

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Neja VERŠNJAK

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

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Neja VERŠNJAK

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

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF DIETARY COENZYME Q₁₀ AND LIPOIC ACID
SUPPLEMENTATION ON COENZYME Q₁₀ CONTENT IN TISSUES
OF LAYING HENS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2015

S tem diplomskim delom končujem univerzitetni študij kmetijstva – zootehniko. Delo je bilo opravljeno na Katedri za znanosti o rejah živali Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in 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:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Neja VERŠNJAK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 636.5.084/.087(043.2)=163.6
- KG perutnina/kokoši/nesnice/prehrana živali/krmni dodatki/koencim Q₁₀/lipojska kislina/prsna mišičnina/bedrna mišičnina/jetra/srce/
- KK AGRIS L02/6100
- AV VERŠNJAK, Neja
- SA HOLCMAN, Antonija (mentorica)
- KZ SI – 1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2015
- IN VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA VSEBNOST KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH KOKOŠI NESNIC
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
- OP IX, 34 str., 9 pregl., 8 sl., 26 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V poskus je bilo vključenih 48 živali, ki so bile razdeljene v štiri skupine po dvanajst kokoši, poskus pa je trajal dvanajst tednov. Prva je bila kontrolna skupina, druga skupina Q je dobivala v krmo primešan 2 g Amil Q/kg krme, skupini L je bilo v krmo dodano 0,4 g ALK/kg krme, skupini QL pa mešanica obojega 2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALK/kg krme. Koncentracija CoQ₁₀ v bedrni mišičnini, prsni mišičnini in srcu se je v skupini Q značilno povečala ($p < 0.05$) v primerjavi s skupino K, medtem ko je bila koncentracije koencima Q₁₀ v jetrih v skupini Q neznačilno povečana ($p > 0.05$). Pri dodatku ALK v skupini L se je koncentracija CoQ₁₀ značilno povečala ($p < 0.05$) v obeh mišičninah, srcu in jetrih. V skupini kokoši, ki je imela v krmo primešan CoQ₁₀ in lipojsko kislino, je bila značilno večja koncentracija CoQ₁₀ v prsni mišičnini in srcu in značilno manjša koncentracije CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih. Iz tega je mogoče sklepati, da je prehransko dopolnilo CoQ₁₀ in / ali alfa lipojska kislina koristno za obogatitev mesa prsne mišičnine in srca.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 636.5.084/.087(043.2)=163.6
- CX poultry/laying hens/feed additives/coenzyme Q₁₀/lipoic acid/tissues/breast/thigh/livers/heart/
- CC AGRIS L02/6100
- AU VERŠNJAK, Neja
- AA HOLCMAN, Antonija (supervisor)
- PP SI – 1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science
- PY 2015
- TI THE EFFECT OF DIETARY COENZYME Q₁₀ AND LIPOIC ACID SUPPLEMENTATION ON COENZYME Q₁₀ CONTENT IN TISSUES OF LAYING HENS
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO IX, 34 p., 9 tabl., 8 fig., 26 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Forty eight Lohmann Brown 35 week old hens were randomly allotted into 4 groups (12 per each) over a period of 12 weeks. The birds in the control (K) group were fed the basal diet whereas in other treatment groups basal diet was supplemented with 2.0 g Amil Q per kilogram (Q), 0.4 g alpha lipoic acid per kilogram (L) and 2.0 g Amil Q plus 0.4 g alpha lipoic acid per kilogram (QL). Meat CoQ₁₀ concentration in thigh muscles, breast muscles and heart increased significantly ($p < 0.05$) in Q group compared to K group. There was a slight insignificant ($p > 0.05$) increase in liver CoQ₁₀ concentration in Q group. The addition of alpha lipoic acid in L group increased significantly ($p < 0.05$) CoQ₁₀ concentration in thigh muscles, breast muscles and heart. The concentration of CoQ₁₀ was significantly higher in breast muscles and heart and significantly lower in thigh muscles and liver in QL group than in K group. It may be concluded that dietary supplementation of CoQ₁₀ and/or alpha lipoic acid is beneficial for enriching breast meat and heart in layers with CoQ₁₀.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	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	3
2.1.1 Delovanje koencima Q ₁₀	5
2.1.2 Biosinteza koencima Q ₁₀	5
2.1.3 Absorbpcija in prenos koencima Q ₁₀	7
2.1.4 Eksogeni koencim v hrani	7
2.2 LIPOJSKA KISLINA	8
2.2.1 Funkcije lipojske kisline	10
2.2.1.1 Lipojska kislina kot antioksidant	10
2.2.1.2 Kovinski ioni	10
2.2.1.3 Antioksidativna regeneracija	10
2.2.1.4 Popravilo poškodovanih molekul	10
2.3 VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO ŽIVALI NA RAZLIČNE LASTNOSTI	11
2.3.1 Vpliv dodatka koencima Q ₁₀ pri konjih kasačih pri preprečevanju oksidativnega stresa pri vadbi	11
2.3.2 Vpliv dodanega koencima Q ₁₀ v krmo pitovnih piščancev na pitovne lastnosti ...	11
2.3.3 Vpliv dodanega koencima Q ₁₀ v krmo kokoši na fizikalne lastnosti jajc	12
2.3.4 Vpliv dodanega koencima Q ₁₀ in lipojske kisline v krmo na proizvodne lastnosti kokoši in na vsebnost koencima Q ₁₀ v jajčnem rumenjaku	13

