

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Tina JERIČ ZAVRŠNIK

**VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE
KISLINE V KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST
KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH KOKOŠI TEŽKEGA TIPA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Tina JERIČ ZAVRŠNIK (JERIČ)

**VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V
KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH
KOKOŠI TEŽKEGA TIPA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF COENZYME Q₁₀ AND LIPOIC ACID ADDED TO
THE FEED OF HENS ON ITS CONTENT IN TISSUES OF HEAVY
TYPE HENS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

S tem diplomskim delom končujem univerzitetni študij kmetijstva – zootehnike. Opravljeno je bilo na Katedri za znanosti o rejah živali Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani ter na Kemijskem inštitutu v Ljubljani.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Antonijo Holcman in za recenzenta doc. dr. Dušana Terčiča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: prof. dr. Antonija HOLCMAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Dušan TERČIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Tina Jerič Završnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 636.5.084/.087(043.2)=163.6
KG	perutnina/kokoši/težki tip/prehrana živali/krmni dodatki/koencim Q ₁₀ /lipojska kislina/prsna mišičnina/bedrna mišičnina/jetra/srce
KK	AGRIS L02/6100
AV	JERIČ ZAVRŠNIK, Tina
SA	HOLCMAN, Antonija (mentorica)
KZ	SI – 1230 Domžale, Groblje 3
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI	2016
IN	VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST KOENCIMA Q ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI TEŽKEGA TIPA
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP	IX, 39 str., 8 pregl., 8 sl., 45 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Osnovni cilj diplomskega dela je bil ugotoviti vpliv dodatka koencima Q ₁₀ (CoQ ₁₀) in alfa lipojske kisline v krmo kokoši na njegovo vsebnost v tkivih kokoši težkega tipa in sicer mater pitovnih piščancev provenience ross. V začetku dvanajsttedenskega poskusa smo uhlevili 48 kokoši, ki smo jih razdelili v kontrolno skupino (K) in tri poskusne skupine: Q skupina je dobivala krmo obogateno s CoQ ₁₀ (2 g Amil Q/kg krme); L skupina je dobivala krmo obogateno z lipojsko kislino (0,4 g ALK/kg krme) in QL skupina, ki je dobivala krmo z obema dodatoma (2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALK/kg krme). Pri starosti 50 tednov smo kokoši zaklali in zamrznili vzorce prsne in bedrne mišičnine ter jeter in src za analize. Nato smo ekstrahirali maščobo iz tkiv in s HPLC-MS metodo določili vsebnost CoQ ₁₀ v tkivih kokoši. Največjo vsebnost CoQ ₁₀ v kontrolni skupini smo določili v jetrih (53,6 mg/kg), sledijo jim srca (47,83 mg/kg), nato bedrna mišičnina (17,22 mg/kg), najmanj CoQ ₁₀ pa vsebuje prsna mišičnina (12,47 mg/kg). Analiza rezultatov je pokazala, da dodatki CoQ ₁₀ , lipojske kisline ter hkratni dodatek CoQ ₁₀ in lipojske kisline v krmo niso značilno vplivali na vsebnost CoQ ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini ter jetrih. Glede na rezultat našega poskusa lahko sklepamo, da dodajanje omenjenih dodatkov v krmo materam pitovnih piščancev ni smiselno.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDK 636.5.084/.087(043.2)=163.6
CX poultry/hens/heavy type/animal nutrition/feed additives/coenzyme Q₁₀/lipoic acid/tissues/breast muscle/leg muscle/liver/heart
CC AGRIS L02/6100
AU JERIČ ZAVRŠNIK, Tina
AA HOLCMAN, Antonija (supervisor)
PP SI – 1230 Domžale, Groblje 3
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science
PY 2016
TI THE EFFECT OF COENZYME Q₁₀ AND LIPOIC ACID ADDED TO THE FEED OF HENS ON ITS CONTENT IN TISSUES OF HEAVY TYPE HENS
DT Graduation Thesis (University studies)
NO IX, 39 p., 8 tab., 8 fig., 45 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The aim of this study was to investigate the effect of the coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) and alpha lipoic acid added to the hen's diet on its content in the tissues of heavy type hens (broiler breeders Ross). At the beginning of twelve weeks long experiment 48 hens were included. Hens were divided into control group (K) and three eksperimental groups: Q group fed with diet enriched with CoQ₁₀ (2 g Amil Q/kg diet), L group fed with diet enriched with lipoic acid (0,4 g alpha lipoic acid/kg diet) and QL group, fed with diet enriched with both supplements (2 g Amil Q/kg diet and 0,4 g alpha lipoic acid/kg diet). Hens of all four groups together were slaughtered at age of 50 weeks. Samples of breast muscles, leg muscles, liver and hearts were frozen for further analysis. Fatty acid content was extracted from tissues and later content of coenzym Q₁₀ was determined, using of HPLC-MS method. In control group the highest content of CoQ₁₀ in broiler breeders hens tissues was determined in liver (53,6 mg/kg), followed by hearts (47,83 mg/kg), leg muscle (17,22 mg/kg) and lowest content of CoQ₁₀ was in breast muscle (12,5 mg/kg). The data analysis revealed that dietary supplementation of CoQ₁₀, lipoic acid and combination of both supplements did not have any significant effect on CoQ₁₀ content in breast muscle, leg muscle and liver and is therefore not important for broiler breeders.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI).....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD).....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK.....	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	IX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KOENCIM Q ₁₀ (CoQ ₁₀).....	3
2.1.1 Zgodovina CoQ ₁₀	3
2.1.2 Biosinteza in viri CoQ ₁₀	4
2.1.3 Vloga CoQ ₁₀	8
2.1.4 Absorpcija in biorazpoložljivost CoQ ₁₀	10
2.2 VPLIV DODANEGA CoQ ₁₀ V KRMO ŽIVALI NA RAZLIČNE LASTNOSTI	11
2.2.1 Dodatek CoQ ₁₀ v krmo piščancev	11
2.2.2 Dodatek CoQ ₁₀ v krmo kokoši	15
2.3 LIPOJSKA KISLINA	16
2.3.1 Zgodovina lipojske kisline	17
2.3.2 Sinteza in viri lipojske kisline.....	17
2.3.3 Vloga lipojske kisline	18
2.4 VPLIV DODANE LIPOJSKE KISLINE V KRMO PIŠČANCEV NA RAZLIČNE LASTNOSTI	19
2.5 MATERE PITOJNIH PIŠČANCEV PROVENIENCE ROSS.....	20
3 MATERIAL IN METODE.....	22
3.1 MATERIAL	22
3.2 METODE DELA.....	23
3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	23
4 REZULTATI Z RAZPRAVO	25
4.1 OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI.....	25

4.2	VPLIV DODANEGA CoQ ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO MATER PITOVIH PIŠČANCEV NA VSEBNOST CoQ ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI.....	28
4.3	RAZLIKE MED MATERAMI PITOVIH PIŠČANCEV IN KOKOŠMI NESNICAMI V VPLIVU DODANEGA CoQ ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST CoQ ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI	29
5	SKLEPI	32
6	POVZETEK.....	33
7	VIRI.....	35
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Vsebnost CoQ ₁₀ v organelih podganjih jeter (Ernster in Dallner, 1995: 200)	6
Preglednica 2: Skupna količina CoQ ₁₀ in odstotek reducirane oblike v človeških tkivih (Ernster in Dallner, 1995: 200).....	6
Preglednica 3: Vsebnost CoQ ₁₀ v hrani (Mattila in Kumpulainen, 2001: 412).....	7
Preglednica 4: Povprečni proizvodni parametri 40 tedenske reje mater pitovnih piščancev provenience ross (Parent Stock Performance..., 2011: 04).....	21
Preglednica 5: Osnovni statistični parametri za vsebnost CoQ ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih mater pitovnih piščancev provenience ross.....	26
Preglednica 6: Razlike med skupinami v vsebnosti CoQ ₁₀ (mg/kg) v tkivih mater pitovnih piščancev	29
Preglednica 7: Razlike v vsebnosti CoQ ₁₀ (mg/kg) v prsni in bedrni mišičnini med skupinami in proizvodnima tipoma kokoši	30
Preglednica 8: Razlike v vsebnosti CoQ ₁₀ (mg/kg) v jetrih med skupinami in proizvodnima tipoma kokoši	31

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Redoks stanja CoQ ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).....	3
Slika 2: Endogena sinteza CoQ ₁₀ (Ernster in Dallner, 1995)	5
Slika 3: Prenos elektronov v dihalni verigi (Boyer, 2005).....	8
Slika 4: Struktura vodotopnega kompleksa CoQ ₁₀ z β-ciklodekstrinom (Prošek in sod., 2008).....	11
Slika 5: Molekularna struktura lipojske kisline (Karlson, 1980).....	17
Slika 6: Matere pitovnih piščancev provenience ross (Parent stock Management..., 2013).....	21
Slika 7: Koncentracija CoQ ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih mater pitovnih piščancev	27
Slika 8: Koncentracija CoQ ₁₀ (mg/kg) v tkivih mater pitovnih piščancev ross in kokoši nesnic lohmann brown.....	29

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AHI	vodenični srčni indeks (AHI-ascites heart weight = masa desnega prekata/ masa vseh prekatov)
ALK	alfa lipojska kislina
Amil Q	vodotopni Q ₁₀ , pripravljen na osnovi koruznega škroba. Proizvod so razvili na Kemijskem inštitutu v Ljubljani.
ATP	adenozintrifosfat
BCKADH	razvejana alfa-keto kislinska dehidrogenaza
CoA	acetilkoencim A
CoQ ₁₀	koencim Q ₁₀ (ubikinon)
CoQH ₂	ubikinol
DHLA	dihidro lipojska kislina
FADH	reducirani flavinadenindinukleotid
FPP	farenzil pirofosfat
HPLC-MS	tekočinska kromatografija sklopljena z masno spektrometrijo
HMG	hidroksimetilglutaril
H ₂ O	voda
LDL	lipoprotein majhne gostote
mRNA	prenašalna ribonukleinska kislina
NADH	nikotinamid adenin dinuleotid
O ₂	kisik
QCI	CoQ ₁₀ – holesterol indeks
SOD	superoksid dismutaza
TAC	totalna oksidativna kapaciteta
VLDL	lipoproteini zelo majhne gostote

1 UVOD

Antioksidanti so snovi, ki nevtralizirajo delovanje prostih radikalov (prooksidantov), ki so organizmu škodljivi. Antioksidanti torej preprečijo oksidacijo pomembnih molekul (lipidov, beljakovin, nukleinske kisline), ki so tarče prooksidantov. Negativno delovanje prooksidantov lahko povzroči slabše delovanje organov oziroma sistemov ali pa povzročijo tvorbo toksičnih produktov. Kadar je ravnotežje med oksidanti in antioksidanti porušeno v korist oksidantov, se potrebe po antioksidantih povečajo. Zato je dodajanje antioksidantov v krmo živalim pomembno za zaščito živali ter tudi za zaščito živalskih proizvodov pred oksidacijo. Prav tako pa lahko s povečano vsebnostjo antioksidantov v živalskih proizvodih povečamo vnos le teh tudi v človeško telo (Frankič in Salobir, 2007).

Koencim Q₁₀ je edini endogeni maščobotopni antioksidant, ki je naravno prisoten v vsaki telesni celici. Največ ga vsebujejo tkiva, ki proizvedejo največ energije (srce, jetra, ledvica). Njegova najpomembnejša naloga je prenos elektronov med kompleksi mitohondrijske dihalne verige in sodelovanje v procesu nastajanja gradienta protonov in sinteze ATP. Del CoQ₁₀ zaužijemo tudi s hrano. Največ ga vsebuje rdeče meso, ribe, rastlinska olja in nekateri oreščki (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Količina CoQ₁₀ se v telesu s starostjo zmanjšuje, prav tako so opazili zmanjšane vrednosti CoQ₁₀ pri različnih boleznih. Ponekod se je že izkazal kot učinkovito sredstvo pri preprečevanju in zdravljenju nekaterih bolezni (Rus P. in Rus R. R., 2008). Zaradi pomembnosti CoQ₁₀ v našem telesu in ker z običajnim načinom prehranjevanja ni mogoče zadostiti povečanim potrebam po njem, so se na tržišču že pojavila funkcionalna živila, obogatena s CoQ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).

Med pomembnejše antioksidante uvrščamo tudi lipojsko kislino. Je koencim, ki je topen v vodi in maščobi ter ima nase vezani dve žveplovski skupini. Kot del multi-encimskega kompleksa, ki se nahaja v mitohondriju, ima pomembno vlogo pri presnovi ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin ter pretvarjanju njihove energije v ATP (Douglas Laboratories, 2012). Lipojska kislina ima kot antioksidant sposobnost nevtralizacije nekaterih prostih radikalov. Pomembno vlogo ima tudi pri tvorbi kelatov s kovinskimi ioni, regeneraciji nekaterih antioksidantov in popravilu oksidativno poškodovanih molekul. Lipojsko kislino uporabljajo tudi v terapevtske namene. Študije so pokazale, da ima

pomembno vlogo pri zdravljenju ateroskleroze, sive mrežnice, sladkorne bolezni, HIV-a in zastrupitev s težkimi kovinami (Wolfson, 2000).

