diets. *Journal of Dairy Science* 98(7):4785-4799, 2015.

Riserus, U, Berglund L, Vessby B, Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of metabolic syndrome: A randomized controlled trial. *Int. J. Obes.* 25, 1129–1135, 2001.

Risérus U, Arner P, Brismar K, Vessby B,. Treatment With Dietary trans10cis12 Conjugated Linoleic Acid Causes Isomer-Specific Insulin Resistance in Obese Men With the Metabolic Syndrome. *Diabetes Care* 25(9):1516-1521, 2002.

Rodriguez-Alcala LM, Fontecha J: Hot topic: Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomer composition of commercial CLA-Fortified dairy products: Evaluation after processing and storage. *J Dairy Sci*, 90, 2083-2090, 2007.

Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes* 50:1149 – 57, 2001.

Rastmanesh R, An urgent need to include risk-benefit analysis in clinical trials investigating conjugated linoleic acid supplements in cancer patients. *Contemp Clin Trials* 32: 69-73, 2011.

Sakai Y, Sasahira T, Ohmori H, Yoshida K, Kuniyasu H, Conjugated linoleic acid reduced metastasized LL2 tumors in mouse peritoneum. *Virchows Arch* 449: 341-347, 2006.

Salamon, RV, L'oki K, Csap'o-Kiss Zs. Csap'o J, Changes in the fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of sour dairy products caused by pure cultures, *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 2, 276–286, 2009.

Salter AM, Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *animal* 7(Supplements1):163-171, 2013

Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Science* 73, 29-41, 2006.

Shingfield KJ, Reynolds CK, Hervas G, Griinari JM, Grandison AS, Beever DE, Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to

- fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 714-732, 2006.
- Shiraishi R, Iwakiri R, Fujise T, Kuroki T, Kakimoto T, Takashima T, Sakata Y, Tsunada S, Nakashima Y, Yanagita T, Fujimoto K, Conjugated linoleic acid suppresses colon carcinogenesis in azoxymethane-pretreated rats with long-term feeding of diet containing beef tallow. *J Gastroenterol* 45: 625-635, 2010.
- Sikorski AM, Hebert N, Swain RA, Conjugated linoleic acid (CLA) inhibits new vessel growth in the mammalian brain. *Brain Res* 1213: 35-40, 2008.
- Smedman A, Vessby B, Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. *Lipids* 36:773-81, 2001.
- Stachowska E, Conjugated dienes of linoleic acid and tumorigenesis. *Ann Acad Med Stetin* 54: 122-125, 2008.
- Stachowska E, Siennicka A, Bańkiewicz-Hałasa M, Bober J, Machalinski B, Chlubek D, Conjugated linoleic acid isomers may diminish human macrophages adhesion to endothelial surface. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 63, 30–35, 2012.
- Stanton C, Murphy J, McGrath E, Devery R, 2003. Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. *Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol 2 s. 123-145, 2003.
- Steinhart H, Rickert R, Winkler K, Identification and analysis of conjugated linoleic acid isomers. *Eur J Med Res* 8:370-2, 2003.
- Suksombat W, Chullanandana K, Effects of soybean oil or rumen protected conjugated linoleic acid supplementation on accumulation of conjugated linoleic acid in dairy cows' milk. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21(9):1271–1277, 2008.
- Sun Q, Lv J-p, Liu L, Zhang S-w, Liang X, Lu J. 2014. Comparison of milk samples collected from some buffalo breeds and crossbreeds in China. *Dairy Science & Technology*, 94:387-395, 2014.
- Sommer E, Krotkiewski M, Sommer S, SkopińskaRóżewska E, Different effect of linoleic acid and conjugated linoleic acid on cutaneous angiogenesis induced in mice by L-1 sarcoma cells. *Centr Eur J Immunol* 27 (Suppl 1): 118, 2002.
- Stoop WM, van Arendonk JAM, Heck JML, van Valenberg HJF & Bovenhuis H, Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of Dutch Holstein-Friesians. *Journal of Dairy Science* 91 385–394, 2008.