2.4	VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO PITOVNIH PIŠČANCEV NA VSEBNOST KOENCIMA Q ₁₀ V TKIVIH IN ORGANIH.....	15
2.4.1	Vpliv dodanega koencima Q ₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v drobovini.....	15
2.4.2	Vsebnost dodanega koencima Q ₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v piščančjem mesu	15
2.4.3	Razvoj funkcionalnega mesnega izdelka – jetrne paštete s koencimom Q ₁₀	16
2.5	KOKOŠI NESNICE LOHMANN	16
3	MATERIAL IN METODE.....	18
3.1	MATERIAL	18
3.2	METODE DELA	19
3.3	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV.....	20
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	21
4.1	OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI	21
4.2	PRIMERJAVA VSEBNOSTI KOENCIMA Q ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI IN PITOVNIH PIŠČANCEV	23
4.3	UČINEK DODANEGA KOENCIMA Q ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA KONCENTRACIJO KOENCIMA Q ₁₀ V TKIVIH KOKOŠI LAHKEGA TIPA	25
4.4	RAZLIKA MED LAHKIM IN TEŽKIM TIPOM KOKOŠI V UČINKU DODANEGA KOENCIMA Q ₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA KONCENTRACIJO KOENCIMA Q ₁₀ V TKIVIH.....	26
5	SKLEPI	29
6	POVZETEK.....	30
7	VIRI	32

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Vsebnost koencima Q ₁₀ in delež reducirane oblike v človeških tkivih (Bentinger in sod., 2007).....	4
Preglednica 2: Vsebnost koencima Q ₁₀ v posameznih živilih (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)	8
Preglednica 3: Proizvodne lastnosti kokoši nesnic lohmann v baterijski in pašni reji (Lohmann Brown Classic ..., 2011)	17
Preglednica 4: Prikaz števila kokoši nesnic po skupinah ter števila vzorcev za posamezna tkiva.....	19
Preglednica 5: Statistični parametri za koncentracije koencima Q ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih kokoši lahkega tipa	22
Preglednica 6: Povprečna vsebnost CoQ ₁₀ v tkivih v kontrolni skupini in skupini, ki je imela v krmo primešan koencim Q ₁₀	24
Preglednica 7: Razlike med skupinami v koncentraciji CoQ ₁₀ (mg/kg) v posameznih tkivih kokoši nesnic lohmann.....	26
Preglednica 8: Razlike v koncentraciji koencima CoQ ₁₀ (mg/kg) v mišičnini med skupinami in genotipoma.....	27
Preglednica 9: Razlike v koncentraciji koencima CoQ ₁₀ (mg/kg) v drobovini med skupinami in genotipoma.....	28

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Starostno povezane spremembe koncentracije koencima Q ₁₀ v nekaterih človeških organih (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)	4
Slika 2: Shematski prikaz koencima Q ₁₀ (Phillip, 2010)	5
Slika 3: Biosinteza koencima Q in holesterola (Rus R. in Rus P., 2008)	6
Slika 4: Prikaz absorbcije in transporta koencima Q ₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)	7
Slika 5: Shematski prikaz lipojske kisline (Packer in sod., 1997)	9
Slika 6: Kokoš nesnica provenience lohmann brown (Lohmann Brown Classic..., 2011).....	17
Slika 7: Koncentracija koencima Q ₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih kokoši lahkega tipa	22
Slika 8: Povprečne vrednosti CoQ ₁₀ (Q) v tkivih kokoši lahkega tipa in težkega tipa ter pitovnih piščancev, ki so uživali krmo z dodatkom CoQ ₁₀	25

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ALK	alfa lipojska kislina
Amil Q	vodotopni Q ₁₀ , pripravljen na osnovi koruznega škroba po tehnološkem postopku, ki so ga razvili v Laboratoriju za prehrambeno kemijo Kemijskega inštituta
ATP	adenozintrifosfat
DNK	deoksiribonukleinska kislina
CoA	acetilkoencim A
CoQ ₁₀	koencim Q ₁₀
CRT	ocena kapilarne polnitve

1 UVOD

Koencim Q₁₀ z drugo besedo imenujemo tudi ubikinon. Pri človeku je stranska veriga koencima Q₁₀ sestavljena iz desetih izoprenskih enot (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Je antioksidant, ki je topen v lipidih in prisoten v telesu tako ljudi kot živali, vsebujejo pa ga tudi rastline (Rudan – Tasič, 2000). Telo ga sintetizira samo, vendar v premajhnih količinah, te se s starostjo še zmanjšujejo. Zato ga moramo dodatno dobiti s hrano. Ima dve pomembni nalogi, in sicer deluje kot antioksidant in lovi proste radikale, da ne bi prišlo do poškodb DNK ter ima nenadomestljivo vlogo prenašalca elektronov med kompleksi mitohondrijske dihalne verige in aktivnega nosilca protonov preko notranje mitohondrijske membrane in s tem sodeluje pri sintezi ATP (Stocker, 2002).

Večkrat zasledimo, da stres, telesne dejavnosti in staranje zmanjšujejo vsebnost koencima Q₁₀ v telesu in tako pripomorejo k slabšemu počutju in raznim bolezenskim stanjem (Stocker, 2002). Da bi se temu izognili, moramo jesti hrano, ki vsebuje dosti koencima Q₁₀, kot so meso, ribe, oreščki, različna olja, ... Če tudi to ne zadostuje, ponuja farmacevtska industrija dodatke, ki so obogateni s koencimom Q₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).

