Impacto del proceso de pasteurización sobre el contenido de isómeros conjugados del ácido linoleico (CLA) en leche cruda bovina (Comunicación)

Impact of the pasteurization process on the conjugated linoleic acid (CLA) content in bovine raw milk (Communication)

Allocati[1], **P., Cabona**[2], **E., Puhl**[1], **L. y González**[1], **J.H.**
Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires).

Resumen

El interés por los isómeros conjugados del ácidos linoleico (CLA) aumentó a partir de los años '80, debido al descubrimiento de sus propiedades biológicas como nutrientes funcionales o nutracéuticos. Algunos isómeros tienen un efecto benéfico comprobado para el tratamiento de algunas patologías (cáncer, obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes, etc). El consumo de carne y leche proveniente de animales rumiantes representa el principal ingreso natural de CLA para el ser humano. El contenido de CLA en la leche cruda está fuertemente influido por la dieta y puede ser alterado con los tratamientos tecnológicos a los que es sometida durante la industrialización. Para estudiar el impacto del tratamiento térmico correspondiente a la pasteurización de alta temperatura corto tiempo (HTST) sobre el contenido final de CLA, se analizaron siete muestras de leche cruda antes y después de una pasteurización de 72 ºC durante 20 segundos. Se determinó el perfil de ácidos grasos, incluidos los CLA, de todas las muestras de leche por cromatografía gas-líquido. La extracción de grasa se efectuó mediante el protocolo ISO 14156 (2001). La determinación de esteres metílicos se efectuó según Norma IRAM 5650 Parte II (1982). Se utilizó un cromatógrafo gas-líquido HP 6890 con inyección manual, y columna INNOWAX^{å} de 30 m, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 mm (J. & W. Scientific). El gas carrier utilizado fue nitrógeno. La temperatura del horno fue programada para comenzar a 45ºC durante 10 minutos con un incremento de 5 ºC/min hasta los 200 ºC, permaneciendo a esta temperatura durante 13 minutos. El inyector y el detector de temperatura (FID) fueron ajustados a 250ºC y 300 ºC, respectivamente. Los picos de ácidos grasos fueron identificados a través de estándares metílicos puros (37 Component FAME mix; conjugated linoleic acid mix– Sigma Aldrich Co – St Louis, USA). No se detectaron diferencias significativas en el contenido de CLA entre la leche cruda y con posterioridad al proceso térmico ($p>0,05$). Estos resultados preliminares sugerirían que el tratamiento térmico ensayado no modificaría el perfil de ácidos grasos de la leche, ni impactaría negativamente en el contenido de CLA. Estos resultados son parte de un estudio más amplio, donde se aumentará la potencia del ensayo incrementando el número de muestras, además de realizar el seguimiento del perfil durante la vida útil del producto elaborado.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, leche cruda bovina, pasteurización, trazabilidad.

Recibido: octubre de 2006
Aceptado: septiembre de 2007

1. Ingenieros Agrónomos. Av. San Martín 4453 - 1417 Ciudad Autónoma de Bs.As.-Argentina
2. Gerente Delaval (TetraLaval Group).

Summary

Conjugated linoleic acid (CLA), a mixture of isomers of octadecadienoic acids with conjugated double bonds, has attracted considerable attention because of its potential beneficial effects, including anticarcinogenic, antiatherogenic and treatment of non-insulin-dependent diabetes. CLA is a naturally occurring fatty acid, present mainly in ruminant dairy products, and diet is the most important factor influencing milk CLA concentration. It can be altered by processing practices. In order to study the impact of the HTST pasteurization on the final CLA content, seven samples of raw milk were analyzed before and after a pasteurization process for 20 s at 72 ºC. Concentration of fatty acids, including CLA, was determined for unprocessed raw milk and pasteurized milk. Fat extraction was performed according to ISO 14156 (2001) method. The fat was transesterified into fatty acid methyl esters according to Norma IRAM 5650 Part II (1982). Samples were injected into a HP 6890 gas chromatograph equipped with a flame-ionization-detector and 30 m x 0.25 mm i.d. fused silica capillary column (J. & W. Scientific). The injector and detector temperatures were 250 and 300 ºC, respectively. The initial oven temperature was held at 45 ºC for 10 min and increased 5ºC/min to a final temperature of 200 ºC (held for 13 min). Nitrogen was the carrier gas. Pure methyl ester standards (37 Component FAME mix and conjugated linoleic acid mix -Sigma Aldrich Co- St. Louis, USA) were used to identify peaks. No differences in fatty acids concentrations were observed between raw milk and pasteurized milk ($p>0.05$). CLA levels seem to be stable in this type of dairy product under the conditions examined. **Key words:** conjugated linoleic acid, raw milk, pasteurization, traceability.