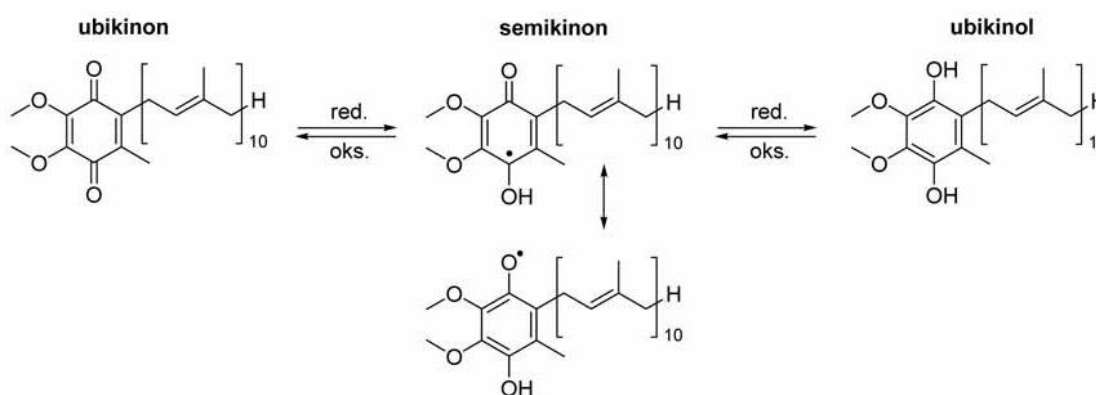
V okviru večjega poskusa, kjer so proučevali vpliv dodanega CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši na proizvodne lastnosti in lastnosti jajc, smo želeli proučiti tudi nalaganje CoQ₁₀ v mišičnino in organe kokoši. V poskus sta bila vključena dva proizvodna tipa kokoši, težki in lahki tip. V tem diplomskem delu smo se osredotočili na težki tip, in sicer na matere pitovnih piščancev provenience ross, kjer smo proučili vpliv dodanega CoQ₁₀ in alfa lipojske kisline v krmo kokoši na vsebnost v bedrni in prsni mišičnini ter v jetrih in srcu.

Domnevamo, da bo dvanajsttedensko dodajanje CoQ₁₀ v krmo kokoši težkega tipa (mater pitovnih piščancev provenience ross) vplivalo na večjo vsebnost le tega v mišičnini in organih kokoši.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KOENCIM Q₁₀ (CoQ₁₀)

Koencim Q₁₀ ali ubikinon (ime je dobil iz latinskega imena *ubiquitous*, kar pomeni povsod prisoten) je majhna hidrofobna molekula, ki se nahaja v lipidnem dvosloju notranje mitohondrijske membrane. Če oksidirana oblika CoQ₁₀ (ubikinon) sprejme dva elektrona in dva protona, nastane reducirana oblika CoQH₂ (ubikinol). Kadar pa oksidirani ubikinol odda samo en elektron pa nastane semikinonska oblika (Boyer, 2005) (slika 1).



Slika 1: Redoks stanja CoQ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)

CoQ₁₀ je relativno fotostabilen, termostabilen in ni toksičen (Korošec, 2000). Ker je CoQ₁₀ zelo hidrofoben, se lahko pojavlja v treh fizičnih stanjih: formiran kot micelarni agregat, raztopljen v lipidnem sloju ali vezan na proteine. Kemijsko ime za CoQ₁₀ je: 2,3-dimetoksi-5-metil-6-poliprenil-1,4-benzokinon, pri katerem so poliprenske stranske verige dolge od šest do deset enot. Pri sesalcih so našli le poliprenski verigi z devetimi (CoQ₉) in desetimi enotami (CoQ₁₀) (Lenaz in sod., 2007). CoQ₁₀ je v čisti izolirani obliki prah rumeno oranžne barve brez okusa. Nekateri ga uvrščajo med vitamine, vendar to ne drži, saj so vitamini spojine, ki jih telo ne proizvaja in jih mora dobiti s hrano. CoQ₁₀ pa se sintetizira v telesu in to skoraj v vsaki celici (Prošek in sod., 2008).

2.1.1 Zgodovina CoQ₁₀

Odkritje CoQ₁₀ je rezultat dolgoletnih raziskav na področju spojin in mehanizmov, ki zagotavljajo biološko pretvorbo energije. Leta 1950 je prof. David Green z Univerze v Wisconsinu začel s programom, s katerim bi izoliral večje število mitohondrijev. Sprva je

mitohondrije izoliral iz podganjih jeter in srčnih mišic golobov, kasneje pa jih je večje število začel pridobivati iz govejih src in tako je na dan izoliral 80 do 100 g mitohondrijev. Dobra oskrba z mitohondriji je služila kot izhodišče za številne raziskave na področju oksidacijskih procesov (Crane, 2007). Decembra leta 1957 je dr. Frederic Crane izoliral neznano spojino rumene barve, ki je imela vrh absorbcije pri 275 nm. Primerjal je že znane spektre in ugotovil, da je spojina kinon in jo zato poimenoval Q275 (Crane in sod., 1957, cit. po Crane, 2007). V istem času je prof. Morton raziskoval spojino izolirano iz podganjih jeter. Raziskave so pokazale enak spekter kot Q275 (Morton, 1961, cit. po Crane, 2007). Leta 1958 je Karl Folker s sodelavci Mercka ugotovil natančno kemijsko strukturo CoQ₁₀: 2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon ter s pomočjo fermentacije pridobil zadostne količine te molekule (Langsjoen, 1994).

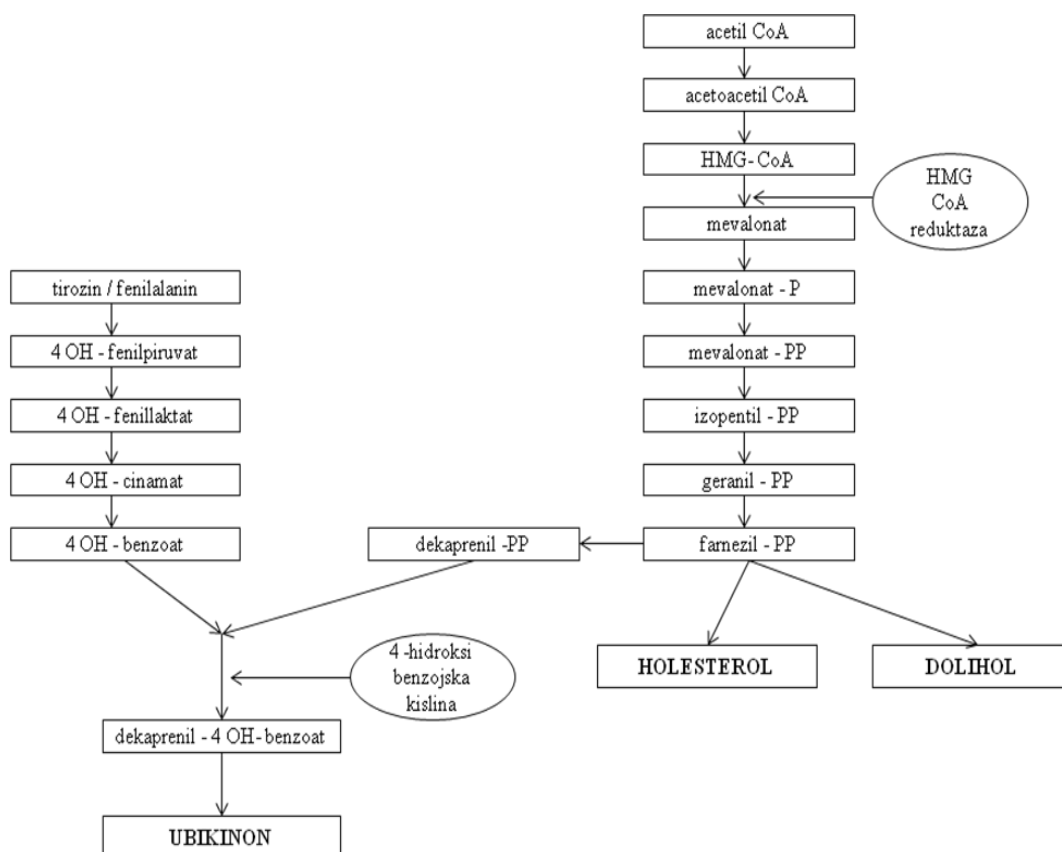
Profesor Yamamura je nato sredi 60-ih let prejšnjega stoletja prvi na svetu uporabil koencim Q₇ (ki je CoQ₁₀ sorodna spojina) za zdravljenje bolezni srca in ožilja. Italijanski znanstvenik Gian Paolo Littarru je leta 1972 skupaj s prof. Folkerjem ugotovil značilno pomanjkanje CoQ₁₀ pri srčnih bolnikih (Littarru, 1972, cit. po Langsjoen, 1994). V sredini 70-ih let prejšnjega stoletja se je na Japonskem začela industrijska proizvodnja čistega CoQ₁₀, ki je omogočila večje klinične raziskave. Peter Mitchell iz Anglije je za svoje prispevke, ki jih je združil v teoriji kemosinteze, katere ključni del je odkritje vloge CoQ₁₀ pri prenosu protonov, leta 1978 dobil Nobelovo nagrado (Mitchell, 1991, cit. po Langsjoen, 1994). Lars Ernster s Švedske je podrobno preučil pomen CoQ₁₀ kot antioksidanta in lovilca prostih radikalov (Ernster 1977, cit. po Langsjoen, 1994).

V zgodnjih osemdesetih letih je sledil velik porast števila in obsega kliničnih raziskav. Pri tem sta imela ključno vlogo dva dejavnika: dostopnost velikih količin čistega CoQ₁₀ ter analizna metoda tekočinske kromatografije visoke ločljivosti, ki je omogočila neposredno določanje koncentracij CoQ₁₀ v krvi in tkivih. Za delo s CoQ₁₀ in drugimi vitamini je profesorju Karlu Folkersu leta 1986 Ameriško komisijsko združenje dodelilo Priestleyjevo medaljo, predsednik Bush pa leta 1990 Nacionalno medaljo za znanost (Langsjoen, 1994).

2.1.2 Biosinteza in viri CoQ₁₀

Langsjoen (1994) in Bentinger in sod. (2007) navajajo, da biosinteza CoQ₁₀ poteka v vseh organih in celicah živalskega organizma. Sinteza je kompleksen proces, ki poteka v 17-ih

korakih in v katero je vključenih najmanj sedem vitaminov (vitamin B2 – riboflavin, vitamin B3 – niacin, vitamin B6, vitamin B12, vitamin C, pantotenska kislina in folna kislina) ter nekaj elementov v sledovih (Langsjoen, 1994). Biosinteza CoQ₁₀ v celicah sesalcev vključuje prepletanje dveh presnovnih poti. Kinonski obroč je sestavljen predvsem iz tirozina (v nekaterih primerih iz fenilalanina), ki se preko številnih korakov pretvori do 4-hidroksibenzoata. Poliprenske stranske verige se sintetizirajo iz acetil CoA preko mevalolatne poti do farnezil-pirofosfata (FPP). Slednji se pretvori v dekaprenil-PP in nato s 4-hidroksibenzojsko kislino kondenzira do dekaprenil-4-hidroksibenzoat, ki se v dodatnih reakcijah pretvori v CoQ₁₀. Glavni regulatorni encim na mevalolatni poti je HMG-CoA reduktaza, ki sicer prednostno vpliva na sintezo holesterola. Prav tako pa je tudi FPP prokurzor za sintezo holesterola ali dolihola (Ernster in Dallner, 1995; Turunen in sod, 2004) (slika 2).



Slika 2: Endogena sinteza CoQ₁₀ (Ernster in Dallner, 1995)

Ernster in Dallner (1995) navajata, da se sinteza CoQ₁₀ začne v endoplazemskem retikulumu in konča v membrani Golgijevega aparata, od tod pa se prenaša v druge dele

celice. V preglednici 1 je prikazana vsebnost CoQ₁₀ v organelih podganjih jeter. Največ CoQ₁₀ najdemo v Golgijevih ventriklih, membrani mitohondrijev in lizosomih.

Preglednica 1: Vsebnost CoQ₁₀ v organelih podganjih jeter (Ernster in Dallner, 1995: 200)

Organel	CoQ ₁₀ (µg/mg proteina)
Homogenat	0,79
Golgijev aparat	2,62
Lizosom	1,86
Mitohondrij	1,40
Notranja mitohondrijska membrana	1,86
Mikrosom	0,15
Peroxisom	0,29
Plazemska membrana	0,74
Citosol	0,02

V preglednici 2 prikazujemo, da koncentracija CoQ₁₀ v različnih delih telesa zelo variira, visoka je v srcu, ledvicah in jetrih, medtem ko je v črevesju, testisih in pljučih zelo nizka. Zelo se spreminja tudi odstotek reducirane oblike CoQ₁₀ v tkivih (Ernster in Dallner, 1995).

Preglednica 2: Skupna količina CoQ₁₀ in odstotek reducirane oblike v človeških tkivih (Ernster in Dallner, 1995: 200)

Tkivo	Skupna količina CoQ ₁₀ (µg/g tkiva)	% reducirane oblike CoQ ₁₀
Srce	114,0	61
Ledvice	66,5	75
Jetra	54,9	95
Mišice	39,7	65
Trebušna slinavka	32,7	100
Ščitnica	24,7	70
Vranica	24,6	85
Možgani	13,4	23
Prekat	11,8	63
Črevesje	11,5	95
Danka	10,7	87
Testisi	10,5	85
Pljuča	7,9	25

Če je organizem zdrav in normalno deluje, si lahko sam zagotovi zadostne količine CoQ₁₀, vendar lahko v nekaterih primerih pride do zmanjšane sinteze CoQ₁₀ v organizmu. To se zgodi predvsem pri zmanjševanju povišane koncentracije holesterola v krvi, za katero se uporablja zdravila imenovana statini (vsebujejo encim HMG-CoA reduktazo), ki sočasno znižujejo holesterol in CoQ₁₀ v plazmi. Ugotovili so, da se koncentracija CoQ₁₀ pri uživanju statinov zmanjša predvsem zaradi zmanjšanja LDL, ki omogoča prenos CoQ₁₀

(Littaru in Langsjoen, 2007). Vsebnost CoQ₁₀ v tkivih se začne zmanjševati tudi s starostjo. Tako so ugotovili, da se koncentracija v srcu od 20. do 80. leta zmanjša za skoraj 60 % (iz 110 mg/kg na 47 mg/kg) (Kalen in sod., 1989, cit. po Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Prav tako je lahko znižanje koncentracije CoQ₁₀ v telesu posledica pomanjkljivega vnosa s hrano (kronična podhranjenost, kaheksija,...), motnje v biosintezi, prevelike porabe koencima v telesu (velik napor, stanje akutnega šoka,...) ali kombinacija omenjenih treh vzrokov (Nohl in sod., 2000, cit. po Rus P. in Rus R. R., 2008).

