

Lebensmit

Bildung von konjugierten Linolsäuren durch Starterkulturen

Robert Sieber und Marius Collomb, Agroscope Liebefeld-Posieux, Eidgenössische Forschungsanstalt für Nutztiere und Milchwirtschaft, (ALP), CH-3003 Bern

Auskünfte: Robert Sieber, E-Mail: robert.sieber@alp.admin.ch, Tel. +41 (0)31 323 81 75, Fax +41 (0)31 323 82 27

Zusammenfassung

Im Milchlipp enthaltene konjugierte Linolsäuren (CLA) weisen ein hohes gesundheitsförderndes Potenzial auf. Die Fähigkeit verschiedener Mikroorganismen, CLA aus der mehrfach ungesättigten Fettsäure Linolsäure zu bilden, könnte dazu genutzt werden, den CLA-Gehalt in fermentierten Milchprodukten zu erhöhen. In einem mit Linolsäure angereicherten Medium waren dazu einige Laktobazillen-, Laktokokken- und Streptokokken- wie auch drei von sechs Propionsäurebakterienstämmen in der Lage. Bei Anwesenheit von Linolsäure zeigten sieben von 15 Bifidobakterienstämmen eine beachtliche Bildung von CLA. Es ist deshalb zu erwarten, dass während der Herstellung, Reifung und Lagerung von fermentierten Milchprodukten Milchsäure-, Bifido- und Propionsäurebakterien in der Lage sind, CLA zu bilden.

In den letzten Jahren haben die konjugierten Linolsäuren (CLA) in der Lebensmittelwissenschaft und der Medizin stark an Beachtung gewonnen. Denn es werden ihnen eine Reihe günstiger physiologischer Wirkungen zugesprochen: bei Mäusen und Ratten wurde durch Fütterung mit einem CLA-haltigen Futter eine deutliche Reduzierung des Krebsrisikos sowie eine Reduktion der LDL¹-Konzentration und des LDL:HDL¹-Verhältnisses erzielt. Bei diesen Labortieren und bei Schweinen wurde

auch eine Erhöhung des Proteinsatzes bei gleichzeitiger Reduzierung der Fettdepots festgestellt. Als weitere physiologische Effekte sind der günstige Einfluss bei Diabetes sowie eine verminderte Neigung zur Plättchenaggregation zu erwähnen (Banni et al., 2002; MacDonald, 2000). Auch wurde bereits bei Frauen in der Postmenopause von einer inversen Beziehung zwischen der über die Nahrung aufgenommenen beziehungsweise der im Serum vorhandenen CLA-Konzentration und dem Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, berichtet (Aro et al. 2000). Unter den Lebensmitteln kommen die CLA vor allem im

Milch- und Fleischfett vor (Dufey 1999; Sieber 1995). Ihre Entstehung ist auf die Wirkung des Bakteriums *Butyrivibrio fibrisolvens* im Pansen von Wiederkäuern zurückzuführen. Dieses hydriert partiell die im Futter enthaltenen hochungesättigten Fettsäuren wie zum Beispiel die Linolsäure (Kepler et al. 1966). Die Tatsache, dass CLA im Pansen von Wiederkäuern durch das Bakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* gebildet werden, lässt vermuten, dass auch andere Mikroorganismen in der Lage sind, diese zu bilden. Der Befund, dass konventionell gehaltene Ratten mehr CLA als keimfrei aufgewachsene aufweisen, weist auf eine Rolle der im Darm vorhandenen Mikroorganismen bei der Bildung von CLA hin (Chin et al. 1994). Die Verwendung von Zusatzkulturen, die fähig sind, CLA aus Linolsäure zu bilden, wird als eine Möglichkeit angesehen, den ernährungsphysiologischen Wert von Käse zu erhöhen.