V literaturi je večkrat naveden pozitiven učinek koencima Q₁₀, ki ga uporabljajo v zdravstvene namene. Do uspehov je prišlo npr. pri zdravljenju srčnih obolenj, raka, AIDS-a, astme, sladkorne bolezni, moške neplodnosti (Coenzyme Q₁₀, 2007).

Obstaja že veliko na lipofilni osnovi narejenih dodatkov, ki vsebujejo koencim Q₁₀. Ker ga v taki obliki naše telo hitro izloči s sečem, nima takšnega učinka, kot bi ga imel v vodi topen kompleks. Prošek in sod. (2005) so na Kemijskem inštitutu v Ljubljani razvili vodotopni kompleks in s tem pripomogli k boljši in hitrejši absorpciji.

Alfa lipojska kislina (ALK) je kofaktor za številne encimske komplekse (npr. piruvate in α – ketoglutarate dehidrogenez). Vsebuje dva atoma žvepla v verigi osmih ogljikovih atomov (Gilbert, 1992). Uvrščamo jo med antioksidante, saj z zaviranjem prostih radikalov preprečuje bolezni v telesu. Ima pa še druge naloge, in sicer sodeluje pri spajanju v ketalne komplekse s kovinskimi ioni (Boyer, 2005), ima sposobnost regeneracije različnih

antioksidantov ter igra pomembno vlogo pri popravilu oksidativno poškodovanih molekul (Wolfson, 2000).

Tako kot koencim Q₁₀ tudi lipojsko kislino uporabljajo v zdravstvene namene. Z dodajanjem lipojske kisline so poskušali zvišati nivo v serumu pri bolnikih s sladkorno boleznijo in cirozo jeter (Wolfson, 2000).

Na živalih je bilo narejenih že nekaj poskusov s koencimom Q₁₀ in lipojsko kislino. Na pitovnih piščancih so proučevali vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo na pitovne lastnosti piščancev (Volk in Brus, 2009), na vsebnost koencima Q₁₀ v drobovini (Halilović, 2008), v mesu (Penko, 2008) in vpliv dodatka koencima Q₁₀ in lipojske kisline na njuno vsebnost v tkivih piščancev in na zmanjšanje oksidativnega stresa med rejo (Jazbec Križman, 2011). Nekaj poskusov je bilo narejenih na jajcih, in sicer kako se dodatek koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši odraža na vsebnosti koencima Q₁₀ v jajčnem rumenjaku (Kotnik, 2012) in kako vpliva na fizikalne lastnosti jajc (Sovič, 2010). Proučili so možnosti izdelave funkcionalnega živila – perutninske jetrne paštete s CoQ₁₀ (Koren, 2009). Poleg poskusov na perutnini, je Jagrič Munih (2012) proučevala pomen dodatka koencima Q₁₀ pri konjih kasačih na preprečevanje oksidativnega stresa pri vadbi.

V diplomski nalogi želim proučiti vpliv dodanega koencima Q₁₀ in alfa lipojske kisline v krmo kokoši na vsebnost v jetrih, srcu ter prsni in bedrni mišičnini lahkega tipa kokoši po trimesečnem krmljenju z dodatkom.