Kadar biosinteza oz. endogena sinteza CoQ₁₀ zaradi različnih dejavnikov ni več učinkovita, postaja pomembnejši eksogeni vnos. Naravna vsebnost CoQ₁₀ v živilih je zelo majhna, saj človek z raznovrstno prehrano dnevno zaužije le 3 do 6 mg CoQ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Mattila in Kumpulainen (2001) sta v raziskavi ugotovila, da se največ CoQ₁₀ nahaja v drobovini (srce, jetra), mesu, ribah in repičnem olju. V zelenjavi, sadju in mlečnih izdelkih najdemo relativno malo CoQ₁₀ (preglednica 3).

Preglednica 3: Vsebnost CoQ₁₀ v hrani (Mattila in Kumpulainen, 2001: 412)

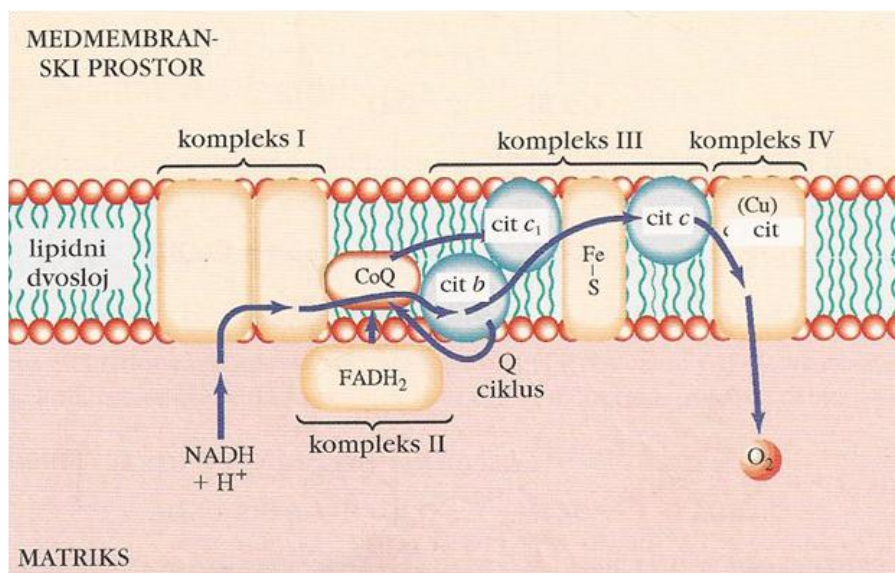
Živilo	Vsebnost CoQ ₁₀ (µg/g)
Prašičje srce	126,8
Goveje srce	113,3
Prašičja jetra	22,7
Goveja jetra	39,2
Govedina	36,5
Svinjska šunka	20,0
Piščanec	14,0
Jajce	1,2
Repično olje	63,5
Ribe	15,9-8,5
Cvetača	2,7
Korenje	1,7
Krompir	0,5
Črni ribez	3,4
Jagode	1,4
Jabolko	1,3
Jogurt	2,4
Sir	1,3
Kravje mleko	0,1

S predelavo živil, predvsem z odstranjevanjem maščob, v katerih se CoQ₁₀ raztaplja, se njegova vsebnost zmanjšuje. Povečanim potrebam po CoQ₁₀ ne moremo zadostiti z običajnim prehranjevanjem, zato na tržišču že najdemo funkcionalna živila, obogatena s CoQ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).

2.1.3 Vloga CoQ₁₀

Ena od bistvenih funkcij CoQ₁₀ je sodelovanje v verigi za prenos elektronov, ki poteka predvsem v notranji membrani mitohondrijev. S tem pa sodeluje tudi v verigi reakcij, ki pretvarjajo energijo iz ogljikovih hidratov in maščob v ATP in tako pomaga priskrbeti energijo za življenjsko pomembne funkcije (Crane, 2001). Elektronska transportna veriga je sestavljena iz štirih kompleksnih podenot:

- NADH-CoQ reduktaza (kompleks I)
- sukcinat-CoQ reduktaza (kompleks II)
- ubikinol-citokrom c reduktaza (kompleks III)
- citokrom c oksidaza (kompleks IV).



Slika 3: Prenos elektronov v dihalni verigi (Boyer, 2005)

Najprej NADH odda dva elektrona kompleksu I, nato odda FADH₂ dve elektrona kompleksu II. Elektroni iz prvih dveh kompleksov se prenesejo na CoQ₁₀, ki jih naprej prenese na citokrome oziroma na kompleks III. Citokromi so prenašalci elektronov, ki imajo prostetično skupino hem in lahko v posameznem ciklu sprejme samo po en elektron, medtem ko CoQ₁₀ lahko odda dva elektrona hkrati. Elektroni, ki prek CoQ₁₀ vstopajo v III. kompleks, se zato razdelijo na dve med seboj ločeni, a vseeno povezani poti. Ti dve poti sestavljata Q-ciklus. Pot elektronov preko tega dela dihalne verige ni tako enostavna, rezultat pa je naslednji: CoQH₂ se popolnoma oksidira, citokrom pa reducira. Tako naj bi kompleks III sodeloval pri vzdrževanju protonskega gradienta, ki je nujen pri sintezi ATP.

V kompleksu IV, ki deluje kot protonska črpalka, pride do redukcije O₂ v H₂O, pri čemer sodelujejo štirje elektroni (Boyer, 2005; Lenaz in sod., 2007). Ta prenos elektronov prikazuje slika 3.

V organizmu nastajajo škodljive snovi, prosti radikali (prooksidanti), ki lahko poškodujejo celične strukture, vključno z nukleinskimi kislinami in geni. Nastajajo pri cepitvi kovalentne vezi in so rezultat normalne celične presnove ter posledica različnih dejavnikov okolja. V normalnih razmerah so v celicah v stalnem ravnotežju z antioksidanti. Kadar se ravnotežje med njimi poruši pride do oksidativnega stresa. Antioksidanti ga preprečujejo z lovljenjem prostih radikalov, s tvorbo kelatov s kovinskimi ioni, z odstranjevanjem in/ali popraviom oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000; Frankič in Salobir, 2007).

CoQ₁₀ je v svoji reducirani obliki (ubikinol) eden od najmočnejših antioksidantov, saj ima kot lovilec prostih radikalov celo višji potencial od vitamina E in C (Korošec, 2000). Je tudi edini v maščobah topen antioksidant, ki ga lahko telo sintetizira samo. Ker se nahaja v vseh celicah, presega tako v količini kot v učinkovitosti ostale antioksidante. CoQ₁₀ v reducirani obliki varuje fosfolipide v membrani pred oksidacijo neposredno z nevtralizacijo prostih radikalov ali tako, da regenerira α -tokoferol in askorbat (Bentinger in sod., 2007). Rudan-Tasič (2000) navaja, da je o antioksidativnih lastnostih in uporabi CoQ₁₀ na področju živilstva le malo znanega. V raziskavah so ugotovili, da je CoQ₁₀ potencialni antioksidant le ob prisotnosti substance, ki ga lahko reducira, npr. vitamina C (razpršen v lipidni fazi s pomočjo emulgatorja, npr. lecitina).

CoQ₁₀ ima pomembno vlogo pri prenosu protonov čez lizosomsko membrano in s tem vzdržuje optimalen pH v celicah. Lizosomi so celični organeli, ki so specializirani za razgradnjo odpadnih snovi. Vsebujejo hidrolitične encime, ki v lizosomu delujejo optimalno le pri določeni vrednosti pH. Membrane lizosomov vsebujejo visoko koncentracijo CoQ₁₀ (Crane, 2001). CoQ₁₀ je vključen tudi v aktivacijo prenosa Na⁺/H⁺ čez membrano, ki ga izvaja Na⁺/H⁺ antiport. Tako lahko celica razvije negativni membranski potencial, ki je pomemben za veliko celičnih funkcij. Nadaljnje raziskave so pokazale, da ima CoQ₁₀ vpliv na izražanje genov, ki so vključeni v celično signalizacijo in presnovo (Crane, 2001).

Raziskave so pokazale, da CoQ₁₀ lahko preprečuje nepravilno delovanje endotelija s tem, da spodbuja sproščanje endotelijskega dušikovega oksida. Prav tako naj bi CoQ₁₀ spodbujal oksidacijo sulfidov v kvasu in uvajal disulfidne vezi v bakterijske beljakovine (Bentinger in sod., 2010).

V zadnjih letih se je močno povečalo zanimanje za klinično rabo CoQ₁₀. Zato je bil preizkušen v različnih raziskavah na živalih in ljudeh. Ponekod se je izkazal za učinkovito sredstvo pri preprečevanju in zdravljenju bolezni (srčno-žilne bolezni, migrene, nevrodegenerativne bolezni, rakava obolenja, astma,...), vendar bo potrebno opraviti še veliko kliničnih raziskav, preden bodo potrdili, da CoQ₁₀ res preprečuje in zdravi določene bolezni (Pavlin, 2008; Rus P., Rus R.R., 2008).

2.1.4 Absorpcija in biorazpoložljivost CoQ₁₀

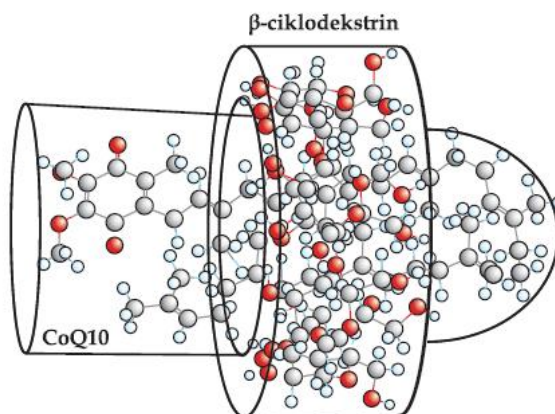
V zadnjih letih so velik pomen dobili formulirani izdelki s CoQ₁₀ v različnih farmacevtskih oblikah, s katerimi lahko v telo vnašamo večje količine tega koencima kot s hrano. CoQ₁₀ je zaradi svoje zgradbe netopen v vodi, omejena pa je tudi njegova topnost v lipidih. Zaradi teh lastnosti se zelo slabo absorbira iz prebavnega trakta (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Mehanizem prenosa in absorpcije CoQ₁₀ je podoben kot pri vitaminu E, absorpcija pa naj bi bila učinkovitejša ob prisotnosti maščob. Najprej v tankem črevesju izločki iz trebušne slinavke in žolča pomagajo emulgirati in oblikovati micelije, ki so potrebni za absorpcijo CoQ₁₀. Takoj po absorpciji se CoQ₁₀ vključi v hilomikrone in se z njimi transportira v limfni obtok. V jetrih se preoblikuje v VLDL delce, ki prenašajo lipide naprej po telesu (Bhagavan in Chopra, 2006).

Žmitek J. in Žmitek K. (2009) navajata, da je vzrok za majhno biodostopnost CoQ₁₀ kot tudi njegove reducirane oblike (ubikinola) nezadosten čas za absorpcijo v prebavnem traktu. Največji vpliv na absorpcijo CoQ₁₀ ima način zaužitja in odmerek tega koencima. Na tržišču najdemo veliko izdelkov z različnimi oblikami CoQ₁₀, ki imajo status zdravila (ki se izdaja brez recepta) ali prehranskega dopolnila:

- izdelki s kristaliničnim CoQ₁₀, za katerega je značilna slaba absorpcija;
- izdelki z oljno suspenzijo ubikinona, katerih biodostopnost je boljša od kristaliničnega CoQ₁₀;
- izdelki z oljno suspenzijo ubikinola;

- izdelki z vodotopno obliko CoQ₁₀, katere biodostopnost je z objavljenimi študijami dokazano boljša od oljne suspenzije ubikinona.

Vodotopno obliko CoQ₁₀ so med prvimi v svetu pripravili v Laboratoriju za prehrabeno kemijo na Kemijskem inštitutu. Razvili so molekulo β -ciklodekstrin, ki ima hidrofojno notranjost, v katero so vstavili CoQ₁₀ (slika 4). Tako so ustvarili kompleks, ki deluje tako, da se v kislem okolju želodca obroč sladkorjev v β -ciklodekstrinu razširi in molekula CoQ₁₀ zapusti kompleks. β -ciklodekstrin je v tem primeru samo transportno sredstvo, ki poskrbi za dobro porazdelitev v želodcu. Vendar to še ne pomeni visoke koncentracije v krvi, ker se mora CoQ₁₀ absorbirati skozi črevesno steno. To so dosegli tako, da so vodotopno obliko CoQ₁₀ dodali živilu, ki vsebuje večjo količino maščob (mleko). Tako so pripravili mleko, ki ima 50 mg CoQ₁₀ na liter in študije so pokazale, da zaužitje 2 dl tega mleka dvigne vsebnost CoQ₁₀ v krvi vsaj toliko kot zaužitje ene 30 mg kapsule (Prošek in sod., 2008).