Laktobazillen, Laktokokken und Streptokokken

Untersuchungen über die CLA-Bildung von Milchsäurebakterien haben Jiang et al. (1998), Lin et al. (1999), Coakley et al. (2003) und Alonso et al. (2003) durchgeführt. In der Studie von Jiang et al. (1998) wurden verschiedene Laktobazillen im MRS (de Man-Rogosa-Sharpe)-Medium mit einer Linolsäurekonzentration von 25 µg/ml inkubiert und keiner der untersuchten Laktobazillen-, Laktokokken- und Streptokokken-

¹ LDL = Lipoprotein niedriger Dichte; HDL = Lipoprotein hoher Dichte

Konjugierte Linolsäuren (CLA = conjugated linoleic acid) sind Fettsäuren, die 18 Kohlenstoffatome enthalten und bei denen die zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül durch eine Einfachbindung voneinander getrennt sind, während es bei der Linolsäure zwei Einfachbindungen sind. Zudem können durch die räumliche Anordnung dieser Doppelbindungen in cis- und trans-Formen verschiedene Isomere entstehen. Unter diesen ist das cis9,trans11 (c9t11) das wichtigste CLA-Isomere.

Tab. 1. CLA-Bildung und Laktobazillenstämme

Stämme, die keine CLA im MRS-Medium bilden	
Jiang <i>et al.</i> 1998	Coakley <i>et al.</i> 2003
<i>L. acidophilus</i> ATCC4356	<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356
<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> NCIMB 8117, 8118
<i>L. casei</i>	<i>L. salivarius</i> UCC 43310
<i>L. casei</i> F-19	<i>L. paracasei</i> UCC 43338, 43348, 43364, 42319, DPC 5336
<i>L. fermentum</i>	
<i>L. helveticus</i> ATCC 15009	<i>L. helveticus</i> NCIMB 700257, 701244, ATCC 15009
<i>L. reuteri</i> ATCC 23272	<i>L. reuteri</i> NCIMB 11951, 701359, 701089, 702655, 702656
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> NCFB 176	<i>Lc. lactis</i> DPC 3147, 436
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> ATCC 19435	<i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB 63
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> ATCC 19257	
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> NCFB 924	
<i>Str. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	
<i>Str. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> ATCC 19285	
Stämme, die in einem Medium mit sterilisierter Magermilch (siehe Abb. 1) wie auch im MRS-Medium und Magermilch CLA bilden	
Lin <i>et al.</i> (1999)	Alonso <i>et al.</i> (2003)
<i>L. acidophilus</i> CCRC14079	<i>L. acidophilus</i> L1
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> CCRC14078	<i>L. acidophilus</i> O16
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> CCRC14009	<i>L. casei</i> E5
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> CCRC12586	<i>L. casei</i> E10
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CCRC10791	
<i>Str. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> CCRC12257	

Stämme bildete CLA. Im gleichen Medium mit 550 µg/ml Linolsäure produzierte auch nach Coakley *et al.* (2003) keiner der verwendeten Laktobazillen-, Laktokokken- und Pediokokken-Stämme CLA (Tab. 1). Dagegen fanden Alonso *et al.* (2003) in diesem Medium wie auch in Magermilch eine CLA-Bildung von 54 bis 132 µg/ml durch je zwei *L. acidophilus*- und *L. casei*-Stämme. Lin *et al.* (1999) verwendeten für ihre Versuche ein Medium, das 120 g/l Magermilchpulver enthielt, und wiesen in Abhängigkeit der zugesetzten Linolsäuremenge und Inkubationszeit eine unterschiedliche CLA-Bildung nach (Abb. 1). Mit dem Linolsäurezusatz von 1000 µg/ml erhöhte sich das gebildete CLA um etwa das drei- bis vierfache. Wenn die Menge an Linolsäure auf 5000 µg/ml erhöht und die Inkubationsdauer von 24 auf 48 h verlängert wurde, konnte keine zusätzliche CLA-Bildung festgestellt werden. Diese Untersuchungen zeigen, dass die Zusammensetzung des Mediums wie auch die Menge der vorhandenen Linolsäure für die CLA-Bildung ausschlaggebend sind.