2 PREGLED OBJAV

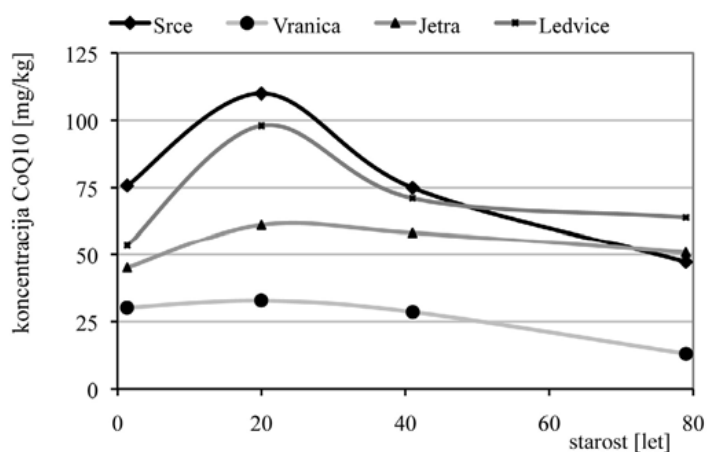
2.1 KOENCIM Q₁₀

Koencim Q so lipofilne molekule, ki jih imenujemo tudi ubikinoni (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Ubikinoni so v maščobah topni koencimi, ki služijo kot prevodniki elektronov (Armstrong, 1989). Ime ubikinon je sestavljeno iz ubi (povsod prisoten) in kinon, ki se nanaša na kemično sestavo snovi (Rus R. in Rus P., 2008). Je antioksidant, ki nastaja v telesu in je topen le v lipidih. Prisoten je v vseh celičnih membranah in lipoproteinih. V naravi je močno razširjen, tako pri živalih kot v rastlinskem svetu (Rudan-Tasič, 2000). Kemijsko gre za 2,3-dimetoksi-5-metil-6-polilzoprenil-1,4-benzokinone (slika 2). Poimenujemo jih glede na dolžino polizoprenske verige. Stranska veriga koencima Q₁₀ je sestavljena iz desetih izoprenskih enot. Koencim Q₁₀ je amfifilna molekula, ki ima prevladujoč lipofilni značaj zaradi dolge nepolarne stranske verige. V telesu se pojavlja le v treh oblikah, in sicer v lipidnih membranah, v micelnih agregatih ali pa vezan na beljakovine (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Ravni koencima Q₁₀ so v plazmi bistveno manjše od nekaterih vitaminov, kot sta vitamina E in C. Najvišje koncentracije tega koencima se nahajajo v mišicah, srcu, jetrih, možganih in ledvicah. Na sub-celični ravni koencim Q₁₀ najdemo predvsem v Golgijevem aparatu, ki nadzoruje beljakovine, notranje mitohondrijske membrane in lizosome, kjer se prebavijo makromolekule. Ima nenadomestljivo vlogo prenašalca elektronov med kompleksi mitohondrijske dihalne verige in aktivnega nosilca protonov preko notranje mitohondrijske membrane. S tem sodeluje pri sintezi ATP in v procesu nastajanja gradienta protonov (Stocker, 2002).

Koencim Q₁₀ je edini endogeni, v maščobah topen antioksidant v telesu, del pa ga zaužijemo tudi s hrano. Njegova vloga je ohranjanje ravnotežja med ubikinolno (reducirano) in ubikinonsko (oksidirano) obliko (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Kadar v telesu zaradi encimskih okvar pride do pomanjkanja koencima Q₁₀, le-tega lahko dobimo s hrano, ki je obogatena z njim. Z obogateno hrano se izboljša tako funkcija mišic kot organov. Obseg absorpcije sovпада s stopnjo pomanjkanja v tkivih. Z dodajanjem koencima Q₁₀ pri starih podganah se povečala njihova velikost mišic in možganov, medtem ko pri mladih ne (Stocker, 2002).

Koncentracija koencima Q₁₀ se spreminja v odvisnosti od raznih dejavnikov, kot so stres, telesna vadba, jemanje drog in podobno. Staranje je na splošno povezano z zmanjšanjem

ravni koencima Q₁₀ v tkivih (slika 1). V mladosti so ravni le-tega v koži majhne, najvišjo stopnjo dosežejo v starosti 20 do 30 let, potem pa se zmanjšujejo. Topikalno nanešen (le na določenem predelu) koencim Q₁₀ prodre v plast živih celic v koži in zmanjša tako globino gub kot tudi starostne pege. Koencim Q₁₀ je zelo učinkovit tudi pri zaščiti celic pred oksidativnimi poškodbami DNK, ki so povzročene z ultravijolično svetlobo (Stocker, 2002).



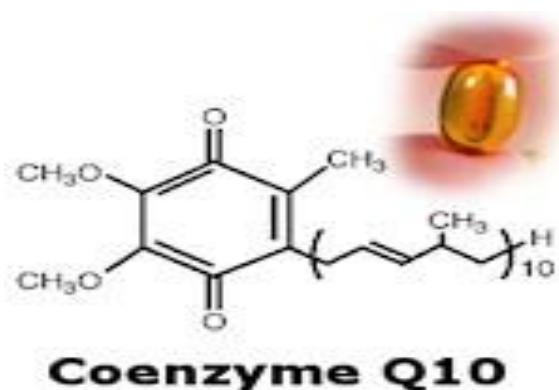
Slika 1: Starostno povezane spremembe koncentracije koencima Q₁₀ v nekaterih človeških organih (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)

Koencim Q₁₀ najdemo skoraj v vsaki celici človeškega telesa (preglednica 1). Zaradi njegove prisotnosti v naravi in njegove strukture je podoben vitaminu K (Coenzyme Q₁₀, 2007). Pri človeku je dobil pomembno mesto kot zdravilo in dopnilo k prehrani, saj je termostabilen, fotostabilen in ni citotoksičen (Rudan-Tasič, 2000). Pomemben je pri zdravljenju mišične distrofije, raka dojke, sladkorne bolezni, moške neplodnosti, AIDSa, astme, bolezni ščitnice in paradontoze (Coenzyme Q₁₀, 2007).

Preglednica 1: Vsebnost koencima Q₁₀ in delež reducirane oblike v človeških tkivih (Bentinger in sod., 2007)

TKIVA	Koencim Q ₁₀ (mg/g)	% Reducirane oblike koencima Q ₁₀
Srce	114	47
Ledvica	67	73
Jetra	55	95
Mišice	40	60
Ščitnica	25	68
Vranica	25	87
Možgani	13	23
Črevo	12	93
Pljuča	8	24

Dodatek koencima Q₁₀ je priporočljiv pri srčnih bolnikih, ki trpijo zaradi srčnega popuščanja. Tompkins v članku navaja, da je desetletna študija pokazala, da dodajanje koencima Q₁₀ bistveno izboljša preživetje celo bolnikov z najhujšim srčnim popuščanjem. Dodatek CoQ₁₀ lahko obnovi nezadostne ravni koencima Q₁₀ in s tem bolnikom z zmernim do hujšim srčnim popuščanjem podaljša in izboljša kakovost življenja (Tompkins, 2014). Uporabljajo ga tudi za zdravljenje mitohondrijskih bolezni in nevrodegenerativnih obolenj, kot so Parkinsonova bolezen, Huntingtova bolezen in amiotrofična lateralna skleroza (Stocker, 2002).