Introducción

El término CLA (conjugated linoleic acid) se aplica a una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, con dos dobles enlaces conjugados. Son considerados como componentes funcionales por sus efectos benéficos sobre la salud humana (Parodi, 1997). Se encuentran en forma natural y en alta proporción en la grasa láctea y corporal de rumiantes y sus productos derivados, y en menor proporción, en productos derivados de no rumiantes, como yema de huevo (Fritsche y Steinhart, 1998; Khanal y Olson, 2004).

El principal isómero es el 9c,11t-18:2 ó ácido ruménico (Ellen y Elgersma, 2004), el cual constituye 89 a 90% del total de CLA en grasa láctea bovina (Bauman et al., 2001) y 0,34-0,85% de los ácidos grasos totales. En menor proporción se encuentra el 10t,12c-18:2.

Los mamíferos no sintetizan ácidos grasos trans (TFA), su presencia en la leche es debida a la biohidrogenación ruminal que convierte, en proporciones variables, los ácidos linoleico (18:2) y linolénico (18:3) de los vegetales en ácido esteárico (18:0). Durante este proceso se generan intermediarios, dos de ellos son el ácido vaccénico (t11-C18:1) y el ácido ruménico. El ácido vaccénico puede ser transformado en ácido ruménico en algunos tejidos (entre ellos el mamario) por acción de una ^{9}-desaturasa. Es decir que el contenido de CLA en la grasa láctea depende de la producción ruminal de los intermediarios y de la actividad de la desaturasa en el tejido (Bauman et al., 2001).

Entre los factores que modifican el contenido de CLA en leche cruda, las variaciones más importantes son debidas a la dieta, existiendo gran cantidad de información generada al respecto, básicamente internacional (Jiang et al., 1996; Stanton et al., 1997; Jahreis et al., 1997; Kalscheur et al., 1997; Chouinard et al., 1998; Nelly et al., 1998; Solomon et al., 2000). También han sido ampliamente estudiados e informados, efectos potencialmente benéficos en humanos, como anticarcinogénesis, debidos al ácido ruménico (Pariza, 1999, citado

por Bauman et al., 2001; Ip et al., 1999). El isómero t10,c12-18:2 interviene en la partición de los nutrientes, metabolismo de los lípidos (efecto antiobesidad), y posee efecto antidiabético (Ryder et al., 1999).

Menos información se ha generado respecto al impacto de los procesos industriales aplicados a la leche cruda sobre el contenido original de CLA. Algunos autores no observaron diferencias en el contenido de CLA debidas al procesamiento (Jiang et al., 1997; Gnading et al., 2004); otros observaron diferencias sólo en yogur descremado y manteca (Shantha et al., 1995). Por el contrario, Shantha et al. (1992) proponen que los CLA pueden formarse durante la maduración del queso.

En relación al tratamiento térmico específicamente, Precht et al. (1999) sometieron grasa láctea a temperaturas desde 200 hasta 300 ºC durante 15 min; el aumento de la temperatura produjo disminución del contenido de CLA y de los ácidos linoleico y vaccénico. Otros autores informan disminución del ácido ruménico luego de un tratamiento menos intenso, como HTST (alta temperatura, corto tiempo) de 77,2 ºC 16 seg. (Campbell et al., 2003). Por otro lado, Gnading et al. (2004) no encontraron modificaciones en el contenido de CLA de leche cruda y leche termizada utilizada para la elaboración de queso Emmental, aunque no informaron cuál fue la relación temperatura-tiempo de la termización, aunque es sabido que es menor a la correspondiente a cualquier proceso de pasteurización.

Surge de la revisión de la literatura que, por un lado, no se ha definido a partir de qué combinación tiempo-temperatura se ve afectado el contenido de CLA y, por otro, no hay estudios que evalúen el impacto del tratamiento de pasteurizado más difundido en la industria láctea argentina, correspondiente al rango de relación temperatura-tiempo de 72/75 ºC durante 15/20 segundos.