Mit den in der Abbildung 1 erwähnten sechs Stämmen hat Lin (2000) den Einfluss von Saccharose, Laktose, Fruktose und Kochsalz auf die CLA-Bildung in einem Medium mit 1000 µg/ml Linolsäure und 60 mg/ml Saccharose, Laktose, Fruktose oder 10 mg/ml Kochsalz studiert. Mit Ausnahme von *L. delbrueckii* ssp. *lactis* 12586 (Fruktosezusatz)

¹ *L.* = *Lactobacillus*; *Lc.* = *Lactococcus*; *Str.* = *Streptococcus*

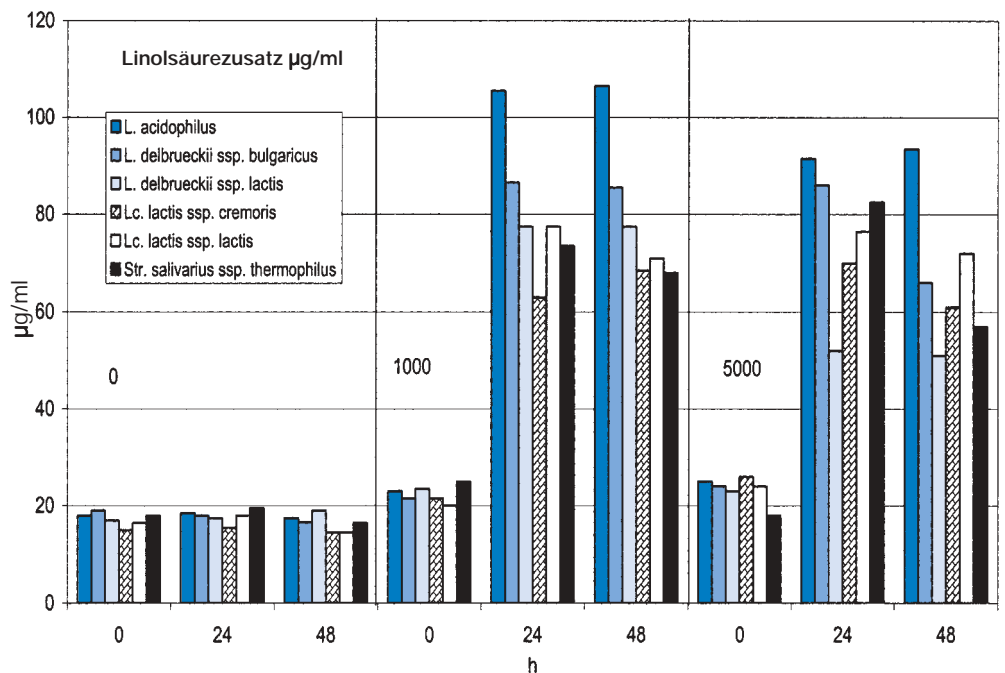


Abb. 1. Bildung von CLA durch sechs Milchsäurebakterienstämme¹ in einem Medium mit sterilisierter Magermilch² (Lin *et al.* 1999).

¹ *Lc. lactis* ssp. *cremoris* wurde bei 26°C und die übrigen bei 37°C inkubiert.

² Die sterilisierte Magermilch enthielt 7,2 mg/ml CLA und 23,4 mg/ml Linolsäure.

Tab. 2. CLA-Bildung durch Bifidobakterien (Coakley *et al.*, 2003)

Art	Stamm	CLA (µg/ml)		
		c9t11	t10t12	t9t11
<i>B. adolescentis</i>	NCFB 230	-	-	-
	NCFB 2204	1,6	1,2	0,7
	NCFB 2231	0,6	1,6	0,6
<i>B. angulatum</i>	NCFB 2236	0,6	0,6	0
<i>B. bifidum</i>	NCFB 795	1,0	0	0
<i>B. breve</i>	NCFB 2257	223	0,9	7,0
	NCFB 2258	364	0	34,2
	NCTC 11815	199	2,8	13,6
	NCIMB 8815	224	2,5	15,8
	NCIMB 8807	123	0,3	4,7
	NCFB 2243	125	1,4	33,2
<i>B. dentium</i>	NCFB 2205	1,1	1,6	0,9
	NCVB 2256	18,2	1,8	4,6
<i>B. lactis</i>	Bb12	154	3,0	13,4
<i>B. pseudocatenulatum</i>	NCIMB 8811	16,8	2,0	4,5