Slika 4: Struktura vodotopnega kompleksa CoQ₁₀ z β -ciklodekstrinom (Prošek in sod., 2008)

2.2 VPLIV DODANEGA CoQ₁₀ V KRMO ŽIVALI NA RAZLIČNE LASTNOSTI

2.2.1 Dodatek CoQ₁₀ v krmo piščancev

Geng in sod. (2004) so izvedli poskus, v katerem so proučevali, kako dodatek CoQ₁₀ v krmo pitovnih piščancev vpliva na njihovo rast in pojavnost vodenice. V poskus je bilo vključenih 180 dan starih pitovnih piščancev, ki so jih razdelili v tri skupine. Od osmega dneva dalje so prejeli krmo z različnimi količinami CoQ₁₀. V prvi skupini so bili piščanci krmljeni brez dodatka CoQ₁₀, v drugi so imeli v krmi 20 mg CoQ₁₀ na kg krme, v

tretji pa 40 mg/kg. Vsi piščanci so bili od 15. do 21. dneva starosti izpostavljeni nizki temperaturi (15 do 18 °C), ki je eden od vzrokov, ki povzročajo vodenico. Rezultati so pokazali, da dodatek CoQ₁₀ ni vplival na rast pitovnih piščancev, vendar se je statistično značilno zmanjšal pogin zaradi vodenice. Predvsem se je zmanjšal pogin pri piščancih, ki so dobivali krmo z dodatkom 40 mg CoQ₁₀/kg v primerjavi s skupino z dodatkom 20 mg CoQ₁₀/kg.

Gopi in sod. (2014) so v poskusu raziskovali vpliv v krmo dodanega CoQ₁₀ na rast, klavne lastnosti (masa očiščenega klavnega trupa, masa užitne drobovine, jeter, vranice, mišičnega želodca, delež trebušne maščobe in dolžina prebavnega trakta) ter stroške vzreje pri pitovnih piščancih. V 42 dnevem poskusu so 270 dan starih piščancev razdelili v skupine glede na vsebnost dodanega CoQ₁₀ (skupina brez dodatka, skupini z dodatkom 20 mg/kg oz. 40 mg/kg) v krmne mešanice s tremi različnimi energijskimi vrednostmi (osnovna, nizkoenergijska in visokoenergijska krmna mešanica). Ugotovili so, da je bil prirast večji, izkoriščanje krme ugodnejše ter stroški prireje na kg telesne mase manjši pri skupini, ki je bila krmljena z visokoenergijsko krmno mešanico z dodatkom 20 mg CoQ₁₀/kg. Ugotovljeno je bilo tudi, da dodatek CoQ₁₀ ni značilno vplival na klavni izplen, maso užitne drobovine, jeter, vranice, trebušne maščobe in dolžino prebavnega trakta. Rezultati meritev mase srca, mišičnega želodca in vodeničnega srčnega indeksa (AHI) so bile občutno znižane pri skupinah, ki so dobivale dodatek CoQ₁₀ v krmo. Če zaključimo, dodatek CoQ₁₀ v krmo ni imel večjega vpliva na rast, klavne lastnosti in stroške vzreje pri piščancih.

V poskusu, ki je potekal v hlevu za perutnino Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru in sta ga izvedla Volk in Brus (2009) je bil preizkušen način prehrane pitovnih piščancev z dodatkom vodotopne oblike CoQ₁₀ v krmilu (5 mg CoQ₁₀/na dan). Preizkusili so vpliv dodanega CoQ₁₀ na zdravstveno stanje, proizvodne lastnosti piščancev ross 308 in vpliv na koncentracijo v telesnih tkivih. Uhlevili so 100 živali kontrolne skupine in po 25 živali v vsaki preizkusni skupini, ki so različno dolgo (10, 20, 30, 40 dni) dobivale v krmo dodan CoQ₁₀. Ugotovili so, da je največjo povprečno maso dosegla in vzdrževala skupina, ki je s CoQ₁₀ obogateno krmo dobivala 40 dni, sledila ji je skupina, ki je CoQ₁₀ dobivala 20 dni in nato skupini, ki sta CoQ₁₀ dobivali 10 oziroma 30 dni. Iz

rezultatov razberemo, da lahko dodatek CoQ₁₀ v krmo posredno preko dosežene mase vpliva tudi na priraste piščancev. Najugodnejše izkoriščanje krme je dosegla skupina živali, ki je obogateno krmo prejela 20 dni, vendar je imela skupina, ki je bila krmljena od začetka do konca pitanja z obogateno krmo, najmanj nihanj v izkoriščanju krme skozi celotno preizkusno obdobje. V času poskusa med posameznimi skupinami niso bila opažena odstopanja v zdravstvenem stanju piščancev. V mišičnem tkivu prsi in beder je vsebnost CoQ₁₀ naraščala s trajanjem krmljenja z obogateno krmo in dosegla največjo vrednost pri skupini, ki je obogateno krmo dobivala 40 dni.

Skupino piščancev, ki sta jo preučevala Volk in Brus (2009), je v svojem diplomskem delu preučevala tudi Penko (2008). Cilj njenega raziskovanja je bil ugotoviti, kako dodatek CoQ₁₀ vpliva na njegovo vsebnost v piščančjem mesu. Piščance, ki so različno dolgo dobivali krmo obogateno s CoQ₁₀, so pri starosti 41 dni zaklali, klavne trupe razrezali na posamezne kose (prsi, bedra in peruti), ter v njih določili vsebnosti holosterola in CoQ₁₀. Ugotovili so, da je vsebnost CoQ₁₀ v mesu piščancev naraščala s časom krmljenja obogatene krme in dosegla največjo vrednost pri skupini piščancev, ki je dodatek CoQ₁₀ dobivala 40 dni. Prav tako je dodatek CoQ₁₀ v krmi piščancev statistično značilno vplival na vsebnost CoQ₁₀ v vseh preučevanih kosih, še najbolj v prsih, kjer je bila relativna sprememba kar 45 %. Vpliv obogatene krme na vsebnost holesterola in maščobnokislinsko sestavo piščančjega mesa je bil v glavnem statistično neznačilen.

Tudi Halilović (2008) je uporabila vzorce iz poskusa, ki sta ga opisala Volk in Brus (2009). Njeni izsledki kažejo, da je bila poraba krme v skupinah, ki so prejemale obogateno krmo vsaj 20 dni, za 5 % manjša kot poraba pri kontrolni skupini. Ugotovila je, da piščančja jetra vsebujejo več CoQ₁₀ in več holesterola kot piščančja srca. Čeprav 40 dnevno krmljenje z obogateno krmo ni značilno vplivalo na vsebnost CoQ₁₀ v jetrih, se je vsebnost CoQ₁₀ v srcih povečala predvsem pri piščancih, ki so obogateno krmo dobivali vsaj 30 dni. V vseh skupinah piščancev, ki so dobivali obogateno krmo, je bila vsebnost holesterola v srcih značilno manjša kot v kontrolni skupini.

V večjem industrijskem poskusu so pripravili obogatene piščančje izdelke s CoQ₁₀ v katerih ta ni bil dodan šele na koncu proizvodnega procesa, ampak so bili že piščanci krmljeni z dodatkom CoQ₁₀. V preizkusni skupini je bilo 37.000 piščancev, ki so bili

zadnjih 20 dni pred zakolom krmljeni s krmo, obogateno z vodotopnim CoQ₁₀ (10 mg CoQ₁₀/žival/dan). V kontrolni skupini je bilo 36.600 piščancev, ki so dobivali samo osnovno krmo. Piščancem so bile po zakolu odvzete prsi, peruti, bedra in jetra, iz katerih so nato pripravili različna funkcionalna živila: pečene piščančje peruti, pečene piščančje krače, panirane piščančje fileje, piščančje prsi v ovitku, piščančje posebne klobase in jetrne paštete. Izdelkom so nato določili vsebnost maščob, holesterola in CoQ₁₀. Na podlagi teh meritev so izračunali QCI indeks, ki predstavlja merilo za izboljšavo mesa in predstavlja razmerje med CoQ₁₀ in holesterolom. Tako so ugotovili, da dosega najboljši QCI indeks piščančja jetrna pašteta, medtem ko imajo največji porast indeksa piščančje prsi v ovitku. Relativna koncentracija CoQ₁₀ se je v obogatenih živilih povečala tudi do 30 %, vendar v absolutnem smislu to pomeni samo nekaj mg CoQ₁₀ več. Če to primerjamo s količino CoQ₁₀, ki ga lahko dodamo končnim mesnim proizvodom, je zgoraj opisan poskus ekonomsko neupravičen. Vendar je v praksi drugače, ker je CoQ₁₀ pomemben antioksidant in ščiti živali pred oksidativnim stresom in posledično pred nenadno kapjo. V poskusu se je izkazalo, da je v kontrolni skupini poginilo vsaj 300 piščancev več kot v preizkusni skupini, ki je prejela dodatek CoQ₁₀ (Prošek in sod., 2009; Jazbec Križman, 2011).

Jazbec Križman (2011) je v svoji doktorski disertaciji ugotavljala tudi vpliv CoQ₁₀ na delovanje antioksidativne mreže (medsebojno delovanje antioksidantov v organizmu). V poskus je vključila 250 piščancev, ki so bili razdeljeni v tri skupine. Prva skupina je dobivala v krmo dodan CoQ₁₀ (5 mg/dan), druga lipojsko kislino (50 mg/dan) in tretja kombinacijo obeh dodatkov. Iz vsake skupine je naključno izbrala 14 živali in jim odvzela kri 16., 28. in 42. dan starosti, ki jo je uporabila za analize CoQ₁₀. Analize vsebnosti CoQ₁₀ v plazmi so pokazale, da se je vsebnost CoQ₁₀ v vseh preizkusnih skupinah povečala. Največja je bila vsebnost v skupini, ki je dobivala v krmo dodan CoQ₁₀. Oba dodatka, CoQ₁₀ in lipojska kislina, vplivata tudi na zvišanje tokoferola. Iz njenih rezultatov je razvidno, da se je med rejo v kontrolni skupini povečala vsebnost SOD, kar pomeni, da so bili piščanci izpostavljeni oksidacijskemu stresu. Na zmanjšanje vsebnosti SOD je najbolj vplival dodatek lipojske kisline, kar pomeni, da je lipojska kislina močan antioksidant. Vsebnosti TAC so se zaradi povečanja vsebnosti antioksidantov v plazmi povečale, kar kaže na boljše delovanje antioksidativne mreže.

V poskusu, ki je bil izveden na Japonskem, so ugotovili, da je dodatek CoQ₁₀, ki so ga dodali krmi za piščance, zelo zmanjšal skupno vrednost holesterola v plazmi in jetrih. Enaindvajsetdnevni poskus se je začel na osem dni starih piščancih in je bil razdeljen na dva dela. V prvem so bili piščanci razdeljeni v štiri skupine: v kontrolno (krmljeni samo z osnovno krmno mešanico) in v tri skupine, ki so bile krmljene z osnovno krmno mešanico, kateri so bili dodani različni deleži CoQ₁₀ (0,2 %, 0,4 % in 0,8 %). V drugem delu poskusa so bili piščanci razdeljeni v dve skupini: v kontrolno in v skupino, ki je v osnovno krmno mešanico dobivala dodatek 0,4 % CoQ₁₀. Po končanih poskusih so jih zaklali in njihovo plazmo ter jetra shranili v tekočem dušiku pri -80 °C za nadaljnjo raziskavo. Rezultati prvega dela poskusa kažejo na očitno zmanjšanje vrednosti skupnega holesterola in VLDL holesterola v plazmi pri skupinah z dodatkom 0,4 % in 0,8 % CoQ₁₀ v primerjavi s kontrolno skupino. Do enakih ugotovitev so prišli tudi v drugem delu poskusa. V jetrih se je encimska aktivnost HMG-CoA reduktaze, ki skrbi za sintezo holesterola, precej zmanjšala pri piščancih, ki so dobivali krmo z dodatkom CoQ₁₀, medtem ko nivo HMG-CoA reduktazne mRNA ni bil prizadet oziroma zmanjšan. Dodatek CoQ₁₀ v krmo piščancev torej zavira jetrno sintezo holesterola z inhibicijo delovanja HMG-CoA reduktaze, kar vpliva tudi na zmanjšanje plazemske koncentracije VLDL holesterola (Honda in sod., 2010).

2.2.2 Dodatek CoQ₁₀ v krmo kokoši

Sovič (2010) je preučevala vpliv dodanega CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši nesnic provenience lohmann brown in mater pitovnih piščancev provenience ross na fizikalne lastnosti jajc. Uhlevili so po 48 živali vsake izmed provenienc, ki so jih nato razdelili v štiri skupine glede na dodatek v krmo (kontrolna skupina; skupina, ki je dobivala dodatek CoQ₁₀; skupina, ki je dobivala dodatek lipojske kisline in skupina, ki je dobivala dodatek CoQ₁₀ in lipojske kisline). V 12 tedenskem poskusu so vsak teden na vseh zbranih jajcih tistega dne izmerili fizikalne lastnosti jajc. Dodatek CoQ₁₀ je vplival na fizikalne lastnosti jajc kokoši nesnic in sicer je povzročil temnejšo barvo jajčne lupine, svetlejšo barvo rumenjaka in večji obseg krvnih in mesnih peg. Pri materah pitovnih piščancev pa dodatek CoQ₁₀ v krmo ni povzročil nobenih značilnih sprememb na fizikalnih lastnostih jajc. Dodatek lipojske kisline je pri kokoših nesnicah povzročil trdnejšo lupino in boljšo kakovost beljaka, medtem ko je pri materah pitovnih piščancev povzročil nesenje lažjih

jajc s svetlejšo in trdnejšo lupino, slabšo kakovostjo beljaka in intenzivnejšo barvo rumenjaka. Dodatek obeh, tako CoQ₁₀ kot lipojske kisline v krmo kokoši, je pri kokoših nesnicah vplival na večjo trdnost in intenzivnejšo obarvanost lupine, boljšo kakovost beljaka in zmanjšano intenzivnost barve rumenjaka. Pri jajcih kokoši težkega tipa je dodatek obeh poslabšal kakovost beljaka in izboljšal obarvanost rumenjaka.