El objetivo de este trabajo fue analizar si el tratamiento térmico aplicado, 72 ºC 20 segundos, modifica el perfil de ácidos grasos, especialmente los isómeros conjugados del ácido linoleico, determinado en la leche cruda de origen.

Materiales y Métodos

El estudio se efectuó sobre una muestra compuesta de leche cruda recibida a diario por una usina láctea ubicada en Castelli, provincia de Buenos Aires. La leche cruda del silo recibida durante un día y de la misma composición, se dividió en dos partes y se aplicaron los tratamientos, T0: sin procesamiento y T1: pasteurización a 72 ºC durante 20 segundos. Este procedimiento se repitió durante siete días. Dado que el contenido de CLA en la leche procesada tiene relación directa con el contenido en la leche cruda de origen, el promedio de las diferencias de los pares de muestras obtenidos se analizaron asumiendo una distribución *t* de Student con seis grados de libertad.

Para caracterizar la composición de la leche se determinó el contenido de proteína bruta, grasa butirosa y lactosa mediante un autoanalizador Milko Scan 300® por espectrofotometría infrarroja (IDF 141B:1996).

Para la determinación del perfil de ácidos grasos se extrajo la materia grasa según el protocolo ISO 14156 (2001), mientras que la metilación de los ácidos grasos se realizó según IRAM 5 650-Parte II (1982). Para el análisis cromatográfico gas-líquido se utilizó un cromatógrafo HP 6890 con inyección manual, y columna INNOWAX^{â} de 30 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 mm (J. & W. Scientific). El gas carrier utilizado fue nitrógeno. La temperatura del horno fue programada para comenzar a 45ºC durante 10 minutos con un incremento de 5 ºC/min hasta los 200 ºC. La muestra permaneció a esta temperatura durante 13 minutos. El inyector y el detector de temperatura (FID) fue ajustado a 250 y 300ºC, respectivamente. Los picos de ácidos grasos fueron identificados a través de estándares metílicos puros (37 Component FAME mix; conjugated linoleic acid mix– Sigma Aldrich Co – St. Louis, USA).

Luego de la pasteurización en un equipo intercambiador de calor de placas a 72 ºC durante 20 segundos se efectuó, sobre la leche pasteurizada, el estudio del perfil de ácidos grasos y CLA de igual forma que en la leche cruda.

Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se presenta la composición química de las muestras de leche cruda y en el Cuadro 2 se muestra el perfil de ácidos grasos para la leche cruda y la leche pasteurizada. Los resultados muestran que la pasteurización no modificó la concentración de ácidos grasos ($p>0,05$).

La Figura 1 muestra el promedio de CLA para cada tratamiento. Como se observa las diferencias no resultaron ser significativas, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Lin et al. (1999), si bien estos autores no informan la relación temperatura-tiempo utilizada en el proceso de pasteurización.

Utilizando un tratamiento térmico de valores superiores a los aplicados en este trabajo (77,2ºC durante 16 segundos), Campbell et al. (2003) informaron una disminución significativa en la concentración del c9,t11-18:2 (33,04 vs 29,69 g/100 g metilésteres), adjudicándola a un proceso de autooxidación, por lo cual sugieren encapsular estos ácidos grasos cuando se enriquece la leche. Herzallah et al. (2005), aplicando pasteurización durante 16 segundos a 85ºC, informaron cambios no significativos en el contenido de ácidos grasos de muestras de leche antes y después del tratamiento, si bien no determinaron el contenido de CLA.

Es deseable un elevado contenido de CLA en los productos lácteos debido a sus propiedades benéficas sobre la salud humana. A través de distintas prácticas de alimentación se ha comprobado que se puede modificar sustancialmente su presencia en la leche. El contenido promedio de CLA en la leche cruda obtenida en sistemas de producción estabulados es menor al informado para sistemas pastoriles, por lo cual los productos lácteos producidos en nuestro país tendrían una valiosa diferenciación respecto a los producidos en otros sistemas; ello ampliaría el espacio ocupado por Argentina en el comercio internacional.