Bedingungen: MRS-Medium angereichert mit 0,55 mg/ml Linolsäure und 0,5 mg/ml Cysteinhydrochlorid

wurde die CLA-Bildung durch diese Zusätze in unterschiedlichem Masse gehemmt. So reduzierte sich beispielsweise bei einem Zusatz von 10 g/l Kochsalz der CLA-Gehalt um 13 bis 32 %.

Bifidobakterien

Bifidobakterien sind normale Bewohner des menschlichen Verdauungstraktes und werden auch zur Herstellung von fermentierten Milchprodukten verwendet. Die Frage, ob sie in der Lage sind, aus der Linolsäure CLA zu bilden, wurde von Coakley *et al.* (2003) abgeklärt. In einem MRS-Medium mit L-Cysteinhydrochlorid und 550 µg/ml Linolsäure wurden verschiedene Bifidobakterien-Stämme bei 37 °C während 48 Stunden inkubiert. *B. breve*, *dentium* und *lactis* bildeten viel CLA, während die anderen Bifidobakterien wie *B. adolescentis*, *angulatum*, *bifidum*, *infantis* und *pseudocatenulatum* praktisch keine Linolsäure in CLA umwandelten. Vorwiegend bildete sich das c9t11-Isomere, in geringerem Masse noch das t9t11-Isomere (Tab. 2). Dabei zeigte sich, dass

die Bildung des c9t11-Isomers nicht mehr stattfand, wenn sich die Kultur in der stationären Phase befand.

Propionsäurebakterien

Nach Jiang *et al.* (1998) sind im MRS-Medium (25 µg/ml Linolsäure) die drei Propionsäurebakterien-Stämme *Propionibacterium (P.) freudenreichii* ssp. *freudenreichii* ATCC 6207 (PFF), *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii* Propioni-6 (PFF6), *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* 9093 (PFS) in der Lage, bei 20 °C während 72 Stunden CLA zu bilden, nicht aber *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* PS-1, *P. jensenii* ATCC 4867 und *P. thoenii* ATCC 4874. Mit den ersten drei Stämmen wurde die CLA-Bildung bei unterschiedlicher Linolsäurekonzentration wie auch in zwei weiteren Kulturmedien studiert. Wurde die Linolsäurekonzentration im MRS-Medium erhöht (10, 50, 100, 200, 500, 750, 1000, 1500 µg/ml), zeigten sich unterschiedliche Resultate. Das Wachstum dieser Stämme wurde mit steigender Linolsäurekonzentration gehemmt, am

stärksten der Stamm PFF. Dabei wurde eine negative Korrelation zwischen der Gesamtkeimzahl und der Linolsäurekonzentration im Kulturmedium festgestellt. Der Stamm PFF bildete bei 500 µg/ml kein CLA mehr, während der Stamm PFS dabei die höchste CLA-Bildung erreichte. Der Stamm PFF6 bildete am meisten CLA bei einer Linolsäurekonzentration von 750 µg/ml Linolsäure. Bei gleicher Linolsäurekonzentration (100 µg/ml) produzierte im Natriumlaktat-Medium nur der Stamm PFF6 grössere Mengen an CLA, in sterilisierter Magermilch dagegen alle drei. Dabei wurden in Magermilch etwa 60 bis 90 % der freien Linolsäure in CLA umgewandelt (Tab. 3). Zudem war die hemmende Wirkung der Linolsäure auf die Bakterien geringer als in den beiden übrigen Kulturmedien, was mit dem Vorhandensein von Proteinen erklärt wird (Boyaval *et al.* 1995).