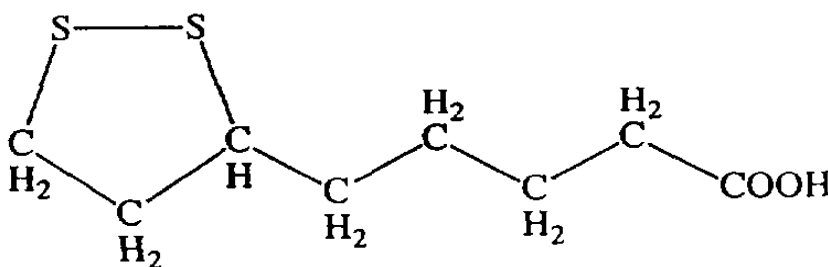
Kotnik (2012) je proučevala vpliv dodanega CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo na proizvodne lastnosti pri dveh proizvodno različnih tipih kokoših in sicer pri težkem tipu, materah pitovnih piščancev provenience ross in lahkem tipu, pri kokoših nesnicah lohmann brown. Vzorci za poskus so bili enaki kot jih je uporabila Sovič (2010). Ugotovila je, da obstajajo predvsem značilne razlike med genotipoma v telesni masi živali oziroma njihovih prirastih ter zaužiti krmi in porabi krme za kilogram jajčne mase. Poskus je pokazal, da v krmo dodani dodatki nimajo vpliva na proizvodne lastnosti živali.

Prevodnik (2011) je v svojem diplomskem delu preučevala vpliv CoQ₁₀ na oplojenost jajc in valilnost, poleg tega še na telesno maso živali, porabo krme, nesnost in vitalnost. V poskus so vključili 786 kokoši pasme slovenska grahasta kokoš in 92 petelinov pasme slovenska rjava kokoš in jih razdelili v dve skupini. Skupina K je bila krmljena z NSK, skupini Q pa so v osnovno krmo NSK dodali še CoQ₁₀. Ugotovili so, da dodajanje CoQ₁₀ v krmo kokoši iz vidika nesnosti, oplojenosti in valilnosti ni smiselno, saj so bile vse razlike med skupinama K in Q zelo majhne in statistično neznailne.

2.3 LIPOJSKA KISLINA

Lipojska kislina, znana tudi kot α -lipojska kislina (ALK) ali tioktinska kislina, je disulfidni derivat oktanojske kisline. Ima dve tiolni (žveplovi) skupini, ki sta lahko v oksidirani ali reducirani obliki (slika 5). Reducirano obliko imenujemo dihidrolipojska kislina (DHLLA), v oksidirani obliki pa je znana kot lipojska kislina. Ker vsebuje asimetrični vodik, ima lipojska kislina dve optični izomeri, ki sta zrcalni sliki druga druge (R in S izomer). Samo R-izomera se lahko endogeno sintetizira in je naravno prisotna v organizmih. Obe izomeri najdemo v različnih prehranskih dodatkih (Higdon, 2002). Kemijskih imen za lipojsko kislino je več, med drugimi 1,2-ditiolan-3-pentaoična kislina; 1,2-ditiolan-3-valerična kislina; in 6,8-tioktinska kislina (Packer in sod., 1995). Sprva so mislili, da je lipojska

kislina vitamin, vendar so kasnejše raziskave pokazale, da jo telo lahko sintetizira samo, vendar v zelo majhnih količinah. Lipojska kislina je topna tako v vodi kot tudi v lipidih in prav to je ena od njenih prednosti in jo zato imenujemo »univerzalni antioksidant« (Boyer, 2005).



Slika 5: Molekularna struktura lipojske kisline (Karlson, 1980)

2.3.1 Zgodovina lipojske kisline

Lipojsko kislino je prvi izoliral Reed s sodelavci leta 1951 (Packer in sod., 1995; Boyer, 2005). Potreboval je 10 ton jeter, da je dobil 30 mg očiščene lipojske kisline (Boyer, 2005). Že leta 1959 sta Rosenberg in Culik prepoznala antioksidativno vlogo lipojske kisline. Ugotavljala sta vlogo lipojske kisline pri simptomih, povezanih s pomanjkanjem vitamina C pri morskih prašičkih in vitamina E pri podganah, krmljenih z obroki, v katerih je primanjkovalo α -tokoferola (Packer in sod., 1995). V 60-ih letih prejšnjega stoletja so začeli raziskovati vlogo lipojske kisline v terapevtske namene. Opazili so pomanjkanje lipojske kisline pri ljudeh, ki trpijo zaradi sladkorne bolezni, ciroze jeter in nekaterih drugih bolezni. Skupina nemških zdravnikov je začela bolnikom s temi boleznimi dodajati lipojsko kislino in ugotovili so, da se je lipojska kislina dobro absorbirala iz prebavnega trakta in porazdelila po telesu. Kasnejše študije so pokazale, da je lipojska kislina odličen antioksidant (Wolfson, 2000).

2.3.2 Sinteza in viri lipojske kisline

Endogena biosinteza lipojske kisline poteka v mitohondrijih. Iz maščobnih kislin (oktanojske kisline) se *in novo* sintetizira lipojska kislina. V zadnjem delu sinteze se s pomočjo lipoyl sintaze, ki katalizira to reakcijo, v oktanojsko kislino vključita dva atoma žvepla. Endogeno sintetizirana lipojska kislina je kovalentno vezana na specifične

beljakovine, ki delujejo kot kofaktorji za več pomembnih procesov (Higdon, 2002). V živalskih tkivih in zelenjavi najdemo le manjše količine lipojske kisline v obliki lipoyllysin-a. Bogat rastlinski vir lipojske kisline je špinača, sledita ji brokoli in paradižnik. V živalskih tkivih so z virom lipojske kisline bogati predvsem ledvice, srce in jetra (Moini in sod., 2002).

2.3.3 Vloga lipojske kisline

Lipojska kislina je kot koencim vključena v reakcije prenosa acetilnih skupin, povezanih z oksidoredukcijskimi reakcijami (Boyer, 2005). Vezana je na specifične beljakovine v multi-encimskem kompleksu (Higdon, 2002). Kot del tega kompleksa, ki se nahaja v mitohondriju, je lipojska kislina bistvenega pomena za presnovo ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin ter preoblikovanje njihove energije v ATP (Douglas Laboratories, 2012). V kompleksu sodelujejo trije encimi, ki imajo na beljakovinah vezano lipojsko kislino in vsak ima svojo specifično vlogo. Encim piruvat-dehidrogenaza katalizira pretvorbo piruata v acetil-koencim A (CoA), ki je pomemben substrat za proizvodnjo energije v ciklu citronske kisline. Drugi encim je α -ketoglutarat dehidrogenaza, ki skrbi za pretvorbo α -ketoglutarata v sukcinil-CoA, ki je pomemben vmesni člen v citronskem ciklu. Aktivnost encima BCKADH ima za posledico katabolizem razvejanih aminokislin: levцина, izolevcina in valina (Higdon, 2002).

Lipojska kislina je eden od najbolj vsestransko uporabnih antioksidantov. Poleg svoje lastnosti, da je topna tako v vodi kot v lipidih, je sposobna tudi nevtralizirati različne proste radikale (Wolfson, 2000). Nekatere od teh prostih radikalov (superoksidni anion ali peroksil, hidroksil, hidroperoksil in peroksinitril) imenujemo reaktivne kisikove zvrsti (ROS). Le ti so vključeni v proces peroksidacije lipidov, v katerem se nenasičene maščobne kisline membran kemijsko modificirajo. Lipojska kislina med drugim lahko obnavlja aktivni obliki vitamina C in E v procesu, ki ga imenujemo oksidoredukcijsko kroženje (Boyer, 2005).

Raziskave so pokazale, da lipojska kislina, tako kot drugi antioksidanti, tvori netopne komplekse s toksičnimi kovinami, kot so arzen, kadmij, svinec, živo srebro (Wolfson, 2000), baker in železo (Boyer, 2005). To pomeni, da z vezavo na teh snoveh spodbuja

izločanje toksičnih kovin in preprečuje poškodbe tkiva (Wolfson, 2000). Študija na podganah, ki so jo izvedli na univerzi v Madrasu (Indija), kaže na zmanjšane poškodbe jeter in manjšo splošno zastrupitev s kadmijem pri živalih, ki so jih predhodno injicirali z lipojsko kislino (Sumathi in sod., 1996).

Ker je lipojska kislina odličen antioksidant, je idealna kandidatka za uporabo v terapevtske namene. Številne študije so pokazale, da se lahko uporablja pri zdravljenju ateroskleroze, sive mrežnice, diabetesa, HIV-a, pri zastrupitvah s težkimi kovinami in pri lajšanju nevropatije. Človeške celice naj bi sintetizirale dovolj lipojske kisline za potrebe presnove. Nekateri strokovnjaki pa vseeno priporočajo povečano zauživanje te spojine, če hočemo, da deluje kot antioksidant in kelator kovinskih ionov. Laster Packer, eden najvidnejših strokovnjakov za antioksidante, priporoča redno dnevno dopolnilo s 100 mg lipojske kisline. Ljudje, ki imajo določene zdravstvene težave, bi lahko svoj dnevni odmerek lipojske kisline povečali na 400 do 600 mg (Wolfson, 2000).

2.4 VPLIV DODANE LIPOJSKE KISLINE V KRMO PIŠČANCEV NA RAZLIČNE LASTNOSTI

Na Japonskem so proučevali učinek dodatka lipojske kisline na plazemske lipide, *in vivo* občutljivost na insulin, presnovni odziv na kortikosteroide in *in vitro* lipolizo pri pitovnih piščancih. Poskus je bil razdeljen na dva dela. V prvem delu poskusa so proučevali vpliv dodatka lipojske kisline na plazemske lipide in občutljivost piščancev na insulin. Piščanci so bili krmljeni z dodatkom kortikosterona ali brez njega. Od drugega do petega tedna starosti je bilo 64 pitovnih piščancev razdeljenih v štiri skupine. Prva skupina je bila kontrolna, druga skupina je bila krmljena z dodatkom lipojske kisline (200 mg/kg), tretja s kortikosteronom (5 mg/kg), v četrti skupini sta bila v krmo zamešana oba dodatka. Ugotovili so, da dodatek lipojske kisline nima nobenega vpliva na s kortikosteronom umetno izzvane slabše proizvodne lastnosti piščancev. Dodatek lipojske kisline zviša raven glukoze v perifernih tkivih piščancev. V drugem delu poskusa je bilo 32 štirinajst dni starih piščancev razdeljenih v dve skupini. Prva je dobivala samo osnovno krmo, druga skupina je imela v krmo dodanih še 400 mg lipojske kisline/kg. Pri starosti 50 dni so naključno odbrali polovico piščancev, jim odvzeli po 1 ml krvi, nato so živali zaklali, jim odvzeli jetra ter jih shranili v tekočem dušiku do analize. Drugo polovico piščancev so pri starosti

53 do 57 dni zaklali in jim odvzeli trebušno maščobo za *in vitro* poskus. Lipojska kislina je pospešila *in vitro* lipolizo v maščobnih tkivih in v nasprotju s tem zvišala raven triacilglicerola (estri glicerola in maščobnih kislin), kar pa nima nobene medsebojne povezave s kortikosteronom ali noradrenalinom. Raziskava torej kaže, da lipojska kislina poveča občutljivost na insulin pri piščancih in da se presnova maščobnih kislin razlikuje v jetrih in maščobnem tkivu (Hamano, 2006).

2.5 MATERE PITOJNIH PIŠČANCEV PROVENIENCE ROSS

Za piščance provenience ross je značilna hitra rast, dober izkoristek krme, odlična preživetvena sposobnost in dober klavni izplen. Selekcija teži k temu, da so vitalni in imajo močne noge ter vzdržljiv kardiovaskularni sistem (Broiler Management..., 2014).

Za starše pitovnih piščancev provenience ross odbirajo živali, ki dajo največ živahnih dan starih piščancev, ki jih odlikuje dobra plodnost, valilnost in velika količina znesenih jajc. To dosežejo s križanjem hitro rastočih petelinov, ki učinkovito izkoriščajo krmo in imajo velik delež mesa, in kokoši, ki poleg prej naštetih lastnosti znesejo veliko število jajc (Parent Stock Management..., 2013). Matere pitovnih piščancev provenience ross (Slika 6) v 40 tednih znesejo povprečno 182 jajc, njihova valilnost je 84,8 %. Pri starosti 64 tednov tehtajo od 4,08 do 4,18 kilograma. Pogin v času nesnosti je 8 %, v 40 tedenski reji pa kokoš poje 37 kilogramov krme (preglednica 4).

Preglednica 4: Povprečni proizvodni parametri 40 tedenske reje mater pitovnih piščancev provenience ross
(Parent Stock Performance..., 2011: 04)

Število kokoši, uhlevljenih pri starosti 175 dni	148
Starost ob zakolu (dni)	448
Povprečno število znesenih jajc / kokoš	182
Povprečno število izvaljenih piščancev / kokoš	175
Valilnost (%)	84,8
Telesna masa pri starosti 175 dni (g)	2975
Telesna masa ob zakolu (g)	4080-4180
Pogin v času nesnosti (%)	8
Poraba krme (kg)	37,00



Slika 6: Matere pitovnih piščancev provenience ross (Parent stock Management..., 2013)

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

Zamrznjene vzorce prsne in bedrne mišičnine, jeter in src za določitev vsebnosti CoQ₁₀ v njih smo pridobili iz poskusa, ki ga je izvedla Kotnik (2012). V poskus, ki je potekal v hlevu za prehranske poskuse na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete, je bilo vključenih 48 mater pitovnih piščancev provenience ross (težki tip kokoši) in 48 kokoši lahkega tipa lohman brown. Osredotočili smo se na vzorce težkega tipa kokoši. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši na vsebnost koencima Q₁₀ v tkivih kokoši nesnic je proučila Veršnjak (2015).

