

국내 주요 조사료의 Linoleic acid 농도변화에 관한 연구

박형수 · 서 성 · 임영철 · 최기춘 · 김지혜 · 이기원 · 김종근*

국립축산과학원, 천안, 330-801

A Study on The Changes of Linoleic Acid Concentration in Major Domestic Forage Species

Hyung Soo Park, Sung Seo, Young Chul Lim, Ki Chun Choi, Ji Hea Kim, Ki Won Lee and Jong Geun Kim*
National Institute of Animal Science, Cheonan, 330-801, Korea

ABSTRACT

We investigated the range of linoleic acid concentrations in different forage species and harvest stages. The linoleic acid concentrations in main cultivated grasses and forage crops were analyzed at three harvesting dates in Korea. The experiment compared 19 species of main grasses and forage crops, including eight species of grasses (Perennial ryegrass, Reed canarygrass, Tall fescue, Timothy, Bromegrass, Kentucky bluegrass, Orchardgrass and Wheat grass), six legumes (White clover, Red clover, Sweet clover, Crimson clover, Alfalfa and Hairy vetch) and five forage crops (Italian ryegrass, Barley, Rye, Oat and Rape) in Korea with three cuts (8 May, 19 May and 28 May). The linoleic acid concentrations of Reed canarygrass and Timothy were the highest, and Bromegrass was the lowest among the grass species. All grass species had high concentrations of linoleic acid at the late May harvest stage but were low at the mid May harvest stage. Legumes had higher linoleic acid concentrations than those of grasses, and harvesting in mid-May resulted in the highest linoleic acid concentration. Rape had the highest linoleic acid concentration and rye showed high concentrations of linoleic acid when compared with those of forage crops. All species of grasses and forage had decreased linoleic acid concentrations by the harvest stage. We have demonstrated opportunities to change the composition of ruminant products through breeding, selection, and management of grasses for altered levels of linoleic acid as a precursor to conjugated linoleic acid.

(**Key words** : Conjugated linoleic acid (CLA), Forage crops, Linoleic acid, Harvest stage, Grasses, Legumes)

I. 서 론

최근 소비자의 건강에 대한 관심이 고조되면서 기능성 축산물에 대한 관심 및 소비가 증가하고 있다. 기능성 축산물은 대부분이 기능성 물질을 사료에 직접 첨가하거나 기능성물질의 함량이 높은 사료를 급여하여 축산물 내 기능성 물질의 함량을 높게 유지시키도록 하고 있다. 그러나 단위가축과는 달리 반추가축은 반추위내 미생물에 의해 기능성물질이 분해가 일어나 기대하는 효과를 얻기 어려우며 따라서 coating 등의 다양한 방법을 통해 반추위를 통과시키려는 기술을 활용하기도 한다.

식물체 내의 중요한 지방산은 C16:0, C18:0, C18:1 n-9, C18:2 n-6 및 C18:3 n-3으로 분류하며 이들은 전체 지방산의 95%를 차지한다. 또한 잎에 많이 분포하고 있는

galactolipis의 대부분은 C18:2 n-6 및 C18:3 n-3로 구성되어 있다 (Van Soest, 1994). 주로 광합성 조직내에 분포하지만 (Taiz and Zeiger, 2002), C18:2 보다 C18:3 농도가 훨씬 더 높다 (Hawke, 1973).

여러 가지 기능성 물질 중 CLA (Conjugated linoleic acid)는 18개 탄소를 가진 탄화수소에 이중결합과 단일결합이 교대로 있는 지방산으로 최근 항암, 항산화, 항당뇨, 항동맥경화, 다이어트 효과 등 생리적 효능이 입증되면서 새로운 기능성 식품소재로써 주목을 받고 있는 생리활성물질이다 (Kim et al., 2002). 체지방을 감소시켜 비만, 고지혈증, 동맥경화를 억제시키고 (Park et al., 1999; Lee et al., 1994), 지방세포의 분화를 촉진할 뿐 아니라 항산화 기능으로 대장암, 유방암 등의 항암 작용을 한다 (Ha et al., 1990; Ip et al., 1991; Ip et al., 1995; O'shea et al., 2000).