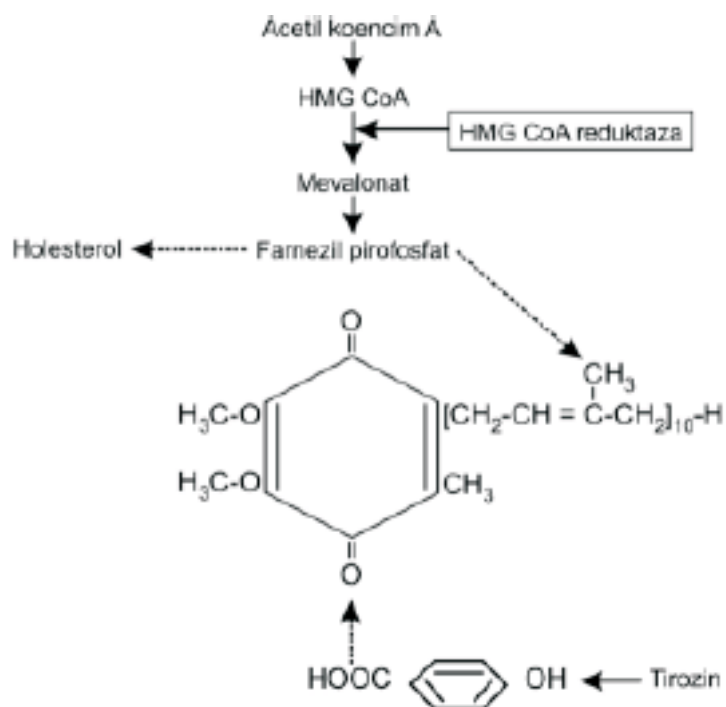
Slika 2: Shematski prikaz koencima Q₁₀ (Phillip, 2010)

2.1.1 Delovanje koencima Q₁₀

Koencim Q₁₀ ima v telesu vlogo koencima, to pomeni, da encimom pomaga pri opravljanju dela. Ena izmed njegovih nalog je, da sodeluje v verigi reakcij, kjer nastaja energija v obliki ATP. Deluje tudi kot antioksidant, topen v maščobah. Telo varuje pred prostimi radikali, ki lahko poškodujejo DNK. V celicah ohranja optimalen pH, saj ima pomembno vlogo pri prenosu protonov skozi membrano lizosomov. Deluje pa tudi kot stabilizator celičnih membran (Rus R. in Rus P., 2008).

2.1.2 Biosinteza koencima Q₁₀

Nekaj koencima Q₁₀ zaužijemo s hrano, nekaj ga nastaja z biosintezo. Proces biosinteze koencima Q₁₀ zajema tri stopnje: iz aminokislin tirozina ali fenilalanina se sintetizira benzokinon, kasneje poteka sinteza izoprenske stranske verige iz acetilkoencima (CoA) preko mevalonatne poti in na koncu pride še do združenja benzokinona z izoprensko stransko verigo (slika 3) (Rus R. in Rus P., 2008).



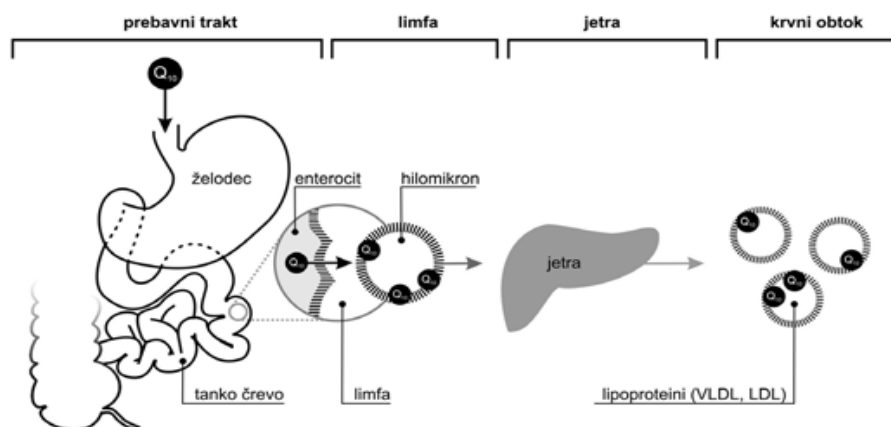
Slika 3: Biosinteza koencima Q in holesterola (Rus R. in Rus P., 2008)

Zgodovino koencima Q₁₀ povzamemo po Prošek in sod. (2008). Od leta 1950 do 1970 so potekale številne raziskave, s katerimi so znanstveniki skušali določiti beljakovinske komplekse in mehanizme, ki v organizmih zagotavljajo biološko pretvorbo energije. Takrat so odkrili koencim Q₁₀. Izredno pomembno je bilo delo prof. Davida Greena, ki je v začetku petdesetih let organiziral industrijsko pridobivanje mitohondrijev iz govejih src. Ti so služili kot izhodišče za številne raziskave. Leta 1957 je Dr. Frederic Crane izoliral neznano spojino, ki je bila nujna za delovanje oksidacijskih procesov. Sklepal je, da je spojina kinon in jo poimenoval Q275. Istega leta je prof. Morton iz Anglije iz podganjih jeter izoliral spojino z enakim spektrom kot Q275 in jo poimenoval ubiquinon. Prof. Karel Folker je s pomočjo sodelavcev Mercka kemijsko ovrednotil spojino, ki jo je dobil od dr. Cranea. Tako so odkrili koencim Q₁₀. Že leta 1966 je prof. Yuichi Yamamura uporabil koencim Q₁₀ za zdravljenje srca in ožilja. Leta 1972 je prof. Gian Paolo Littarrai ugotovil pomanjkanje koencima Q₁₀ v srčnem tkivu bolnikov s srčnimi težavami, medtem ko so raziskave prof. Gustava Dallnerja pokazale, da ima koencim Q₁₀ v telesu pomembno vlogo kot lovilec radikalov in s tem preprečuje verižno reakcijo oksidacije. Leta 1978 je dr. Peter Mitchell za svojo ugotovitev, da je ključna vloga koencima Q₁₀ pri pretvorbi energije