Si bien los resultados de este trabajo se basaron en el análisis de sólo 7 muestras, no hubo evidencia suficiente para afirmar que el proceso de pasteurizado a 72 ºC durante 20 segundos tenga un efecto detrimental en el contenido de CLA. Esto nos lleva a proponer para el futuro el análisis de un número mayor de muestras, en diversas plantas elaboradoras, de manera de estudiar el impacto del proceso con mayor precisión y evaluar si existe algún comportamiento diferencial según el nivel inicial de CLA en la leche de origen. Se propone también estudiar procesos térmicos más intensos, como el UAT (ultra alta temperatura) donde sería de interés, además, monitorear el comportamiento durante la vida útil del producto (3-6 meses). Los datos obtenidos contribuirán a generar una base de datos nacional hasta hoy escasa.

Cuadro 1: Composición de las muestras de leche cruda (%, p/p).
Table 1: *Composition of bovine raw milk samples (%, w/w).*

	Grasa	Proteína	Ext. Seco	Lactosa
Media	3,49	3,17	12,04	4,78
Desvío estándar	0,108	0,066	0,169	0,022

Cuadro 2: Perfil de ácidos grasos en leche cruda (LC) y leche pasteurizada (LP) en las 7 muestras analizadas (g/100 g ácidos grasos).
Table 2: *Fatty acids composition of raw milk (LC) and pasteurized milk (LP) of 7 analyzed samples (g/100 g fatty acids).*

Acido graso	1 LC-LP	2 LC-LP	3 LC-LP	4 LC-LP	5 LC-LP	6 LC-LP	7 LC-LP	Media (dif)[a]	DE (dif)[b]	Valor p[c]
C4:0	2,25 - 2,63	2,33 - 2,27	2,17 - 2,29	1,73 - 2,17	2,18 - 2,32	1,96 - 2,21	2,14 - 2,12	-0,18	0,19	0,05
C6:0	1,76 - 1,97	1,76 - 1,69	1,68 - 1,83	1,32 - 1,60	1,71 - 1,76	1,70 - 1,73	1,76 - 1,72	-0,09	0,13	0,127
C8:0	1,21 - 1,31	1,15 - 1,10	1,17 - 1,20	0,99 - 1,06	1,13 - 1,16	1,08 - 1,17	1,16 - 1,19	-0,04	0,05	0,066
C10:0	2,89 - 3,03	2,62 - 2,55	2,84 - 2,72	2,48 - 2,51	2,57 - 2,61	2,41 - 2,77	2,67 - 2,82	-0,08	0,16	0,257
C10:1	0,29 - 0,31	0,27 - 0,26	0,28 - 0,28	0,24 - 0,26	0,27 - 0,28	0,26 - 0,29	0,28 - 0,30	-0,01	0,01	0,05
C12:0	3,42 - 3,47	3,03 - 2,97	3,37 - 3,16	3,06 - 2,98	2,96 - 3,01	2,85 - 3,25	3,15 - 3,31	-0,04	0, 2	0,572
C12:1	0,13 - 0,13	0,12 - 0,12	0,12 - 0,12	0,15 - 0,12	0,12 - 0,12	0,12 - 0,13	0,12 - 0,13	0,001	0,01	0,788
C14:0	10,71 - 10,64	10,11 - 9,95	10,77 - 10,27	10,13 - 10,12	9,80 - 10,04	9,90 - 10,31	10,57 - 10,81	-0,02	0,31	0,859
C14:1 + isoC15:0	1,79 - 1,81	1,71 - 1,72	1,79 - 1,77	1,82 - 1,74	1,70 - 1,75	1,73 - 1,76	1,80 - 1,85	-0,01	0,05	0,639
C15:0	1,02 - 1,01	0,96 - 0,95	1,04 - 0,97	1,03 - 1,03	0,89 - 0,92	0,94 - 0,97	0,98 - 1,00	0,001	0,03	0,917
C15:1	0,25 - 0,25	0,27 - 0,28	0,25 - 0,27	0,25 - 0,26	0,27 - 0,28	0,29 - 0,26	0,28 - 0,28	-0,003	0,02	0,654
C16:0	26,67 - 26,21	26,06 - 25,93	26,37 - 26,18	25,59 - 26,15	24,79 - 25,54	26,15 - 25,92	26,95 - 26,91	-0,04	0,44	0,832
C16:1	1,44 - 1,44	1,39 - 1,39	1,33 - 1,43	1,33 - 1,42	1,33 - 1,40	1,42 - 1,41	1,41 - 1,43	-0,04	0,05	0,072
C17:0	0,56 - 0,67	0,69 - 0,70	0,55 - 0,68	0,61 - 0,72	0,66 - 0,69	0,70 - 0,68	0,66 - 0,66	-0,05	0,06	0,064
C17:1	0,31 - 0,32	0,32 - 0,33	0,30 - 0,32	0,32 - 0,33	0,32 - 0,32	0,32 - 0,31	0,31 - 0,31	-0,01	0,01	0,172
C18:0	10,86 - 10,58	12,20 - 12,31	11,64 - 11,30	10,82 - 12,01	11,74 - 12,06	12,01 - 11,67	11,39 - 11,25	-0,07	0,55	0,734
C18:1	22,49 - 22,58	22,20 - 24,09	22,47 - 23,27	20,30 - 22,31	21,72 - 23,03	23,95 - 23,71	23,81 - 23,80	-0,84	0,93	0,054
C18:2	2,70 - 2,66	2,43 - 2,46	2,71 - 2,54	2,94 - 2,45	2,48 - 2,53	2,42 - 2,71	2,40 - 2,41	0,05	0,24	0,631
C18:3	0,58 - 0,59	0,58 - 0,59	0,61 - 0,61	0,63 - 0,61	0,63 - 0,65	0,63 - 0,60	0,65 - 0,66	0	0,02	>0,99
CLA	0,98 - 0,98	0,99 - 1,02	0,95 - 1,01	1,00 - 1,12	0,96 - 1,01	1,05 - 1,00	0,98 - 0,98	-0,03	0,05	0,193
OTROS	7,74 - 7,44	8,86 - 7,37	7,63 - 7,80	13,3 - 9,08	11,50 - 8,57	8,15 - 7,19	6,57 - 6,10	1,46	1,59	0,051