* Corresponding author : Jong Geun Kim, Grassland and Forages Division, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 330-801, Korea, Tel: +82-41-580-6773, Fax: +82-41-580-6779, E-mail: forage@korea.kr

또한 포도당에 대한 내성을 저하시켜 당뇨병 치료에 도움이 되는 것으로 보고되고 있다(Riserus et al., 2002).

CLA는 필수지방산인 Linoleic acid의 이성체로 반추동물에 유래한 제품에 비교적 많이 함유되어 있다. 주로 *cis*-9, *cis*-12 형태의 linoleic acid가 반추위내에 존재하는 linoleic acid isomerase에 의해 *cis*-9, *trans*-11 CLA로 생성되며 CLA reductase에 의해 *trans*-11 Vaccenic acid로 합성된 후 조직 내로 들어가 desaturase에 의해 다시 *cis*-9, *trans*-11 CLA로 변화된다(Bauman et al, 1999). 반추위내 CLA를 합성하는 미생물은 *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus* 속 등이 있다(Jiang et al., 1998).

가축의 사료로 인한 축산물의 CLA 함량 변화는 다양한 요인에 의해 결정된다. 지방 함량이 높은 사료를 급여했을 때 우유내 CLA 함량이 증가되었으며(Dhiman et al., 1999) 농후사료와 조사료 급여 비율에 따라서도 CLA 함량이 차이가 있다고 한다(Jiang et al., 1994; Jahreis et al., 1997). 초지에서 방목한 가축의 우유에서 저장 조사료(사일리지 등)보다 더 많은 CLA 함량을 보였다고 하였으며(Kelly et al., 1998; Dhiman et al., 1999), 생육시기에 따른 차이도 나타난다고 하였다(Lock and Garnsworthy, 2003).

따라서 본 시험은 조사료를 통하여 축산물 내 CLA가 측정될 수 있도록 반추가축이 많이 이용하는 조사료의 종류 및 수확시기별 CLA 전구물질인 Linoleic acid의 농도를 구명하여 최대 측정시기에 기능성 조사료로 이용할 수 있는 기술개발을 위한 기초자료를 얻기 위해 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 분석을 위한 시료준비

CLA 전구물질 분석을 위한 시료의 준비는 국립축산과학원 초지사료과 포장을 중심으로 수집 되었다. 조사료 내 CLA 전구물질 함량(linoleic acid)을 추정하기 위하여 주요한 화분과 목초 8초종(Perennial ryegrass, Reed canarygrass, Tall fescue, Timothy, Bromegrass, Kentucky bluegrass, Orchardgrass 및 Wheat grass), 두과목초 6 초종(White clover, Red clover, Sweet clover, Crimson clover, Alfalfa, Hairy vetch), 그리고 월년생 사료작물 5초종(Italian ryegrass, Barley, Rye, Oat 및 Rape) 등 총 19초종에 대하여 3번의 수확시기(5월 8일, 5월 19일 및 5월 28일)를 두고 CLA 전구물질인 Linoleic acid 함량을 조사하였다. 수확된 시료는 약 300~400 g을 취하여 65℃ 순환식 열풍건조기에서 72시간 건조 후 20 mesh screen의 Wiley mill로 분쇄하여 플라

스틱 용기에 이중마개로 막아 분석 시까지 보관하였다.