povezana s prenosom protonov preko celične membrane in ne elektronov, dobil Nobelovo nagrado. Od 1980 leta dalje je uporaba koencima močno narastla (Prošek in sod., 2008).

2.1.3 Absorbpcija in prenos koencima Q₁₀

Koencim Q₁₀ ima tališče pri 50 °C in molekulska masa 863. Je kristalična snov, rumene barve. Ker je netopen v vodi in slabo topen v lipidih, se zelo težko absorbira iz prebavnega trakta. Absorbpcija je odvisna od količine zaužitega koencima Q₁₀, zato moramo paziti, da ga ne zaužijemo preveč naenkrat. Absolutna absorbpcija pri ljudeh znaša približno 10 %. Absorbpcija temelji na emulzifikaciji s pomočjo žolčnih kislin v tankem črevesu. Koencim Q₁₀ se presnavlja v vseh tkivih (slika 4), izloča pa se z blatom (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).



Slika 4: Prikaz absorbpcije in transporta koencima Q₁₀ (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)

2.1.4 Eksogeni koencim v hrani

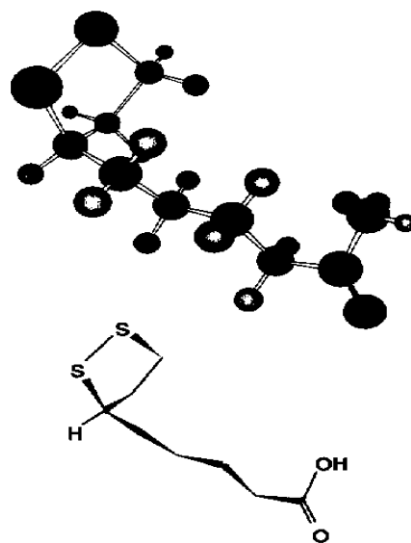
Človek lahko pomanjkanje koencima Q₁₀ v telesu nadomesti s tistim iz hrane (preglednica 2). Ta vnos je sicer majhen, in sicer 3 do 6 mg dnevno. Ugotovili so, da je s koencimom Q₁₀ najbolj obogateno rdeče meso in migrirajoče ribe, veliko pa ga je tudi v oreščkih in rastlinskem olju (največ v olivnem) (Žmitek J. in Žmitek K., 2009). Nekoliko manj ga je v mlečnih izdelkih, sadju, zelenjavi in jajcih. Živila, ki vsebujejo več maščob, so bolj obogatena s koencimom Q₁₀. Medtem ko kuhanje ne vpliva na izgube tega koencima v hrani, pečenje pripomore k 14 do 32 % izgubam (Rus R. in Rus P., 2008). S hrano ne moremo zadovoljiti večjih potreb po tem koencimu, zato so na tržišče prišli izdelki, obogateni z njim (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).

Preglednica 2: Vsebnost koencima Q₁₀ v posameznih živilih (Žmitek J. in Žmitek K., 2009)

HRANA	Koencim Q₁₀ (mg/kg)
<u>Meso:</u>	
Govedina	16-40
Svinjina	13-45
Perutnina	8-25
<u>Ribe:</u>	
Sardine	5-64
Skušje (rdeče meso)	43-67
Skušje (belo meso)	11-16
<u>Olja:</u>	
Koruzno	106-139
Olivno	109-160
Sončnično	10-15
<u>Oreščki:</u>	
Arašidi	27
Orehi	19
Mandlji	5-14
<u>Zelenjava:</u>	
Peteršilj	8-26
Brokoli	6-9
Cvetača	2-7
<u>Sadje:</u>	
Avokado	10
Črni ribez	3
Jagoda	1

2.2 LIPOJSKA KISLINA

Alfa lipojska kislina (ALK) je kofaktor za mnoge encimske komplekse v mitohondrijih (piruvat dehidrogenaza, alfa ketoglutarat dehidrogenaza), ki katalizirajo reakcije, povezane s tvorbo energije ter reakcije razgradnje (katabolizma) alfa keto kislin in aminokislin. Spojina vsebuje dva z disulfidno vezjo povezana žveplova atoma na položajih C6 in C8 v osemogljčni verigi (slika 5). Kot kofaktor je lipojska kislina lahko v oksigenirani ali reducirani obliki (Gilbert, 1992). Pri delovanju kot prostetična skupina, lipoamid, sodeluje pri prenosu acilnih skupin povezanih z oksidacijskimi reakcijami (Boyer, 2005).