a: Media (dif)= diferencia promedio (LC-LP); b: DE (dif)= desvío estándar de la diferencia; c: Valor p de la prueba t de Student.

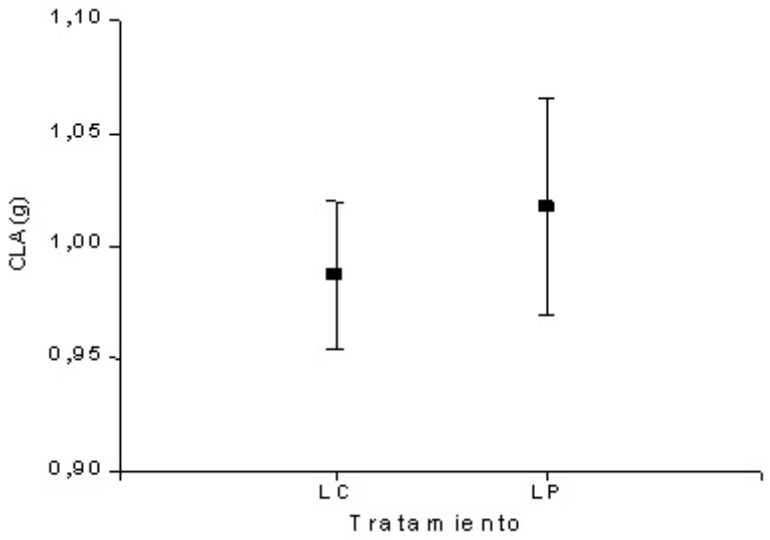

Figura 1: Valores promedio de concentración de CLA (g/100 g ácidos grasos) en la leche cruda (LC) y pasteurizada (LP) de las muestras analizadas (las barras corresponden al desvío estándar de la muestra).
Figure 1: *CLA concentration means (g/100 g fatty acids) of bovine raw milk (LC) and pasteurized milk (LP).*

Bibliografía

Bauman, D., Corl, B., Baumgard, L. and Griinari, J. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. Recent advances in animal nutrition. Ed. Garnsworthy and Wiseman. pp 221-250.

Campbell, W., Drake, M.A. and Larick, D.K. 2003. The impact of fortification with conjugated linoleic acid (CLA) on the quality of fluid milk. J. Dairy Sci. 86:43-51.

Chouinard, P.Y., Corneau, L., Kelly, M.L., Griinari, J.M. and Bauman, D.E. 1998. Effect of dietary manipulation on milk conjugated linoleic acid concentrations. J. Dairy Sci. 81 (Suppl.1):233.