2. Linoleic acid 분석 전처리

시료의 전처리는 Chin et al. (1992)의 방법을 이용하였다. 잘 분쇄된 시료 0.5 g을 test tube에 넣고 2 mL isopropanol 첨가하고 격렬히 vortex를 하였다. 잠시 후 다시 1.5 mL 헥산 첨가하여 3분간 vortex한 후 3,000 rpm으로 5분간 원심분리를 하여 상층부(헥산)를 수집하여 다른 튜브에 담았다. 이런 과정을 4~5회 반복하여 지방산을 분리하였다. 회수된 헥산층에 에탄올에 녹인 2 M KOH 2 mL를 첨가하고 50℃에서 30분간 침지 후 다시 3N HCl-methanol 2 mL을 가하고 60℃에서 20분간 두었다. 실온으로 냉각한 시료에 1 mL 증류수 첨가하고 다시 1 mL 헥산 첨가하여 3,000 rpm으로 15분간 원심분리를 한 후 상층액을 취하여 GC 분석에 이용하였다(Chin et al., 1992).

3. GC를 이용한 분석

다양한 분석기기와 칼럼을 이용하여 linoleic acid를 분석하지만 대체적으로 Gas chromatography (GC)를 이용한 방법이 효율이 높은 것으로 알려져 있다. Chin et al. (1992)에 의하면 CP-SIL88 칼럼을 이용하여 linoleic acid의 분석에 활용하였다는 보고가 있어 본 시험에서는 Chin et al. (1992)와 같은 방법으로 수행하였다. 본 시험에 사용된 gas chromatography는 Varian-3800 모델이었다.

자연계에 존재하는 탄소수 18개의 지방산 중에서 찾고자 하는 C18:2인 linoleic acid의 표준 피크는 Table 1에서 제시된 조건에 따라 분석한 결과 32.6 min.에 나타났다. 대부분의 peak가 31~32 min.으로 나타남에 따라 *cis*-9, *cis*-12

Table 1. Instrumental conditions of gas chromatography for determination of linoleic acid

Items	Analysis conditions
Column	CP-SIL 88
Column temp.	250℃
Injector temp.	200℃
Detector temp.	200℃ (FID)
Attenuation	4×10 ⁻¹⁰
Sample volumn	0.5
Gas flow rate	2 ml/min
Run time	46 min

Table 2. Standard peak of linoleic acid

Isomer	Run time
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12	31.5 min.
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12	32.0 min.
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12	32.3 min.
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	32.6 min.

linoleic acid의 분석을 위한 기준으로 잡게 되어 linoleic acid 분석에 활용하게 되었다.

III. 결과 및 고찰

1. 화분과 목초의 linoleic acid 함량

생육기의 화분과 목초의 linoleic acid 함량은 리드카나리 그라스에서 가장 높았고 티머시가 다음으로 높았으며 남방형 목초인 브롬그라스는 가장 낮게 나타났다. 오차드그라스와 켄터키 블루그라스는 비슷한 수준을 보였으며 톨페스큐는 낮은 편이었다. 수확시기에 있어서는 리드카나리그라스를 제외하고는 대부분이 3차(5월 28일 수확구)에서 가장 높았으며 2차 수확시기가 낮은 경향을 보였다. 이는 2차 수확시기가 대부분 개화기로 종실이 생기기 전에 linoleic acid 함량이 낮게 나타난 것으로 추정된다. Dewhurst et al. (2001)은 화분과 목초의 수확시기에 따른 linoleic acid 함량을 비교한 시험에서 여름철동안에는 감소하였다가 가을이 되면서 다시 증가되는 경향을 보인다고 하였다. 또한 Bauchart et al. (1984)은 페레니얼라이그라스에서 같은 경향을 보고하였으며 재료의 섬유소 함량이 지방산 함량의 변화에 큰 영향을 준다고 보고하였다. 즉, 수확간격을 20일에서 38일로 늘릴 경우 섬유소 함량이 늘어남에 따라 지방산 함량이 감소한다고 하였으며 잎의 비율 또한 지방산 함량에 영향을 주어 숙기가 진행될수록 페레니얼라이그라스의 linoleic acid 함량이 감소한다고 보고하였다. 또한 티머시에 있어 숙기가 진행됨에 따라 지방산 함량이 감소되었으며 이는 절간신장기에서 개화초기까지 감소된다고 보고하였다. Dewhurst et al. (2001)은 전체 지방산 함량이 화분과 목초에 있어서는 영양생장기에 가장 높았다고 하여 어릴수록 지방산 함량이 높음은 강조하면서 방목 및 예취 관리를 통하여 사료 내 지방산 함량 수준을 높일 수 있다고 하였다. Park et al. (2009)도 톨페스큐와 버뮤다그라스의 질소시비 수준 및 재생기간 동안의 지방산 조성 변화 연구에서 톨페스큐가 버뮤다그라스보다 linoleic acid 함량이 높았으며 질