α -Lipoic Acid

Slika 5: Shematski prikaz lipojske kisline (Packer in sod., 1997)

Leta 1951 so lipojsko kislino prvič izolirali in pri tem potrebovali kar deset ton jeter (Boyer, 2005). Kristalizirala sta jo Lester J. Reed in Irwin C. Gunsalus (Armstrong, 1989). Najprej so mislili, da gre za vitamin, a so kmalu ugotovili, da jo naše telo samo sintetizira, čeprav v zelo majhnih količinah. Nekateri strokovnjaki priporočajo uživanje lipojske kisline tudi s hrano, čeprav jo verjetno telo sintetizira dovolj za potrebe presnove. To kislino lahko najdemo v špinači, pivskem kvasu in jetrih (Boyer, 2005).

Lipojska kislina pomaga pri čiščenju telesa, preprečuje pojav bolezni, ki jih povzročajo prosti radikali. Antioksidanti so snovi, ki zavirajo oksidacijo celic z nevtralizacijo prostih radikalov. Prosti radikali so zelo reaktivne molekule, ki vsebujejo enega ali več neparnih elektronov in 'kradejo' elektrone iz drugih molekul, kot so DNK, maščobe in beljakovine. Antioksidanti z donacijo elektronov radikalom preprečujejo škodo (Wolfson, 2000).

Znanstveni interes za lipojsko kislino sega v leto 1960, ko so ugotovili, da bi lahko imela potencial za terapevtske namene. Pri bolnikih, ki trpijo za sladkorno boleznijo, cirozo jeter so opazili nižji nivo lipojske kisline v serumu. Nemški zdravniki so zato začeli dodajati lipojsko kislino in s tem poskušali nadomestiti njeno pomanjkanje. Ugotovili so, da se ta kislina z oralnim zaužitjem lepo absorbira iz prebavnega trakta in se porazdeli po telesu (Wolfson, 2000).

2.2.1 Funkcije lipojske kisline

2.2.1.1 Lipojska kislina kot antioksidant

Ker bolje zavira za celico škodljive oksidacijske procese, kot na primer vitamina C ali E, je dobila naziv univerzalni antioksidant. Poleg tega so vitamini topni ali v vodi ali v maščobah, lipojska kislina pa v obojem. V procesu oksidoredukcijskega kroženja lahko obnavlja aktivni obliki že omenjenih vitaminov. Z oksidoredukcijskimi reakcijami antioksidanti nevtralizirajo posebno reaktivne proste radikale, ki v fizioloških razmerah nastajajo iz vodikovega peroksida in kisika. Te radikale imenujemo tudi reaktivne kisikove zvrsti (ROS), kamor spadajo peroksid ali superoksidnion (O_2), hidroperoksil (HOO), peroksinitril (OONO) in hidroksil (HO). ROS so vključene v proces peroksidacije lipidov, v katerem se kemijsko modificirajo nenasičene maščobne kisline v membranah (Boyer, 2005).

2.2.1.2 Kovinski ioni

Lipojska kislina igra pomembno vlogo pri spajanju v kelatne komplekse s kovinskimi ioni. Tako lahko veže železove, cinkove, bakrove, kadmijeve in živosrebrove ione. Lipojska kislina v oksidoredukcijskih reakcijah pomaga pri razstrupljanju kovinskih ionov, ki lahko povzročijo oksidativne poškodbe (Boyer, 2005).

2.2.1.3 Antioksidativna regeneracija

Ko antioksidant nevtralizira prosti radikal, po navadi izgubi svojo antioksidativno sposobnost. V živih sistemih pa antioksidante lahko regeneriramo s pomočjo drugih antioksidantov. Glutation lahko regenerira vitamin C, ta lahko nato regenerira vitamin E. V skladu s svojo vsestranskostjo lahko lipojska kislina regenerira različne antioksidante, vključno z glutationom, vitaminoma C in E ter mitohondrijskim antioksidantom koencimom Q₁₀ (Wolfson, 2000).

2.2.1.4 Popravilo poškodovanih molekul

Prosti radikali povzročijo škodo na fizioloških molekulah, kot so DNK, lipidi in beljakovine. Živi organizmi so razvili številne mehanizme za popravilo teh poškodb, vendar ne vseh. Študije kažejo, da z donacijo elektronov nekaterim ključnim encimskim sistemom, igra lipojska kislina pomembno vlogo pri popravilu oksidativno poškodovanih molekul (Wolfson, 2000).

Preučujejo še druge učinke lipojske kisline, kot je učinek pri zdravljenju sladkorne bolezni, glavkoma, katarakte in zastrupitve s težkimi kovinami. Nekatere študije kažejo, da lipojska kislina inhibira rezervno transkriptazo HIV (Boyer, 2005).

2.3 VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO ŽIVALI NA RAZLIČNE LASTNOSTI

2.3.1 Vpliv dodatka koencima Q₁₀ pri konjih kasačih pri preprečevanju oksidativnega stresa pri vadbi

Jagrič Munih (2012) je proučevala pomen koencima Q₁₀ v preprečevanju oksidativnega stresa pri vadbi konj kasačev. V poskus je bilo vključenih deset zdravih tekmovalnih konjpasme angleški kasač.

S porastom kazalca oksidativnega stresa, izmerjenega po vadbi, je potrdila prisotnost oksidativnega stresa, ki ga je vadba povzročila. Osem tedensko peroralno dajanje CoQ₁₀ konjem v odmerku 600 mg na dan ni zmanjšalo stopnje lipidne peroksidacije in s tem oksidativnega stresa v primerjavi s kontrolno skupino, ki CoQ₁₀ ni dobivala. Prišla je do sklepa, da CoQ₁₀ v odmerku 600 mg ne doprinese k zmanjšanju oksidativnega stresa.