Wie die Untersuchungen von Jiang *et al.* (1998) zeigten, kann die Linolsäure in höherer Konzentration das Wachstum der Propionsäurebakterien hemmen. Um diese Wirkung zu reduzieren, haben Rainio *et al.* (2001) Linolsäure in einem Detergens (Tween-80) dispergiert. In einem Molkepermeat-Medium tolerierte *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* mindestens 1000 µg/ml Linolsäure und wandelte diese zu 57 bis 87 % in CLA um. Auf das MRS-Medium ist dieses Vorgehen anwendbar, doch nicht auf Käse.

Mechanismus der CLA-Bildung durch Mikroorganismen

Im Pansen entsteht bei der Biohydrierung der Linolsäure durch das Bakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* als erstes Produkt das c9,t11-CLA (Kepler & Tove, 1967). Dieses kann dann zur trans-Vaccensäure und zur Stearinsäure umgewandelt werden.

Jedoch ist in der Milchdrüse die Synthese aus der Vaccensäure der wichtigere Weg zur Bildung der c9,t11-CLA (Corl *et al.* 2001). Nach Untersuchungen von Ogawa *et al.* (2001) mit *L. acidophilus* unter mikroaeroben Bedingungen werden möglicherweise aus der Linolsäure zuerst 10-Hydroxy-cis-12- und 10-Hydroxy-trans-12-Octadecensäuren gebildet. Diese werden dann im ersten Falle zu c9t11- oder t9c11-Octadecadiensäure und im zweiten Falle zu t9t11-Octadecadiensäure umgewandelt. Auch zwei *Enterococcus faecalis*-Stämme aus dem Pansen von Schafen sind in der Lage, die Linolsäure in die 10-Hydroxy-12- wie auch in die 13-Hydroxy-9-Octadecensäuren umzuwandeln (Hudson *et al.* 1998), womit die erste Verbindung als Substrat für die CLA-Bildung dienen könnte.

Starterkulturen und CLA in Joghurt und Käse

Die Fähigkeit der Propionsäurebakterien-Stämme, bei Anwesenheit von Linolsäure die Bildung von CLA zu erhöhen, dürfte sich am ehesten beim Emmentaler Käse auswirken. Denn bei diesem Käse werden zusätzlich zu den Milchsäurebakterien auch Propionsäurebakterien verwendet. Auch die Verwendung von Laktobazillen, Laktokokken und Streptokokken könnten zu einem erhöhten CLA-Gehalt in Käse führen. Die Milch weist einen Gehalt an Linolsäure von etwas mehr als 1 g/100 g Fett und an freier Linolsäure von mehr als 10 mg/100 g Fett auf (Collomb *et al.* 2000). Fettsäuren wie die Linolsäure, aber auch Laurin-, Myristin- und Ölsäure beeinflussen in einer Konzentration von 10 mg/l in einem YEL-Medium das Wachstum von *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* LRTL 30, doch wurde diese hemmende Wirkung nicht in Milch, Milchretentat oder Käsebruch festgestellt (Boyaval *et al.* 1995).

Tab. 3. CLA-Bildung dreier Propionsäurebakterienstämme in unterschiedlichen Medien und bei unterschiedlicher Linolsäurekonzentration (Jiang *et al.* 1998)

Medium, Stamm Linolsäure (µg/ml)	Gesamt-CLA (mg/ml)					
	0	100	0	750	0	500
MRS-Medium						
PFF	6,4	23,2				
PFF6			5,6	265,3		
PFS					9,1	111,8
Medium mit Natriumlaktat						
PFF	0	0				
PFF6	1,2	42,0				
PFS	3,1	3,6				
Medium mit Magermilchpulver						
PFF	2,1	62,5				
PFF6	2,1	92,3				
PFS	2,7	84,5				

PFF = *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii* ATCC 6207, Reading

PFF 6 = *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii* Propioni-6, Wiesby