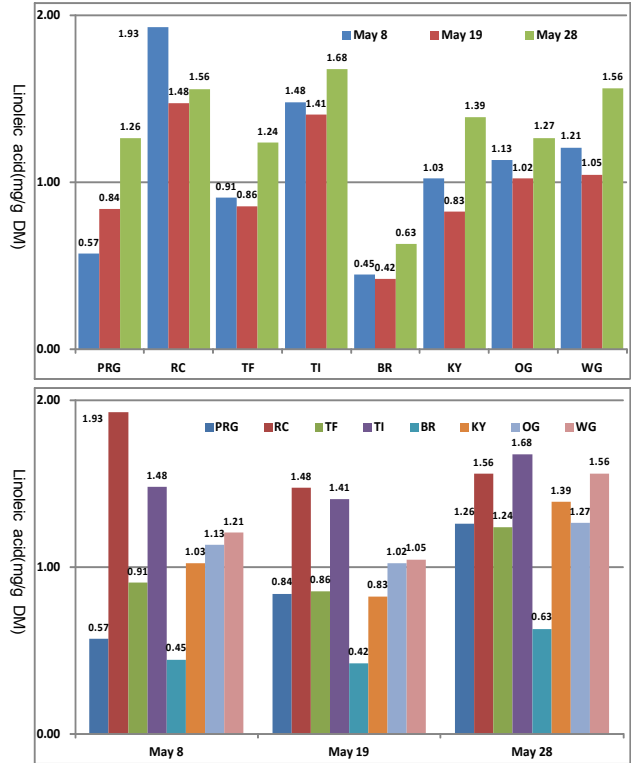


Fig. 1. Changes of linoleic acid content in grasses in relation to species and harvesting date (mg/g DM).

PRG : Perennial ryegrass, RC : Reed canarygrass, TF : Tall fescue, TI : Timothy, BR : Bromegrass, KY : Kentucky bluegrass, OG : Orchardgrass, WG : Wheat grass.

소시비 수준에 따른 차이는 나타나지 않았다고 보고하였다.

한편 Saito et al. (1969)도 오차드그라스와 라디노클로버에서 여름철에 linoleic acid 함량이 감소한다고 보고하였으나 본 시험에서는 수확간격이 너무 짧아 큰 차이는 보이지 않았으나 대체로 5월 19일 수확구에서 linoleic acid 함량이 낮은 경향을 보였다. Dewhurst et al. (2001)은 페레니얼 라이그라스 시험에서 품종간의 지방산 함량 유의성 차이가 있는데 이는 유전적인 요인이 크게 작용하는 것으로서 목초 육종 시 더 높은 지방산 함량의 품종을 만드는 것이 가능하다고 하였다. 그러나 본 시험에서는 품종간의 비교는 하지 않아 직접적인 비교를 할 수는 없었다.

2. 두과 목초의 linoleic acid 함량

두과 목초의 경우는 화이트클로버와 레드클로버 그리고 헤어리벳치에서 CLA 전구물질 함량이 높게 나타났으며 전체적으로 화분과 목초보다는 높은 농도를 나타내었다. 또

한 초종간의 차이도 크지 않았으며 수확시기에 따른 차이는 클로버류에서 2차 수확 시 높은 것으로 나타났으나 화본과 목초만큼의 큰 차이는 나타나지 않았다. 이는 화본과와는 달리 두과는 개화 후에도 줄기의 목질화가 더디게 진행되어 linoleic acid 함량의 변화가 크지 않은 것으로 보인다. Hawke (1973)는 식물의 지방산의 대부분은 잎에 존재하며 잎의 광합성 조직에 있는 지방산 중에서 대부분이 C18:3(전체 지방산의 60~75%)이며 C18:2 및 C16:0의 비율은 6~20%로 적은 비중을 차지한다고 하였다. 따라서 두과가 화본과보다 linoleic acid 함량이 더 높은 것은 두과가 잎의 비율이 더 높기 때문인 것으로 판단된다.