- Syvvertsen C, Halse J, Hoivik HO, Gaullier JM, Nurminiemi M, Kristiansen K, Einerhand A, O'Shea M, Gudmundsen O, The effect of 6 months supplementation with conjugated linoleic acid on insulin resistance in overweight and obese. *Int J Obes* 31(7):1148-1154, 2006.
- Şahin A, Yıldırım A, Ulutas Z, Changes in some physico-chemical content of anatolian buffalo milk according to the some environmental factors, *Buffalo Bulletin (October-December 2016) Vol.35 No.4*, 2016
- Talpur FN, Bhangar MI, Conjugated linoleic acid: A mixture of bio-active fatty acids in milk fat of ruminants. *Pak. J. Anal. Chem.*6, 22–27, 2005.
- Talpur FN, Memon NN, Bhangar MI, Comparison of fatty acid and cholesterol content of Pakistani water buffalo breeds. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.* 8: 15-20, 2007.
- Thanh LP, Suksombat W, Milk Yield, Composition, and Fatty Acid Profile in Dairy Cows Fed a High-concentrate Diet Blended with Oil Mixtures Rich in Polyunsaturated Fatty Acids. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(6):796-806, 2015.
- Thuillier P, Pande NT, Ghena A, Song S, Lawrence Y, Shridhar V, Akkari Y, Pejovic T, Olson S, Dietary conjugated linoleic acids arrest cell cycle progression and prevent ovarian cancer xenografts growth suggesting *trans-10 cis-12* isoform specific activity. *J. Cancer Ther.*, 4, 33–42, 2013.
- Tonhati H, Resende F, Spironelli AL, Ferriani L, Tseimazides SP, De Oliveira JA, Arrigone M, Correlation between softness and some physical and chemical characteristics of carcasses of buffaloes. *Atti I Congr. Naz. sull'allevamento del Bufalo, Eboli, Italy*, 269-272, 2001.
- Toral PG, Hervás G, Gómez-Cortés P, Frutos P, Juárez, M, de la Fuente MA, Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science* 93:1655-1667, 2010.
- Trigueros L, Barber X, Sendra E, Conjugated linoleic acid content in fermented goat milk as affected by the starter culture and the presence of free linoleic acid. *Int J Dairy Technol*, 68: 198–206, 2015.
- Tsiplakou E, Mountzouris KC, Zervas G, Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. *Livestock Science* 103:74-84, 2006.
- Tsiplakou E, Flietakis E, Kalloniati C, Papadomichelakis G, Katinakis P, Zervas G, Sheep and goats differences on CLA and fatty acids milk fat content in relation with mRNA stearoyl-CoA desaturase and lipogenic genes expression in their mammary gland. *Journal of Dairy Research* 76 392–401, 2009.

- Tyagi AK, Saluja M, Kathirvalen C, Singhal KK, Enhancement of CLA and vitamin A and E contents in goat milk through green fodder feeding. *Int. J. Dairy Technol.*, 61: 1-8, 2008.
- Tyagi AK., Kewalramani N, Dhiman TR, Kaur H, Singhal KK, Kanawjia SK, Enhancement of CLA content in buffalo milk through green berseem feeding. *Anim Feed Sci. Techno.*, 132: 15-19, 2007.
- Tvrzicka E, Kremmyda LS, Stankova B, Zak A3 Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease—A review. Part 1: Classification, dietary sources and biological functions. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc Czech. Repub*, 155, 117–130, 2011
- Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int Med Res*, 29:392-6, 2001.
- Takahashi K, Kawamata K, Akiba Y, Iwata T, Kasai M, 2002. Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers on early inflammatory responses in male broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 43:47-53
- Terpstra AHM, Beynen AC, Everts H, Kocsis S, Katan MB, Zock PL, The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *J Nutr* 2002;132:940–5, 2002.
- Turpeinen, AM, Mutanen, M, Aro A, Salminen I, Basu S, Palmquist DL, Griinari J, M, Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr* 76, 504–510, 2002.
- Vlaeminck B, Khattab W, Fievez V, Is ruminal trans-11-18:1 accumulation a prerequisite for trans-10-18:1 production? *Animal Production Science* 55(2):225-230, 2015.
- Van Nieuwenhove, CP, Oliszewski R, González, SN, Pérez Chaia AB, Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. *Food Research International*, 40, , pp. 559–564, 2007.
- Varricchio ML, Di Francia A, Masucci F, Romano R, Proto V, Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. *Ital J Anim Sci* 6(Suppl 1):509–511, 2007. Wahle KW, Heys SD, Rotondo D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog Lipid Res*, 43: 553–87, 2004.
- Wang T, Lim JN, Lee JS, Lee SB, Hwang JH, Jung US, Kim MJ, Hwang DY, Lee SR, Roh SG, Lee HG, Effects of dietary trans9 octadecenoic acid, trans11 vaccenic acid and cis9, trans11 conjugated linoleic acid in mice. *Mol Med Rep* 12(2):3200-6, 2015.

- Wang YW, Jones PJ, Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28(8):941-55 2004.
- Watras AC, Buchholz AC, Close RN, Zhang Z, Schoeller DA, The role of conjugated linoleic acid in reducing body fat and preventing holiday weight gain. *Int J Obes (Lond)* 31(3):481-7, 2006.
- Whigham LD, Cook EB, Stahl JL. CLA reduces antigen-induced histamine and PGE(2) release from sensitized guinea pig tracheae. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280:R908–12, 2001.
- Whigham LD, Watras AC, Schoeller DA, Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: A meta-analysis in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 1203–1211, 2007.
- Weldon S, Mitchell S, Kelleher D, Gibney MJ, Roche HM, Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: no effect on molecular markers of cholesterol homeostasis in THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 174(2):261-73, 2004.
- White, SL, Bertrand JA, WadeMR, Washburn SP, Green J, and Jenkins JT, 2001. Comparison of fatty acid content of milk jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2295-2301, 2001.
- Yu Y, Correll PH, Vanden Heuvel JP. Conjugated linoleic acid decreases production of pro inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. *Biochim Biophys Acta*,1581:89–99, 2002.
- Zicarelli L, Buffalo milk: its properties, dairy yield and Mozzarella production. *Vet Res Commun* 28:127–135, 2004.