PFS = *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* 9093, Kemikalia

Untersuchungen zum Vorkommen von freien Fettsäuren wurden an verschiedenen schweizerischen Käsen (Emmentaler Alter: 6, Gruyère 6, Sbrinz 12, Appenzeller 3, Tilsiter 2,5, Vacherin fribourgeois 3 Monate; n = je 10) durchgeführt. Dabei wiesen die Emmentalerproben einen Gehalt an freien Linolsäuren zwischen 106 und 190 µg/g auf, während bei den anderen untersuchten Käsen zwischen 18 und 73 µg/g gefunden wurde (Collomb *et al.*, 2003). Auch Roquefort und Blauschimmelkäse gehören zu den Käsen mit einem hohen Gehalt an freien Fettsäuren. Dabei konnten in diesen beiden Käsen bis zu 17 mg/g C18-Fettsäuren nachgewiesen werden (Woo *et al.* 1984), während es in italienischen Käsen deutlich weniger war (Woo and Lindsay 1984).

Aus diesen Resultaten kann erwartet werden, dass während der Käsereifung, vor allem bei Em-

mentaler Käse und auch bei Blauschimmelkäsen, durch Starterkulturen und Propionsäurebakterien CLA aus der freien Linolsäure gebildet werden kann. Denn auf einem Medium mit sterilisierter Magermilch haben Laktobazillen, Laktokokken und Streptokokken bis zu 10 % (Abb. 1) und Propionsäurebakterien bis zu 90 % der freien Linolsäure in CLA (Tab. 3) umgewandelt. Aus der in 6 Monate altem Emmentaler vorhandenen Konzentration an freier Linolsäure könnte somit ungefähr bis zu 170 µg CLA/g Käse zusätzlich gebildet werden. Diese Betrachtungsweise lässt jedoch die während der Käsereifung kontinuierliche Freisetzung von freier Linolsäure und die damit mögliche Bildung von CLA ausser Acht. Auch der unterschiedliche CLA-Gehalt verschiedener Käsesorten (Tab. 4) scheint auf den ersten Blick darauf hinzuweisen, dass die Starterkulturen einen Beitrag zum CLA-Gehalt von

Tab. 4. CLA-Gehalt von fermentierten Milchprodukten und Käse

Milchprodukt	c9t11-CLA		Milchprodukt	MO	c9t11-CLA mg/g Fett
	mg/g Fett	mg/g Probe			
Lin et al. (1995)			Jiang et al. (1997)		
Blauschimmel 1	4,87 ^{bc}	1,48 ^{bc}	Joghurt	Str.+L.b.	6,15
Blauschimmel 2	7,96 ^a	2,29 ^a	Joghurt mild	Str.+L.b.	6,22
Brie	4,75 ^{bc}	1,29 ^{bcd}	Fjällfil	Lc.	6,12
Cheddar medium	4,02 ^c	1,40 ^{bc}	Mellanfil	Lc.	6,07
Cheddar scharf	4,59 ^{bc}	1,61 ^b	Bifilus	Lc.+Str.	4,47
Cougar Gold	3,72 ^c	1,30 ^{bcd}	Dofilus	L.a.	5,16
Cream	4,30 ^{bc}	1,43 ^b	Hälsofil	Lc.	5,24
Cottage	4,30 ^{bc}	0,20 ^e			
Edamer	5,38 ^b	1,42 ^{bc}	Blauschimmel	Lc.+Pen.	6,20
Monterey Jack	4,80 ^{bc}	1,43 ^{bc}	Cheddar	Lc.	5,86
Mozzarella	4,31 ^{bc}	0,91 ^d	Prästost	Lc.	5,01
Parmesan	4,00 ^c	0,90 ^d	Herrgardsost	Lc.	5,45
Swiss	5,45 ^b	1,61 ^{bc}	Västerbottenost	Lc.	6,02
Viking	3,59 ^c	1,20 ^{cd}	Grevé	Lc.+P.	7,06

abcde Mittelwerte mit dem gleichen Buchstaben sind statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$)

MO = Mikroorganismen: Str = *Streptococcus thermophilus*; L.b. = *Lactobacillus bulgaricus*; Lc. = *Lactococcus* spp.; Pen. = *Penicillium roqueforti*; P. = *Propionibacterium* spp.