Boufaied et al. (2003)은 지방산 함량에 미치는 품종간의 영향을 분석한 시험에서 두과 목초가 화본과보다 linolenic acid (C18:3) 지방산 함량이 낮았지만 linoleic acid (C18:2) 함량이 더 높다고 보고하여 본 시험과 비슷한 결과를 보여 주었다. 또한 시험에 이용된 두과(화이트클로버, 레드클로버, 버즈풋 트레포일, 알팔파)중에서 레드클로버의 linoleic acid 함량이 4.61~5.30 mg/g DM으로 가장 높았고 알팔파가 3.59~4.05 mg/g DM으로 가장 낮았다고 하여 본 시험 보다는 높은 linoleic acid 함량을 보고하였다.

3. 주요 사료작물의 linoleic acid 함량

주요 사료작물의 CLA 전구물질(Linoleic acid) 함량은 십자화과로 분류되는 유채에서 가장 높게 나타났으며 귀리와 호밀도 높은 경향을 보였다. 보리의 경우는 사료작물 중에서 가장 낮은 linoleic acid 함량을 보였다. 한편 이탈리아 안라이그라스는 2 mg/g DM 내외로 사료작물 중에서는 높은 편이 아니었지만 목초(Fig. 1)와 비교해볼 때 높은 수치로 시험했던 화본과 목초 중에서 linoleic acid 함량이 일년생 라이그라스가 가장 높았다는 Boufaied et al. (2003)의 시험결과와 일치하였다.

한편 사료작물에 대한 조사료 내 지방산 함량 변화를 연구한 논문은 많지 않다. 그 동안의 연구는 주로 유지식물(콩, 해바라기 등)에 대한 지방산 활용에 대하여 연구를 한 보고는 있지만 whole crop 개념에 대한 연구가 많지가 않다. Kim et al. (2006)은 우리나라에서 재배되는 주요 사료용 11작물(Corn, Barley, Whole crop rice, Rice straw, Italian ryegrass, Orchardgrass, Sudangrass, Rye, Japanese millet, Alfalfa, Sun flower)에 대하여 linoleic acid 함량을 조사한 보고를 하였는데 그 중에서 해바라기의 linoleic