Ellen, G. and Elgersma, A. 2004. Letter to the editor: Plea for using the term n-7 fatty acids in place of C18:2 cis-9, trans-11, and C18:1 trans-11 or their trivial names rumenic acid and vaccenic acid rather than the generic term conjugated linoleic acids. J. Dairy Sci. 87:1131.

Fritsche, J. and Steinhart, H. 1998. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. Z. Lebensm Unters A. 206:77-82.

Gnading, S., Chamba, J.F., Perreard, E., Chappaz, S., Chardigny, J.M., Rickert, R., Steinhart, H. and Sébédio, J.L. Influence of manufacturing conditions on the conjugated linoleic acid content and the isomer composition in ripened French Emmental cheese. J. Dairy Res. 71:367-371.

IDF Standard 141B 1996. Determination of milk, fat, protein and lactose content- Guide for the operation of mid-infra-red instruments.

Herzallah,S.M., Al-Ismail, K.M. and Humeid, M.A. 2005. Influence of some heating and processing methods on fatty acid profile of milk and other dairy products. J. Food Agric. & Environm. 3(1):103-107.

Ip, C., Banni, S., Angioni, E., Carta, G., McGinley, J., Thompson, H., Barbano, D. and Bauman, D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. J. Nutrition 129:2135-2142.

IRAM 5 650-Parte II. 1982. Aceites y grasas animales y vegetales. Método rápido de preparación de ésteres metílicos de ácidos grasos, para su utilización en cromatografía gaseosa.

ISO 14156:2001(E). Milk and milk products. Extraction methods for lipids and liposoluble compounds.

Jiang, J., Bjorck, L., Fonden, R. and Emanuelson, M. 1996. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. J. Dairy Sci. 79:438-445.

Jiang, J., Bjorck, L. and Fondén, R. 1997. Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. Int. Dairy J. 7:863-867.

Jahreis, G., Fritsche, J. and Steinhart, H. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. Nutrition Research 17:1479-1484.

Kalscheur, K.F., Teter, B.B., Piperova, L.S. and Erdman, R.A. 1997. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of *trans*-$C_{18:1}$ fatty acids and milk fat production in dairy cows. J. Dairy Sci. 80:2104-2114.

Kelly, M.L., Kolver, E.S., Bauman, D.E., Van Amburgh, M.E. and Muller, L.D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. J. Dairy Sci 81:1630-1636.

Khanal, R.C. and Olson, K.C. 2004. Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat and egg: a review. Pakistan J. Nutrition 3 (2):82-98.

Lin, H., Boylston, T.D., Chang, M.J., Luedecke, L.O. and Shultz, T.D. 1999. conjugated linoleic acid content of cheddar-type cheese as affected by processing. J. Food Sci. 64:874-878.

Parodi, P.W. 1997. Cow´s milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. Nutrition 127:1055-1060.

Precht, D., Molkentin, J. y Vahlendick, M. 1999. Influence of the heating temperature on the fat composition of milk fat with the emphasis on *cis-trans*-isomerization. Nahrung/Food. 43:25-33.

Ryder, J., Bauman, D., Portocarrero, C., Song, X., Yu, M., Barbano, D., Zierath, J. and Houseknecht, K. 1999. Anti-diabetic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA): isomer-specific effects on glucose tolerance and skeletal muscle glucose trnasport. J. Anim. Sci. 77 (Suppl. 1):157.

Shantha, N.C., Decker, E.A. and Ustunol, Z. 1992. Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. J. Am. Oil Chem. Soc. 69(5):425-428.

Shantha, N.C., Crum, A.D. y Decker, E.A. 1994. Evaluation of conjugated linoleic acid concentrations in cooked beef. J. Agric. Food Chem. 42:1757-1760.

Shantha, N.C., Ram, L.N., O´Leary, J., Hicks, C.L. and Decker, E.A. 1995. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. J. Food Sci. 60:695-697.

Solomon, R., Chase, L., Ben-Ghedalia, D. and Bauman, D. 2000. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. J. Dairy Sci. 83:1322-1329.

Stanton, C., Lawless, F., Kjellmer, G., Harrington, D., Devery, R., Connolly, J.F. and Murphy, J. 1997. Dietary influences on bovine milk *cis*-9,*trans*-11 conjugated linoleic acid content. J. Food Sci. 62:1083-1086.