Käse leisten (Jiang et al. 1997; Lin et al. 1995). Nach Werner et al. (1992) kann der Unterschied in der Konzentration der einzelnen CLA-Isomere auf die Verwendung von unterschiedlichen Starterkulturen und auf die Herstellungsbedingungen zurückgeführt werden. Doch halten Lin et al. (1995) fest, dass sie bei einem Vergleich von Cheddar Käsen (Cougar Gold, Cheddar, Viking), die mit unterschiedlichen Kulturen hergestellt wurden, keine signifikanten Unterschiede im CLA-Gehalt feststellten (Tab. 4). Unter jeweils identischen Bedingungen haben Jiang et al. (1997) Herrgardsost Käse und Grevé hergestellt, die in kommerziellen Produktionen mit unterschiedlichen Starterkulturen (*Lactococcus* spp. oder *Lactococcus* spp. und *Propionibacterium* spp.) eine Tendenz zu unterschiedlichem CLA-Gehalt (5,45 und 7,06 mg CLA/g Fett, Tab. 4) aufwiesen. Nach 24 Wochen Reifung unterschied sich

der CLA-Gehalt dieser beiden Käse nicht. Sie schliessen daraus, dass die Aktivität der Starterkulturen den CLA-Gehalt der Käse nicht beeinflusste und dass der höhere Gehalt des kommerziellen Grevé (Tab. 4) auf einen höheren CLA-Gehalt der Milch zurückzuführen ist. Gnädig (2002) fand in 70 Tage altem französischem Emmentaler, der mit einem schwach- oder einem hoch-lipolytischen Propionsäurebakterien-Stamm fabriziert wurde, einen CLA-Gehalt von 9,87 und 9,98 mg/g Fett, während mit einem normalen Stamm 9,54 mg/g Fett gemessen wurde.

Eingehendere Untersuchungen müssten jedoch zeigen, ob während der Vergärung der Milch zu Sauermilchprodukten und Käse Milchsäure-, Bifido- wie auch Propionsäurebakterien in der Lage sind, CLA in relevantem Masse zu bilden. Lohnend wäre dies insbesondere bei Käsen, die einen hohen Lipolysegrad auf-

weisen und damit einen hohen Gehalt an freier Linolsäure enthalten würden.

Literatur

- Alonso L., Cuesta E.P. and Gilliland S.E., 2003. Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *J. Dairy Sci.* **86**, 1941-1946.
- Aro A., Mannisto S., Salminen I., Ovaskainen M.L., Kataja V. and Uusitupa M., 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer* **38**, 151-157.
- Banni S., Murru E., Angioni E., Carta G. and Melis M.P., 2002. Conjugated linoleic acid isomers (CLA): good for everything? *Sci. Aliments* **22**, 371-380.
- Boyaval P., Corre C., Dupuis C. and Roussel E., 1995. Effects of free fatty acids on propionic acid bacteria. *Lait* **75**, 17-29.
- Chin S.F., Storkson J.M., Liu W., Albright K.J. and Pariza M.W., 1994. Conjugated linoleic acid (9,11- and 10,12-octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid. *J. Nutr.* **124**, 694-701.
- Coakley M., Ross R.P., Nordgren M., Fitzgerald G., Devery R. and Stanton C., 2003. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. *J. Appl. Microbiol.* **94**, 138-145.
- Collomb M., Eyer H. und Sieber R., 2000. Chemische Struktur und physiologische Bedeutung der Fettsäuren und anderer Bestandteile des Milchfettes. *FAM-Information* 410.
- Collomb M., Malke P., Spahni M., Sieber R. et Bütikofer U., 2003. Dosage des acides gras libres dans le fromage par chromatographie gazeuse: Précision de la méthode et différences saisonnières de la lipolyse dans divers fromages suisses. *Trav. chimie alim. Hyg.* **94**, 212-229.
- Corl B.A., Baumgard L.H., Dwyer D.A., Griinari J.M., Phillips

B.S. and Bauman D.E., 2001. The role of⁹-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* **12**, 622-630.

■ Dufey P.A., 1999. Fleisch ist eine CLA-Nahrungsquelle. *Agrarforschung* **6**, 177-180.