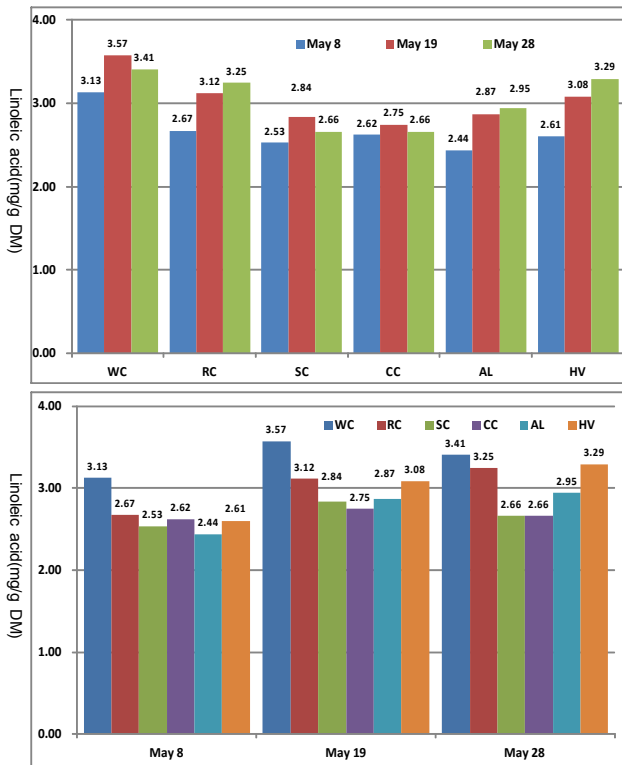


Fig. 2. Changes of linoleic acid content in legumes in relation to species and harvesting date (mg/g DM). WC : White clover, RC : Red clover, SC : Sweet clover, CC : Crimson clover, AL : Alfalfa, HV : Hairy vetch.

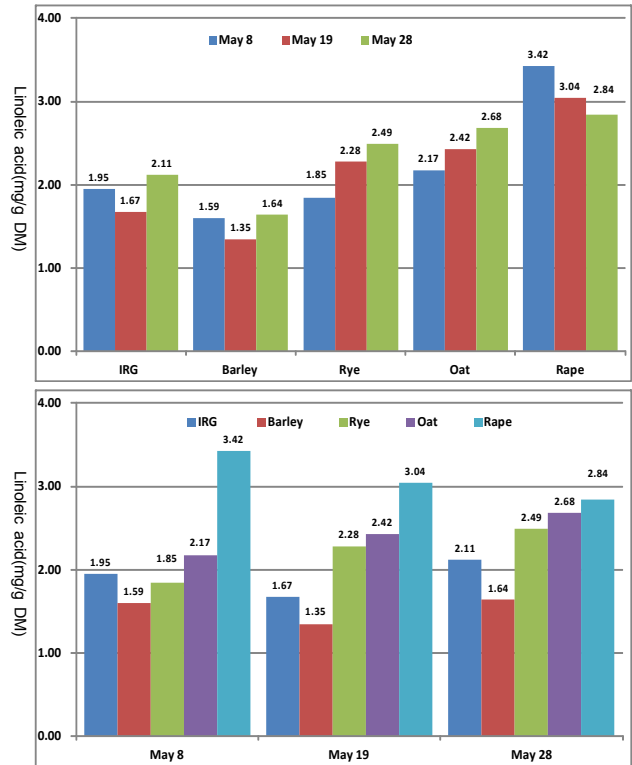


Fig. 3. Changes of linoleic acid content in forage crops in relation to species and harvesting date (mg/g DM). IRG : Italian ryegrass

acid 함량이 5.492 mg/g DM으로 가장 높았고 옥수수>보리 순으로 낮아졌다고 하였다. 대체적으로 알곡이 있는 초종에서 높은 경향을 보였는데 이는 해바라기 및 옥수수의 경우 건물축적이 일어난 후 알곡 내에 지방산의 함량이 높아지기 때문인 것으로 추정된다고 보고하였다.

Hawke (1973)는 조사료 내 지방산 함량의 차이는 초종, 생육단계, 광량, 예취빈도, 시비수준, 계절적인 요인 등에 따라 변화를 보인다고 하여 추후 세밀한 실험을 통하여 국내산 조사료내 CLA 전구물질의 농도 변화를 구명해야 할 것으로 보인다.

4. 초종 및 수확 시기 간 linoleic acid 함량

식물 종간의 linoleic acid 함량의 변화를 보면 세 번의 수확시기 동안 두과목초의 linoleic acid 함량이 높았으며 화본과 목초가 가장 낮게 나타났다. 특히 5월 19일 수확 시는 초종간의 linoleic acid 함량의 차이가 가장 크게 나타났다.

초종간의 평균 농도는 화본과 목초와 사료작물에 있어서는 5월 8일 수확 시보다는 5월 19일 수확 시 약간 낮아졌다가 5월 28일 수확 시는 농도가 높아졌다. 그러나 두과목

초는 5월 19일 증가된 이후로 큰 변화를 나타내지 않았다.