Matere pitovnih piščancev so pri starosti 36 tednov naselili v individualne kletke trinadstropne baterije. Pred tem so bile v talni reji. Sledilo je 14 dnevno privajanje na novo okolje, nato so jih pri 38. tednu starosti vključili v poskus, v katerem so bile do 50. tedna starosti. Razdeljene so bile v štiri skupine: kontrolna skupina (K); skupina, ki je dobila dodatek CoQ₁₀ v krmo (Q); skupina, ki je dobila dodatek lipojske kisline v krmo (L) ter skupina, ki je dobila oba dodatka (QL). V vsaki skupini je bilo v začetku poskusa 12 živali. Oznake na kletkah in živalih so bile sestavljene iz dveh črk in zaporedne številke. Prva črka je označevala provenienco ross (R), druga pa skupino (K, Q, L ali QL).

Kokoši so imele neomejen dostop do vode. Matere pitovnih piščancev so bile krmljene restriktivno, v skladu z normativi za to starost in provenienco. Osnovna krmna mešanica je bila NS-val. Dodatke CoQ₁₀ in lipojsko kislino so v krmo vmešali sami. Skupini Q so v krmo vmešali 2 g Amil Q/kg krme; skupini L so vmešali 0,4 g ALK/kg krme; skupini QL pa so v krmo vmešali 2 g Amil Q/kg krme + 0,4 g ALK/kg krme. Poskus so izvajali od novembra 2009 do februarja 2010.

Pri starosti 50 tednov so kokoši zaklali v Šolski klavnici in razsekovalnici Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete. Kokoši so posamezno obešali na lire tako, da so obesili po eno kokoš iz vsake skupine. Začeli so s skupino K, sledile pa so skupine Q, L in QL. V enakem zaporedju so si sledile vse živali iz posameznih skupin. Vsako kokoš so najprej omamili z električnim tokom, nato pa so jim prerezali vratno žilo. Izkrvavljenim klavnim trupom so odvzeli vso abdominalno maščobo, srca, jetra ter vzorce prsne in bedrne

mišičnine. Vse vzorce so ustrezno označili, vakuumsko zapakirali in zamrznili pri temperaturi -20 °C do nadaljnjih analiz (Kotnik, 2012).

3.2 METODE DELA

Za ugotavljanje vsebnosti koencima Q₁₀ v tkivih kokoši smo morali najprej ekstrahirati maščobo iz tkiv. To smo naredili tako, da smo predhodno pripravljena, označena in zamrznjena tkiva kokoši odmrznili in na grobo sesekljali. Nato smo v čašo zatehtali $30 \pm 0,1$ g sesekljanih kokošjih tkiv in jim dodali destilirano vodo v razmerju 1:1. To smo homogenizirali z ultraturaxom (Ultra-Turax T25 in nastavek S25N-18G; IKA, Nemčija) do homogene paste. V 50 ml centrifugirke smo odtehtali $3 \pm 0,1$ g homogenata in dodali 15 ml destilirane vode, ki smo jo predhodno segreli na 40 °C. Iz vsakega vzorca smo pripravili dve paralelki. Vse skupaj smo ročno stresali 5 minut in nato postavili za 15 minut na ultrazvočno kopel. Potem smo s polnilno pipeto dodali 20 ml mešanice kloroforma in metanola (2:1, v/v) ter ponovno ročno stresali 5 minut in dali na ultrazvočno kopel za 15 minut. Sledilo je šest minutno centrifugiranje pri $1750 \times g$, ki je ločilo organsko fazo od vodne. Odpipetirali smo 10 ml spodnje (organske) faze in jo prenesli v bučko z okroglim dnom. Ponovili smo ekstrakcijo z 20 ml mešanice kloroforma in metanola (2:1, v/v). Po končani ekstrakciji smo kloroform odparili z vakumskim rotovaporjem (Büchi, Rotvapor R-114 z Vac® V-500, Švica) in ostanke v bučki raztopili z 2 ml heksana ter dobro premešali na stresalniku. To smo shranili v temne stekleničke, topilo pa smo odparili z dušikom in dobljene vzorce zamrznili pri -30 °C. Te vzorce smo kasneje raztopili v 5 ml 2-propanola in analizirali s HPLC-MS metodo.

Meritve koncentracije CoQ₁₀ v tkivih smo opravili na Kemijskem inštitutu v Ljubljani. Meritve smo opravili na petih vzorcih prsne in bedrne mišičnine iz vsake skupine. Pri jetrih smo meritve opravili na štirih vzorcih iz vsake skupine. Meritve na vzorcih srca smo, zaradi nezadostne količine materiala, izvedli le na enem vzorcu iz vsake skupine. Vse meritve pa smo izvedli v paralelkah.

3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Podatke smo obdelali s pomočjo statističnega paketa SAS/STAT (2004). Osnovne statistične parametre smo izračunali s pomočjo procedure MEANS. Statistično analizo smo

naredili po metodi najmanjših kvadratov s proceduro GLM. Statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med vplivi smo ovrednotili s pomočjo Tukey-Kramerjevega testa. Statistično ne/značilnost med vplivi smo izrazili z nadpisi (superskripti), ki smo jih določili s pomočjo programa Identifying similar groups (Dallal, 2001).

Pri statistični analizi podatkov za vsebnost CoQ₁₀ v tkivih kokoši težkega tipa (mater pitovnih piščancev provenience ross) smo predpostavili normalno porazdelitev in uporabili model:

$$y_{ijk} \sim Normal(\mu_{ij}, \sigma_e^2) = \mu_{ijk} + P_i + S_j + PS_{ij} + e_{ijk}$$

y_{ijk} - vsebnost CoQ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini, srcih ter jetrih mater pitovnih piščancev

μ - srednja vrednost populacije

P_i - vpliv proizvodnega tipa živali (i = težki tip kokoši - matere pitovnih piščancev provenience ross, lahki tip kokoši - kokoši nesnice lohmann brown)

S_j - vpliv skupine (j = K, Q, L, QL)

PS_{ij} - vpliv medsebojne interakcije med proizvodnim tipom živali in skupino

e_{ijk} - ostanek

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI

V preglednici 5 imamo prikazane osnovne statistične parametre za koncentracijo CoQ₁₀ v tkivih mater pitovnih piščancev. Pri določanju vsebnosti CoQ₁₀ smo imeli pri prsni in bedrni mišičnini po pet vzorcev za vsako skupino. Pri vzorcih jeter in src pa smo morali zaradi majhnosti vzorcev le-te združevati. Tako smo za določanje CoQ₁₀ uporabili štiri vzorce pri jetrih in samo po en vzorec pri srcih za vsako skupino. V prsni mišičnini je bilo največ CoQ₁₀ (14,00 mg/kg) pri kokoših, ki so dobivale v krmo dodano lipojsko kislino. Najmanjša vsebnost CoQ₁₀ (11,96 mg/kg) v prsni mišičnini je bila v skupini, ki je dobivala v krmo dodan CoQ₁₀. V bedrni mišičnini je bila največja vsebnost CoQ₁₀ (19,16 mg/kg) prav tako v skupini kokoši, ki je dobivala v krmo dodano lipojsko kislino. Najmanj CoQ₁₀ (16,15 mg/kg) je vsebovala bedrna mišičnina kokoši, ki so dobivale v krmo dodana oba dodatka. Največjo vsebnost CoQ₁₀ (66,26 mg/kg) v jetrih je imela skupina kokoši, ki je dobivala krmo obogateno z obema dodatkom, najmanjša vsebnost CoQ₁₀ (48,43 mg/kg) v jetrih pa je bila izmerjena pri kokoših, ki so dobivale krmo obogateno s CoQ₁₀. Največja vsebnost CoQ₁₀ (55,22 mg/kg) v srcih je bila izmerjena pri kokoših, ki so dobivale krmo obogateno z obema dodatkom, najmanjša vsebnost CoQ₁₀ (38,95 mg/kg) v srcih pa je bila pri kokoših, ki so dobivale krmo obogateno z lipojsko kislino.

Preglednica 5: Osnovni statistični parametri za vsebnost CoQ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih mater pitovnih piščancev provenience ross

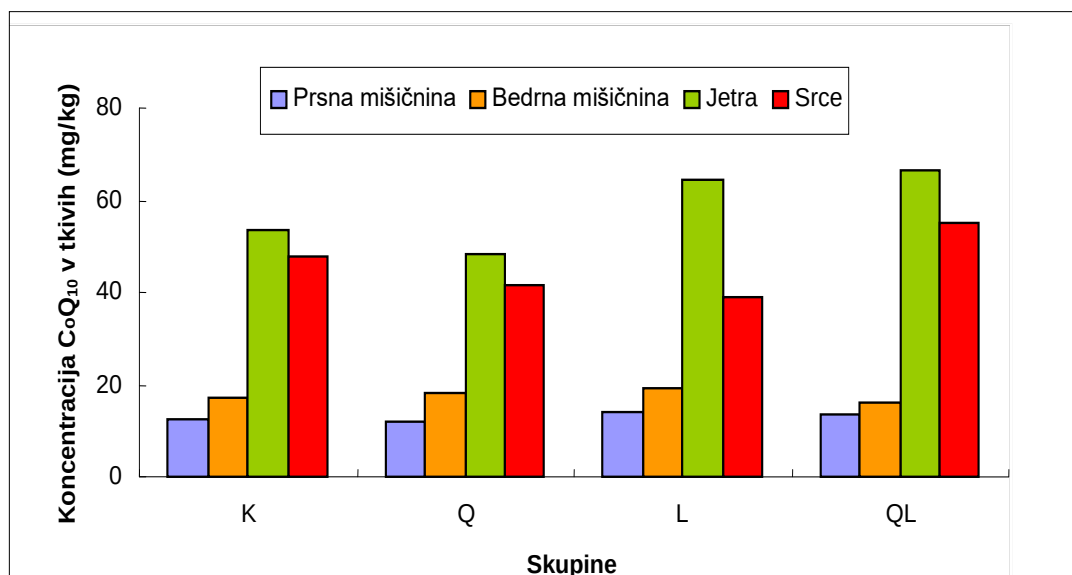
Tkivo Skupina		Prsna mišičnina	Bedrna mišičnina	Jetra	Srce*
K	N	5	5	4	1
	Povprečno	12,47	17,22	53,64	47,83
	SD	2,07	1,31	3,23	/
	Najmanj	9,56	15,31	49,19	/
	Največ	15,34	18,73	58,13	/
Q	N	5	5	4	1
	Povprečno	11,96	18,12	48,43	41,47
	SD	2,03	4,36	4,50	/
	Najmanj	8,74	12,27	40,47	/
	Največ	14,80	24,50	54,23	/
L	N	5	5	4	1
	Povprečno	14,00	19,16	64,65	38,95
	SD	2,60	4,29	9,76	/
	Najmanj	11,13	15,47	52,67	/
	Največ	18,59	28,97	79,83	/
QL	N	5	5	4	1
	Povprečno	13,36	16,15	66,26	55,22
	SD.	1,22	1,66	16,94	/
	Najmanj	11,09	12,99	30,40	/
	Največ	15,35	17,57	79,05	/

K – kontrola, L – lipojska kislina, Q – koencim Q₁₀, QL – koencim Q₁₀ in lipojska kislina, N – skupno število opazovanj, SD – standardni odklon, * meritve so bile opravljene le na enem združenem vzorcu po skupini

Koncentracija CoQ₁₀ je bistveno višja v jetrih in srcih kokoši kot pa v prsni in bedrni mišičnini (slika 7). Med vsemi proučevanimi tkivi kokoši iz kontrolne skupine je najvišja koncentracija CoQ₁₀ v jetrih in sicer 53,64 mg/kg, podobno koncentracijo CoQ₁₀ najdemo tudi v človeških jetrih (57,9 µg/g) (Ernster in Dallner, 1995). Tudi raziskava Halilović (2008) kaže, da v kontrolni skupini od vseh tkiv največ CoQ₁₀ vsebujejo jetra pitovnih piščancev in sicer 168,95 mg CoQ₁₀/kg, kar je precej več v primerjavi z našimi rezultati. Zanimivo, da v literaturi večina avtorjev navaja, da je najvišja koncentracija CoQ₁₀ v srcu. Tako Mattila in Kumpulainen (2001) navajata, da naj bi prašičje srce vsebovalo 126,8 µg CoQ₁₀/g, medtem ko sta Ernster in Dallner (1995) ugotovila, da človeško srce vsebuje 114,0 µg CoQ₁₀/g. Naši rezultati so pokazali, da je koncentracija CoQ₁₀ v srcih mater pitovnih piščancev kontrolne skupine 47,83 mg/kg, kar je manj kot v njihovih jetrih. Ponovno lahko rečemo, da je očitna razlika med koncentracijo CoQ₁₀ v srcih mater pitovnih piščancev in pitovnimi piščanci, saj srca slednjih v kontrolni skupini vsebujejo kar 136,72 mg CoQ₁₀/kg (Halilović, 2008). Za tako velike razlike med navedbami v literaturi in našimi rezultati je lahko krivo manjše število vzorcev kokošjih src, ki smo jih imeli na voljo za analize, zato naši rezultati niso popolnoma zanesljivi.

Koncentracija CoQ₁₀ je v prsni mišičnini mater pitovnih piščancev kontrolne skupine 12,47 mg/kg, medtem ko je bila izmerjena vsebnost CoQ₁₀ v kontrolni skupini v prsih pitovnih piščancev le 8,89 µg/g (Penko, 2008). V bedrni mišičnini mater pitovnih piščancev kontrolne skupine je povprečna koncentracija CoQ₁₀ 17,22 mg/kg, medtem ko Penko (2008) navaja, da je v bedrih pitovnih piščancev kontrolne skupine 21,89 µg CoQ₁₀/g. Mattila in Kumpulainen (2001) navajata, da je povprečna koncentracija CoQ₁₀ v piščančjih tkivih 14 µg/g, kar je primerljivo z našimi rezultati.

V vseh skupinah je najvišja koncentracija CoQ₁₀ v vzorcih jeter, sledijo vzorci src, nato vzorci bedrne mišičnine, najnižjo koncentracijo CoQ₁₀ pa smo v vseh skupinah zabeležili v vzorcih prsne mišičnine (slika 7).