■ Gnädig, S. (2002). Conjugated linoleic acid (CLA): Effect of processing on CLA in cheese and the impact of CLA on the arachidonic acid metabolism. Dissertation, Universität Hamburg, 170 Seiten.

■ Hudson J.A., Morvan B. and Joblin K.N., 1998. Hydration of linoleic acid by bacteria isolated from ruminants. *FEMS Microbiol. Lett.* **169**, 277-282.

■ Jiang J., Björck 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.

■ Jiang J., Björck L. and Fondén R., 1998. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 95-102.

■ Kepler C.R. and Tove S.B., 1967. Biohydrogenation of unsaturated

fatty acids. III. Purification and properties of a linoleate delta-12-cis, delta-11-trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* **242**, 5686-5692.

■ Lin H., Boylston T.D., Chang M.J., Luedecke L.O. and Shultz T.D., 1995. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J. Dairy Sci.* **78**, 2358-2365.

■ Lin T.Y., 2000. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem.* **69**, 27-31.

■ Lin T.Y., Lin C.W. and Lee C.H., 1999. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chem.* **67**, 1-5.

■ MacDonald H.B., 2000. Conjugated linoleic acid and disease prevention: A review of current knowledge. *J. Amer. Coll. Nutr.* **19**, 111S-118S.

■ Ogawa J., Matsumura K., Kishino S., Omura Y. and Shimizu S., 2001. Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12 octadecaenoic acid during microaerobic

transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1246-1252.

■ Rainio A., Vahvaselka M., Suomalainen T. and Laakso S., 2001. Reduction of linoleic acid inhibition in production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* ssp *shermanii*. *Can. J. Microbiol.* **47**, 735-740.

■ Sieber R., 1995. Konjugierte Linolsäuren in Lebensmitteln: eine Übersicht. *Ernährung* **19**, 265-270.

■ Werner S.A., Luedecke L.O. and Shultz T.D., 1992. Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three Cheddar-type cheeses: effects of cheese cultures, processing, and aging. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 1817-1821.

■ Woo A.H. and Lindsay R.C., 1984. Concentrations of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. *J. Dairy Sci.* **67**, 960-968.

■ Woo A.H., Kollodge S. and Lindsay R.C., 1984. Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *J. Dairy Sci.* **67**, 874-878.

RÉSUMÉ

Formation d'acides linoléiques conjugués par des ferments

Les acides linoléiques conjugués (CLA) de la matière grasse laitière présentent un potentiel très élevé pour l'amélioration de la santé humaine. La capacité de divers microorganismes de former des CLA à partir de l'acide linoléique pourrait être utilisée pour augmenter les teneurs en CLA dans les produits laitiers fermentés. Dans un milieu enrichi avec de l'acide linoléique, on a constaté que diverses souches de lactobacilles, lactocoques et streptocoques ainsi que trois souches de bactéries propioniques sur six pouvaient former des CLA. En présence d'acide linoléique, sept souches de bifidobactéries sur quinze ont formé une concentration appréciable en CLA. Dans les produits laitiers fermentés, on peut par conséquent s'attendre à ce que les bactéries lactiques et propioniques ainsi que les bifidobactéries forment des CLA durant la fabrication, la maturation et l'entreposage.

SUMMARY

Formation of conjugated linoleic acids through starter cultures

The conjugated linoleic acids (CLA) contained in milk fat have a high health amelioration potential. The capacity of different starter cultures to form CLA from linoleic acid could be used to increase the CLA level in fermented dairy products. In a medium supplemented with linoleic acid, some strains of lactobacilli, lactococci and streptococci as well as three out of six propionibacteria were capable of forming CLA. In presence of linoleic acid seven of 15 strains of bifidobacteria formed increased amounts of CLA. It is therefore possible that lactic acid and propionic acid bacteria as well as bifidobacteria convert linoleic acid to CLA during the manufacture, ripening and storage of fermented dairy products.

Keywords: conjugated linoleic acid, CLA, cheese, lactic acid bacteria