IV. 요약

본 연구는 조사료 종류와 수확시기에 따른 linoleic acid 함량 변화를 조사하기 위해 수행되었다. 우리나라에서 재배되는 주요 목초 및 사료작물에 대하여 3번의 수확시기로 구분하여 분석을 하였으며 전체 19종의 목초 및 사료작물이 조사대상 이었다. 대상작물은 우리나라에서 많이 재배되는 8종의 화본과 목초(Perennial ryegrass, Reed canarygrass, Tall fescue, Timothy, Bromegrass, Kentucky bluegrass, Orchardgrass and Wheat grass), 6종의 두과목초(White clover, Red clover, Sweet clover, Crimson clover, Alfalfa and Hairy vetch), 그리고 5종의 월동 사료작물(Italian ryegrass, Barley, Rye, Oat and Rape)에 대하여 3번의 수확시기를 두었다(5월 8일, 5월 19일 및 5월 28일). 화본과 목초 중에서는 Reed canarygrass와 timothy가 가장 높은 linoleic acid 함량을 나타내었고 남방형 목초인 bromegrass가 가장 낮았다. 모든 초종은 5월 19일 조사 시 가장 높은 농도를 나타내었고 5월 28일 조사 시 가장 낮았다. 두과목초는 화본과 목초보다 linoleic acid 함량이 높게 나타났으며 5월 19일 수확 시 가장 높은 농도를 보였다. 사료작물 중에서는 유채가 가장 높은 농도를 보였으며 호밀은 높은 수준이었다. 조사된 전체 조사료에서 수확시기가 진행됨에 따라 linoleic acid 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이상의 연구를 종합하여 볼 때 육종, 품종의 선택 및 재배관리를 통하여 CLA 전구물질인 linoleic acid 함량을 변화시켜 반추가축 생산물의 조성을 변화시킬 수 있는 것으로 나타났다.

V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제명 : 저장 조사료 다양화를 위한 건조, 헤일리지 조제기술 확립, 과제번호 : PJ008595)의 지원에 의해 연구되었다.

VI. REFERENCES

Bauchart, D., Verite, R. and Remond, B. 1984. Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. Canadian Journal of Animal Science. 64:330-331.
 Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A. and Grinari, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings

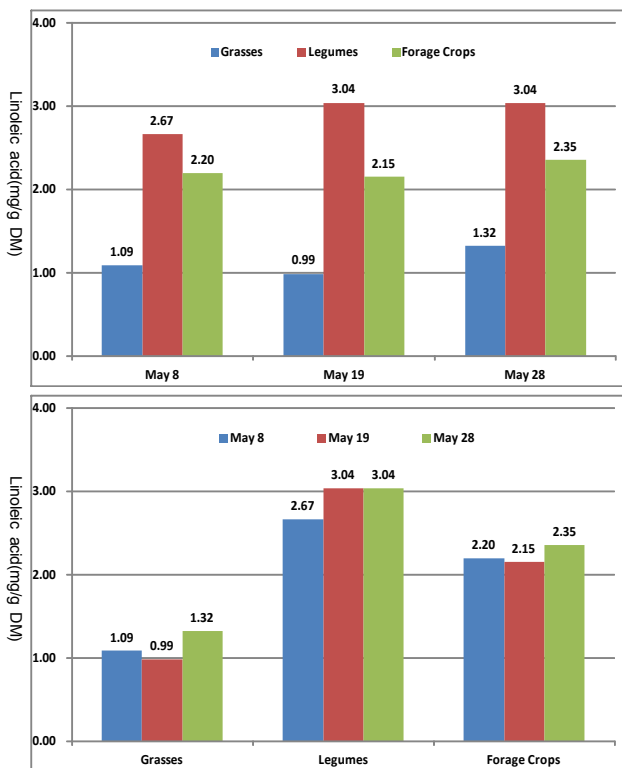


Fig. 4. Changes of linoleic acid content in relation to species and harvesting date (mg/g DM).