Slika 7: Koncentracija CoQ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih mater pitovnih piščancev

Zaradi majhnega števila vzorcev src mater pitovnih piščancev in s tem posledično nezanesljivih rezultatov nadaljnjih statističnih analiz za vsebnost CoQ₁₀ v srcih nismo opravljali.

4.2 VPLIV DODANEGA CoQ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO MATER PITOVNIH PIŠČANCEV NA VSEBNOST CoQ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI

Preglednica 6 prikazuje razlike med skupinami v vsebnosti CoQ₁₀ v tkivih mater pitovnih piščancev. Statistično ne/značilnost razlik med skupinami v vsebnosti CoQ₁₀ v posameznih tkivih smo izrazili z nadpisi, ki smo jih določili s pomočjo programa Identifying similar groups (Dallal, 2001).

Značilnih razlik v vsebnosti CoQ₁₀ v prsni mišičnini med poskusnimi skupinami in kontrolno skupino ni. Opazno je le neznačilno ($p > 0,05$) povečanje CoQ₁₀ v prsni mišičnini v skupinah L in QL glede na kontrolno skupino. V bedrni mišičnini v vsebnosti CoQ₁₀ med skupinami ni značilnih razlik ($p > 0,05$). V vseh skupinah so vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni mišičnini večje kot v prsni mišičnini. Razlog za to je lahko dejstvo, da bedrna mišičnina že naravno vsebuje več CoQ₁₀ kot prsna mišičnina (to dokazujejo podatki iz kontrolnih skupin). Bedrna mišičnina vsebuje več CoQ₁₀, ker je presnovno bolj aktivna in je za njeno delovanje potrebno več ATP, s tem pa seveda tudi več CoQ₁₀, ki igra pomembno vlogo pri nastajanju ATP v mitohondrijih (Sečko, 2009). Penko (2008) navaja, da dlje kot krmimo piščance z dodatkom CoQ₁₀, več se ga naloži v mišičnino. Predvsem se je s časom krmljenja spremenila koncentracija CoQ₁₀ v prsni mišičnini in to za približno 43 % v primerjavi s kontrolno skupino (Penko, 2008).

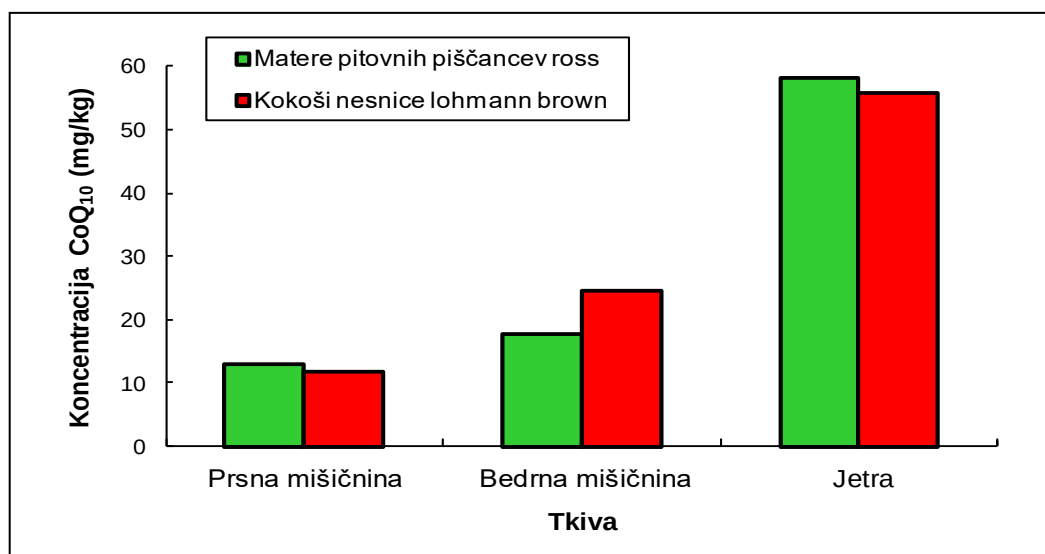
V jetrih mater pitovnih piščancev se vsebnosti CoQ₁₀ v vseh poskusnih skupinah v primerjavi s kontrolno skupino neznačilno ($p > 0,05$) razlikujejo. Tudi Halilović (2008) je ugotovila, da dodatek CoQ₁₀ v krmo piščancev ne vpliva na njegovo vsebnost v jetrih. Značilne so le razlike znotraj poskusnih skupin in sicer je v skupini Q vsebnost CoQ₁₀ značilno ($p < 0,05$) manjša v primerjavi s skupinama L in QL. V vseh skupinah je vsebnost CoQ₁₀ v jetrih občutno večja, kot v prsni in bedrni mišičnini. Največjo vrednost CoQ₁₀ (66,3 mg/kg) smo izmerili v jetrih mater pitovnih piščancev, ki so dobivale v krmo dodan CoQ₁₀ in lipojsko kislino. Tudi Jazbec Križman (2011) je v svojih raziskavah ugotovila, da jetra pitovnih piščancev vsebujejo največ CoQ₁₀. Predvsem zato, ker naj bi vneseno koncentracijo CoQ₁₀ jetra uravnavale z endogeno sintezo CoQ₁₀, prav tako pa v jetrih piščancev poteka glavna biosinteza lipidov (Leveille in sod., 1975; cit. po Križman, 2011).

Preglednica 6: Razlike med skupinami v vsebnosti CoQ₁₀ (mg/kg) v tkivih mater pitovnih piščancev

Skupina	K	L	Q	QL
Tkivo				
Prsna mišičnina	12,5±0,7 (11,2;13,7) ^a	14,0±0,6 (12,8;15,2) ^a	12,0±0,6 (10,8;13,2) ^a	13,4± 0,6 (12,2;14,6) ^a
Bedrna mišičnina	17,2±0,9 (15,5;18,9) ^a	19,2±0,9 (17,5;20,8) ^a	18,1±0,9 (16,4;19,9) ^a	16,2±0,9 (14,5;17,8) ^a
Jetra	53,6±3,5 (46,8;60,4) ^{ab}	64,6±3,5 (57,8;71,5) ^b	48,4±3,5 (41,6;55,2) ^a	66,3±3,5 (59,5;73,1) ^b

¹ - vrednosti z različnimi črkovnimi oznakami (a,b) se značilno razlikujejo med skupinami ($p < 0,05$); prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vrednost, druga vrednost v celici ocenjuje standardno napako; tretja vrednost pa 95% interval zaupanja

4.3 RAZLIKE MED MATERAMI PITOVIH PIŠČANCEV IN KOKOŠMI NESNICAMI V VPLIVU DODANEGA CoQ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST CoQ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI



Slika 8: Koncentracija CoQ₁₀ (mg/kg) v tkivih mater pitovnih piščancev ross in kokoši nesnic lohmann brown

Matere pitovnih piščancev in kokoši nesnice se med seboj značilno razlikujejo v koncentraciji CoQ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini. V prsni mišičnini mater pitovnih piščancev je značilno ($p < 0,05$) višja koncentracija CoQ₁₀ (12,9 mg/kg) v primerjavi s koncentracijo CoQ₁₀ v prsni mišičnini kokoši nesnic (11,8 mg/kg). Bedrna mišičnina mater pitovnih piščancev vsebuje 17,7 mg/kg CoQ₁₀, kar je značilno ($p < 0,05$) nižja koncentracija kot pri kokoših nesnicah, kjer znaša 24,6 mg/kg (preglednica 7, slika 8). Značilnih razlik med proizvodnima tipoma v koncentraciji CoQ₁₀ v jetrih ni (preglednica 8, slika 8).

V preglednici 7 so prikazane razlike v vsebnosti CoQ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini med proizvodnima tipoma (materami pitovnih piščancev provenience ross in kokošmi nesnicami lohmann brown). V povprečju med proizvodnima tipoma obstajajo značilne razlike v vsebnosti CoQ₁₀, tako v prsni kot v bedrni mišičnini. V prsni mišičnini je v vseh skupinah mater pitovnih piščancev vsebnost CoQ₁₀ neznačilno ($p > 0,05$) večja kot v prsni mišičnini kokoši nesnic, z izjemo v skupini Q, kjer je vrednost enaka. V kontrolni in v poskusnih skupinah L in Q je v bedrni mišičnini mater pitovnih piščancev značilno ($p < 0,05$) manj CoQ₁₀ kot pri kokoših nesnicah. Največja razlika v vsebnosti CoQ₁₀ med proizvodnima tipoma je v bedrni mišičnini in sicer v skupini, ki je dobivala krmi primešano lipojsko kislino (L) ter znaša $9,2 \pm 0,9$ mg/kg. Tudi Jazbec Križman (2011) navaja povečane vrednosti CoQ₁₀ v plazmi pri piščancih, ki so dobivali krmo, obogateno z lipojsko kislino. Povečane vrednosti CoQ₁₀ pripisuje regeneracijskim učinkom lipojske kisline na CoQ₁₀.

Preglednica 7: Razlike v vsebnosti CoQ₁₀ (mg/kg) v prsni in bedrni mišičnini med skupinami in proizvodnima tipoma kokoši

Proizvodni tip Tkivo	Matere pitovnih piščancev		Kokoši nesnice (Veršnjak, 2015)
Prsna mišičnina	K	$12,5 \pm 0,7$ (11,2; 13,7) ^a	$10,6 \pm 0,6$ (9,3; 11,8) ^a
	L	$14,0 \pm 0,6$ (12,8; 15,2) ^a	$12,7 \pm 0,6$ (11,5; 13,9) ^a
	Q	$12,0 \pm 0,6$ (10,8; 13,2) ^a	$12,0 \pm 0,6$ (10,8; 13,2) ^a
	QL	$13,4 \pm 0,6$ (12,2; 14,6) ^a	$12,1 \pm 0,6$ (10,9; 13,3) ^a
	Povprečje	$12,9 \pm 0,3$ (12,3; 13,6)^A	$11,8 \pm 0,3$ (11,2; 12,5)^B
Bedrna mišičnina	K	$17,2 \pm 0,9$ (15,5; 18,9) ^a	$23,5 \pm 0,9$ (21,7; 25,3) ^b
	L	$19,2 \pm 0,9$ (17,5; 20,8) ^a	$28,4 \pm 0,9$ (26,7; 30,1) ^b
	Q	$18,1 \pm 0,9$ (16,4; 19,9) ^a	$26,6 \pm 0,9$ (25,0; 28,3) ^b
	QL	$16,2 \pm 0,9$ (14,5; 17,8) ^a	$19,2 \pm 0,9$ (18,2; 21,7) ^a
	Povprečje	$17,7 \pm 0,4$ (16,8; 18,5)^A	$24,6 \pm 0,4$ (23,8; 25,5)^B

Povprečni vrednosti z različnima črkovnima oznakama (A, B) se značilno razlikujeta med proizvodnima tipoma ($p < 0,05$). Vrednosti z različnima črkovnima oznakama (a,b,c) se značilno razlikujeta med istovrstnima skupinama, ki pripadata dvema proizvodnima tipoma ($p < 0,05$); prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vrednost, druga vrednost v celici ocenjuje standardno napako; tretja vrednost v oklepaju pa 95% interval zaupanja.

V povprečju v vsebnosti CoQ₁₀ v jetrih ni značilnih razlik med proizvodnima tipoma kokoši (preglednica 8). V jetrih mater pitovnih piščancev je sicer vsebnost CoQ₁₀ v skupini QL značilno večja kot vsebnost CoQ₁₀ v jetrih kokoši nesnic v skupini QL.

Preglednica 8: Razlike v vsebnosti CoQ₁₀ (mg/kg) v jetrih in srcih med skupinami in proizvodnima tipoma kokoši

Proizvodni tip	Matere pitovnih piščancev		Kokoši nesnice (Veršnjak, 2015)
Tkivo			
Jetra	K	53,6 ± 3,5 (46,8; 60,4) ^a	55,8 ± 3,7 (48,5; 63,0) ^a
	L	64,6 ± 3,5 (57,8; 71,5) ^a	58,3 ± 3,5 (51,5; 65,1) ^a
	Q	48,4 ± 3,5 (41,6; 55,2) ^a	59,2 ± 3,5 (52,4; 66,0) ^a
	QL	66,3 ± 3,5 (59,5; 73,1) ^a	50,0 ± 3,7 (42,7; 57,2) ^b
	Povprečje	58,3 ± 2,0 (54,4; 62,1) ^A	55,8 ± 2,0 (51,8; 59,8) ^A

Povprečni vrednosti z različnima črkovnima oznakama (A, B) se značilno razlikujeta med proizvodnima tipoma ($p < 0,05$). Vrednosti z različnima črkovnima oznakama (a,b,c) se značilno razlikujeta med istovrstnima skupinama, ki pripadata dvema proizvodnima tipoma ($p < 0,05$); prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vrednost, druga vrednost v celici ocenjuje standardno napako; tretja vrednost v oklepaju pa 95% interval zaupanja.

Interakcija nam pove, kolikšno je skupno odvisno delovanje dveh ali več proučevanih dejavnikov na izid poskusa. V diplomskem delu smo izračunali interakcijo med proizvodnim tipom kokoši in poskusno skupino. Za statistično značilno ($p < 0,05$) se je izkazala interakcija med proizvodnim tipom kokoši in skupino v vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih. To pomeni, da je vpliv enega dejavnika (proizvodni tip kokoši, skupina) na vsebnost CoQ₁₀ v tkivih drugačen pri različnih ravneh drugega.

5 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Pri materah pitovnih piščancev provenience ross je največja vsebnost CoQ₁₀ v jetrih (53,64 mg/kg), sledijo jim srca (47,83 mg/kg), nato bedrna mišičnina (17,22 mg/kg), najmanj CoQ₁₀ pa vsebuje prsna mišičnina (12,47 mg/kg).
- Krma, obogatena s CoQ₁₀, ni značilno vplivala na vsebnost CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih mater pitovnih piščancev.
- Dodatek lipojske kisline v krmo mater pitovnih piščancev je neznačilno ($p > 0,05$) vplival na povečanje vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih.
- Hkratni dodatek CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo ni značilno vplival na vsebnost CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih mater pitovnih piščancev.
- Prsna mišičnina mater pitovnih piščancev vsebuje značilno ($p < 0,05$) več CoQ₁₀ kot prsna mišičnina kokoši nesnic, vendar je vsebnost CoQ₁₀ v bedrni mišičnini mater pitovnih piščancev značilno ($p < 0,05$) manjša kot pri kokoših nesnicah. V vsebnosti CoQ₁₀ v jetrih ni značilnih razlik med proizvodnima tipoma kokoši. Prav tako je značilna ($p < 0,05$) tudi interakcija med proizvodnim tipom kokoši in skupino v vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih.

6 POVZETEK

CoQ₁₀ je hidrofobna molekula, ki ima pomembno vlogo pri oksidativni fosforilaciji, saj sodeluje pri prenosu elektronov v dihalni verigi in s tem pri nastajanju ATP. V svoji reducirani obliki je znan kot močan antioksidant. Zaradi njegove pomembnosti v telesu se uporablja kot prehranski dodatek in zdravilo, predvsem za bolezni povezane s staranjem. Lipojska kislina je univerzalni antioksidant, saj je topna v vodi in maščobah. Pomembno vlogo ima tudi pri nastajanju ATP, vezavi kovinskih ionov v kelate in regeneraciji drugih antioksidantov.

V okviru večjega poskusa smo želeli proučiti tudi vpliv dodanega CoQ₁₀ in alfa lipojske kisline v krmo kokoši težkega tipa (mater pitovnih piščancev ross) na vsebnost CoQ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini ter jetrih in srcu. Predpostavili smo, da bo dodatek CoQ₁₀ in alfa lipojske kisline v krmo vplival na povečanje CoQ₁₀ v tkivih.

V poskus, ki je trajal dvanajst tednov, je bilo vključenih 48 mater pitovnih piščancev provenience ross starih 38 tednov. Razdeljene so bile v štiri skupine: kontrolna skupina (K), ki je bila krmljena z osnovno krmno mešanico NS-val; skupina, ki je dobila s CoQ₁₀ obogateno krmo (Q); skupina, ki je dobila krmo z dodatkom lipojske kisline (L) ter skupina, ki je dobila v krmo dodana oba dodatka (QL). Skupina Q je imela v krmo vmešano 2 g Amil Q/kg krme; skupina L 0,4 g ALK/kg krme; skupina QL pa je imela v krmo vmešanih 2 g Amil Q/kg krme + 0,4 g ALK/kg krme. Pri starosti 50 tednov so kokoši zaklali in vzorce prsne in bedrne mišičnine, jeter in srca vakuumsko zapakirali, ustrezno označili in shranili v zamrzovalniku pri -20 °C do izvedbe analiz.

Za ugotavljanje vsebnosti CoQ₁₀ v tkivih mater pitovnih piščancev smo morali najprej v čašo natehtati sesekljana in odmrznjena kokošja tkiva, jim dodati destilirano vodo ter homogenizirati. Natehtali smo ustrezno količino homogenata ter mu dodali destilirano vodo. Iz vsakega vzorca smo pripravili dve paralelki. Vse skupaj smo ročno stresali in nato postavili na ultrazvočno kopel. Dodali smo mešanico kloroforma in metanola ter ponovno ročno stresali in dali na ultrazvočno kopel. Sledilo je centrifugiranje, ki je ločilo organsko fazo od vodne. Odpipetirali smo organsko fazo in ponovili ekstrakcijo z mešanico kloroforma in metanola. Nato smo kloroform odparili in ostanke raztopili s heksanom. To

smo shranili v temne stekleničke, topilo pa odparili z dušikom in dobljene vzorce shranili pri -30 °C. Kasneje so v laboratoriju za prehrabno kemijo Kemijskega inštituta v Ljubljani izmerili vsebnost CoQ₁₀ v tkivih mater pitovnih piščancev s HPLC-MS metodo.

V poskusu smo ugotovili, da dodatek CoQ₁₀ v krmo mater pitovnih piščancev ni značilno vplival na vsebnost CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih. V krmo dodana lipojska kislina je prav tako neznailno vplivala na povečanje vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih. Krma, obogatena s CoQ₁₀ in lipojsko kislino, ni značilno vplivala na vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini ter jetrih. Glede na to, da dodatki v krmo v količini in način, ki je bil uporabljen v našem poskusu, niso značilno vplivali na vsebnost CoQ₁₀ v tkivih, lahko rečemo, da dodajanje CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo s tega vidika ni smiselno.

Razlike v vsebnosti CoQ₁₀ med materami pitovnih piščancev in kokošmi nesnicami so v prsni in bedrni mišičnini, medtem ko značilnih razlik v jetrih ni bilo zaznati. V prsni mišičnini mater pitovnih piščancev je vsebnost CoQ₁₀ značilno večja kot pri kokoših nesnicah, medtem ko je vsebnost CoQ₁₀ v bedrni mišičnini mater pitovnih piščancev značilno manjša v primerjavi s kokošmi nesnicami. Statistično značilna je tudi interakcija med proizvodnim tipom kokoši in skupino v vsebnosti CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih.

7 VIRI

- Bentinger M., Brismar K., Dallner G. 2007. The antioxidant role of coenzyme Q. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S41-S51
- Bentinger M., Tekle M., Dallner G. 2010. Coenzyme Q – Biosynthesis and function. Biochemical and Biophysical Research Communications, 396: 74–79
- Bhagavan H. N., Chopra R. K. 2006. Coenzyme Q10: Absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. Free Radical Research, 40, 5: 445–453
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.
- Broiler management handbook. Ross 308. 2014. Aviagen.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-Broiler-Handbook-2014i-EN.pdf (27. 2. 2016)
- Crane F. L. 2001. Biochemical functions of coenzyme Q10. Journal of the American College of Nutrition, 20, 6: 591-598
- Crane F. L. 2007. Discovery of ubiquinone (coenzyme Q) and an overview function. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S2-S7
- Dallal G. E. 2001. Identifying similar groups.
http://www.jerrydallal.com/lhsp/similar_prog.htm (15.7.2016)
- Douglas Laboratories. 2012. Alpha-lipoic acid the universal antioxidant with metabolic functions.
<http://www.douglaslabs.com/media/DLLPA.pdf> (27. 2. 2016)
- Ernster L., Dallner G. 1995. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. Biochimica et Biophysica Acta, 1271: 195-204
- Frankič T., Salobir J. 2007. Antioksidanti v prehrani živali: pomen za živali in posameznike. Kmetijsko gozdarski zavod Murska Sobota.
<http://www.kgzs-ms.si/slike/ZED07/04Frankic.pdf> (3.7.2013)

- Geng A. L., Guo Y. M., Yang Y. 2004. Reduction of ascites mortality in broilers by coenzyme Q10. *Poultry Science*, 83: 1587-1593
- Gopi M., Ragavan P. M., Chandrasekaran D. 2014. Effect of dietary coenzyme Q10 supplementation on the growth rate, carcass characters and cost effectiveness of broiler fed with three energy levels. *Springerplus*, 3: 518, 10.1186/2193-1801-3-518 <http://www.springerplus.com/content/3/1/518> (27.2.2016)
- Halilović J. 2008. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v drobovini. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 57 str.
- Hamano Y. 2006. Effects of dietary lipoic acid on plasma lipid, *in vivo* insulin sensitivity, metabolic response to corticosterone and *in vitro* lipolysis in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 95: 1094-1101
- Higdon J. 2002. Lipoic acid. Linus Pauling Institute. Oregon State University. <http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/lipoic-acid> (27.2.2016)
- Honda K., Kamisoyama H., Motoori T., Saneyasu T., Hasegawa S. 2010. Effect of dietary coenzyme Q10 on cholesterol metabolism in growing chickens. *Japan Poultry Science*, 47: 41-47
- Jazbec Križman P. 2011. Vpliv dodanega CoQ₁₀ na njegovo vsebnost v tkivih piščancev in zmanjšanje oksidacijskega stresa med rejo. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 116 str.
- Karlson P. 1980. Biokemija. 1 natis. Ljubljana. Državna založba Slovenije: 106 str.
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož 26.-27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21

- Kotnik B. 2012. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline na proizvodnje lastnosti in lastnosti jajc pri različnih genotipih kokoši. Magistrsko delo. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 140 str.
- Langsjoen L. H. 1994. Introduction to Coenzyme Q₁₀. Texas, University of Texas Medical Branch at Galveston.
<http://faculty.washington.edu/ely/coenzq10.html> (31.6.2013)
- Lenaz G., Fato R., Formigginia G., Genova M. L. 2007. The role of coenzyme Q in mitochondrial electron transport. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S8-S33
- Littarru G.P., Langsjoen P. 2007. Coenzyme Q₁₀ and statines: Biochemical and clinical application. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S168-S174
- Mattila P., Kumpulainen J. 2001. Coenzymes Q9 and Q10: Contents in foods and dietary intake. Journal of Food Composition and Analysis, 14: 409-417
- Moini H., Packer L., Saris N.-E. L. 2002. Antioxidant and Prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. Toxicology and Applied Pharmacology, 182: 84-90
- Packer L., Witt E. H., Tritschler J. H. 1995. Alpha-lipoic acid as biological antioxidant. Free Radical Biology & Medicine, 19, 2: 227-250
- Parent stock performance objectives. Ross 308. 2011. Aviagen.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_PS/Ross-308-PS-PO-2011.pdf (27. 2. 2016)
- Parent stock management handbook. Ross 308. 2013. Aviagen.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_PS/Ross_PS_Handbook_2013_i-r1.pdf (27. 2. 2016)
- Pavlin R. 2008. Koencim Q₁₀-klinična raba. Zdravstveni vestnik, 77: 159-162
- Penko A. 2008. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v mesu. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 83 str.

- Prevodnik V. 2011. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo kokoši na oplojenost jajc in valilnost. Diplomski naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 57 str.
- Prošek M., Milivojevič M., Križman M., Jazbec P., Žmitek J., Šmidovnik A., Kostanjevec B., Glas R., Vindiš-Zelenko B., Donša B., Milivojevič L., Polak T., Volk M. 2009. Poultry products with increased content of CoQ10 prepared from chickens fed with supplemental CoQ10. V: Mini conference on CoQ10 applications in food, human and veterinary medicine. Ljubljana, 16-18 okt. 2009. Jazbec Križman P., Šmidovnik A., Prošek M. (ur.). Ljubljana, National Institute on Chemistry: 57-85
- Prošek M., Šmidovnik A., Jazbec P. 2008. Vloga koencima Q₁₀ pri pretvorbi energije in obrambi organizma. *Proteus*, 71, 4: 150-157
- Rudan-Tasič D. 2000. Vitamin C, vitamin E in koencim Q10. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož 26.-27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 39-51
- Rus P., Rus R. R. 2008. Koencim Q 10. *Zdravstveno varstvo*, 47, 2: 89-98
- SAS Institute. 2004. SAS User's Guide. Statistics. Version 9.1 Edition. Inc., Cary, NC, SAS Institute.
- Sečko N. 2009. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v mišičnem tkivu prsi in beder. Diplomski naloga. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 54 str.
- Sovič M. 2010. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši na fizikalne lastnosti jajc. Diplomski naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 58 str.
- Sumathi R., Baskaran G., Varalakshmi P. 1996. Relationship between glutathione and dl α -lipoic acid against cadmium-induced hepatotoxicity. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 49: 39-48

- Turunen M., Olsson J., Dallner G. 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1660: 171-199
- Veršnjak N. 2015. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši na vsebnost koencim Q₁₀ v tkivih kokoši nesnic. Diplomaska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 45 str.
- Volk M., Brus M. 2009. Influence of added CoQ₁₀ in feed mixture on the accumulation in the body tissue and on the production results of broilers. V: Mini conference on CoQ₁₀ applications in food, human and veterinary medicine. Ljubljana, 16-18 okt. 2009. Jazbec Križman P., Šmidovnik A., Prošek M. (ur.). Ljubljana, National Institute on Chemistry: 44-56
- Wolfson D. 2000. Alfa lipoic acid: the universal antioxidant. *Nutrition Science News*. http://www.chiro.org/nutrition/FULL/Lipoic_Acid_Universal_Antioxidant.shtml (27.2.2016)
- Žmitek J., Žmitek K. 2009. Koencim Q₁₀ kot prehransko dopolnilo in zdravilo. *Farmaceutski vestnik*, 60: 150-157

ZAHVALA

Na tem mestu bi se posebej rada zahvalila mentorici prof. dr. Antoniji Holcman za vso strokovno pomoč, nasvete, prijaznost in potrpežljivost ter za podroben pregled diplomskega dela.

Zahvaljujem se tudi recenzentu doc. dr. Dušanu Terčiču za vse strokovne napotke, predlagane popravke in skrben pregled diplomskega dela ter predsedniku komisije prof. dr. Andreju Lavrenčiču za hiter pregled dela.

Zahvaljujem se ga. Jerneji Bogataj za hiter oblikovni pregled diplomskega dela. Hvala tudi ga. Sabini Knehtl za vso prijaznost in pomoč tekom celotnega študija.

Hvala tudi vsem na Laboratoriju za prehrambeno kemijo Kemijskega inštituta v Ljubljani za pomoč pri opravljanju analiz.

Posebna zahvala gre moji družini in bližnjim za vso pomoč in podporo med študijem in tudi sedaj pri nastajanju diplomskega dela. Iskreno hvala predvsem mojemu možu, ki je verjel vame, me bodril in mi pomagal pri izdelavi diplomskega dela. Hvala tudi vama, draga otroka, ker sta me bila pripravljena deliti z računalnikom.

Hvala vsem, ki ste kakorkoli prispevali k nastanku diplomskega dela.