- of the American Society of Animal Sciences 1-15.
- Boufaied, R., Chouinard, P.Y., Yremblay, G.F., Petit, H.V., Michaud, R. and Belanger, G. 2003. Fatty acid in forages. I. Factors affecting concentrations. Canadian Journal of Animal Science. 83: 501-511.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L. and Pariza, M.W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. Journal of Food Composition and Analysis. 5:185-197.
- Dewhurst, R.J., Scollan, N.D., Youell, S.J., Tweed, J.K.S. and Humphreys, M.O. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. Grass and Forage Science. 56:68-74.
- Dhiman, T.R., Helmink, E.D., McManhon, D.J., Fife, R.L. and Pariza, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extrude oil seed. Journal of Dairy Science. 82:412-419.
- Kim, H.S., Ham, J.S., In, Y.M. and Jeong, S.G. 2002. Conjugated Linoleic Acid as a Biological Active Compounds. Journal of Korean Dairy Technology Science. 20:39-44.
- Ha, Y.L., Storkson, J. and Pariza, M.W. 1990. Inhibition of benzo (a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. Cancer Research. 50:1097-1101.
- Hawke, J. C. 1973. Lipid. In : Butler, G. W., et al.(Eds.) Chemistry and biochemistry of herbage. London, UK: Academic Press. pp. 213-263.
- Park, H.S., Hwang, K.J., Park, N.G., Kim, Y.J., Jeong, H.Y., Jo, N.C., and Ko, M.S. 2009. Effect of Nitrogen Application Level and Regrowth Period on Composition of Fatty Acid in Tall fescue and Bermudagrass. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 29:43-50.
- Ip, C., Scimeca, J.A. and Thompson, H. 1995. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. Nutrition and Cancer. 24:241-247.
- Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A. and Pariza, M.W. 1991. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. Cancer Research. 51:6118-24.
- Jahreis, G., Fritsche, J. and Steinhaut, H. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. Nutrition Research. 17:1479-1484.
- Jiang, J., Bjoerck, L. and Emanuelson, M. 1994. Occurrence of conjugated *cis*-9, *trans*-11 octadadienoic acid bovine milk: Effect of feed and dietary regimen. Journal of Dairy Science. 79: 434-445.
- Jiang, J., Bjoerck, L. and Fonden, R. 1998. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. Journal of Applied Microbiology. 85:95-102.
- Kim, J.G., Chung, E.S., Han, J.S., Yoon, S.H., Lim, Y.C. and Kim, S.K. 2006. 2006 Annual Research Report. National Institute of Animal Science. Suwon
- Kelly, M.L., Berry, J.R., Dwyer, D.A., Griinari, J.M., Chouinard, P.Y., Van Amburgh, M.E. and Bauman, D.E. 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. Journal of Nutrition. 128:881-885.
- Lee, K.N., Kritchevsky, D. and Pariza, M.W. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbit. Atherosclerosis. 108: 19-25.
- Lock, A.L. and Garnsworthy, P.C. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. Livestock Production Science. 79:47-59.
- O'shea, M. Devery, R., Lawless, F., Murphy, J. and Station, C. 2000. Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cell. Anticancer Research. 20: 3591-3601.
- Park, Y., Storkson, J.M., Albright, K.J., Liu, W. and Pariza, M.W. 1999. Evidence hat the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. Lipids. 34:235-241.
- Riserus, U., Brismar, K., Arner, P. and Vessby, B. 2002. Treatment with dietary *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese man with the metabolic syndrome. Diabetes Care. 25:1516-1521.
- Saito, T., Takadama, S., Kasuga, H. and Nakanishi, T. 1969. Effects on fatty acid composition of lipids in cows milk by grass and legume fed(VI) Differences of effects of district and seasons, on fatty acid composition of lipids in grass and legume. Japanese Journal of Dairy Science. 18: 183-189.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology, Third Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA. pp. 690.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd edition. Ithaca, NY, USA : Cornell University Press. pp. 476.

(Received July 13, 2013/Revised August 8, 2013/Accepted August 15, 2013)