2.3.2 Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo pitovnih piščancev na pitovne lastnosti

Volk in Brus (2009) sta opravila poskus na 200 pitovnih piščancih provenience ross 308. Zanimal ju je vpliv dodatka koencima Q₁₀ v krmo na proizvodne lastnosti, zdravstveno stanje živali in koncentracijo v tkivih piščancev. Živali so bile razporejene v pet skupin glede na čas krmljenja s krmo, obogateno s koencimom Q₁₀ (kontrolna skupina - 100 živali, piščanci krmljeni 10 dni, 20 dni, 30 dni in 40 dni – v vsaki skupini po 25 živali). Piščance so ustrezno krmili s 5 mg vodotopnega koencima Q₁₀, ki so jim ga dnevno vmešali v krmo.

Piščance so med poskusom večkrat stekali in ugotavljali razlike med kontrolno skupino in poskusnimi skupinami. Piščanci se ob prvem tehtanju, pri 10. dnevu starosti, niso statistično značilno razlikovali, s starostjo pa se je razlika v njihovi masi povečala. Najbolj so priraščali piščanci, ki so vseh 40 dni dobivali v krmi koencim Q₁₀, sledila jim je skupina, ki je koencim prejemale 20 dni, nato skupini, ki sta koencim prejemale 10 in 30 dni, najslabše pa so priraščali piščanci iz kontrolne skupine. Ugotovila sta, da je dodatek vplival na povečano telesno maso oz. na povečan prirast piščancev.

Tudi vsebnost CoQ₁₀ v tkivih se je z dodatkom le-tega v krmo povečala. V prsni in bedrni mišičnini se je vsebnost CoQ₁₀ povečevala s časom krmljenja z obogateno krmo in je bila največja pri živalih, ki so bile z dodatkom krmljene 40 dni.

Najmanj nihanj v izkoriščanju krme skozi celoten test je bilo v skupini piščancev, ki so bili krmljeni z obogateno krmo 40 dni, največ pa v kontrolni skupini. Na podlagi teh rezultatov sta prišla do sklepa, da je dodatek CoQ₁₀ vplival na boljše izkoriščanje krme (manjša poraba krme za kg prirasta) v skupini krmljeni z obogateno krmo 40 dni. Tudi bolezenskih stanj nista zabeležila.

Jazbec Križman (2011) je preučevala, kako dodatek koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo vpliva na priraste, izkoristek krme in vsebnost v tkivih. Ko je po skupinah primerjala piščance med seboj, je ugotovila, da ima največji vpliv krma obogatena s koencimom Q₁₀, najmanjšega pa krma obogatena z dodatkom lipojske kisline. Skupina, ki je bila krmljena s krmo, ki ji je bil dodan koencimom Q₁₀, je namreč dosegla največji prirast. Pri izkoriščanju krme je bil uspeh najbolj viden pri skupini piščancev krmljenih z dodatkom lipojske kisline, saj so z manj krme dosegali večji prirast; najslabši izkoristek krme pa je bil pri piščancih krmljenih z lipojsko kislino in koencimom Q₁₀. Ti so za svoj prirast potrebovali večje količine krme.

2.3.3 Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo kokoši na fizikalne lastnosti jajc

Sovič (2010) je proučevala, kakšen vpliv ima dodatek koencima Q₁₀ v krmo kokoši na fizikalne lastnosti jajc. V poskus je bilo vključenih 48 mater pitovnih piščancev provenience ross in 48 kokoši nesnic provenience lohmann brown. Vse kokoši so imele enake pogoje reje, in sicer so bile sprva v talni reji, pred poskusom pa so jih preselili v individualne kletke. Kokoši nesnice so bile v poskus vključene od 35. do 47. tedna starosti, medtem ko so bile kokoši ross vključene od 38. do 50. tedna. Težke kokoši ross in kokoši nesnice lohmann so razporedili v štiri skupine glede na dodatek v krmo. Prva je bila kontrolna skupina, druga skupina Q je dobivala v krmo primešan 2 g Amil Q/kg krme, skupini L so v krmo primešali 0,4 g ALK/kg krme, skupini QL pa mešanico obojega 2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALK/kg krme. Po izračunih so kokoši obeh tipov v skupini Q dnevno zaužile 5 mg CoQ₁₀, v skupini L 50 mg lipojske kisline in v skupini QL 5 mg CoQ₁₀ in 50 mg lipojske kisline. V vsaki od skupin je bilo po dvanajst živali.

Dodatek koencima Q₁₀ v krmo je povzročil spremembe na jajcih kokoš lohmann, in sicer temnejšo jajčno lupino, svetlejšo barvo rumenjaka in večji obseg krvnih in mesnih peg. Na jajcih kokoši ross ni bilo opaženih nobenih značilnih sprememb. Dodatek lipojske kisline je na jajcih kokoši lohmann povzročil večjo trdnost lupine, višji gosti beljak in večje število haughovih enot; medtem ko je na jajcih kokoši ross povzročil svetlejšo barvo lupine, zmanjšano maso jajca, znižanje višine gostega beljaka in zmanjšanje števila haughovih enot, intenzivnejše obarvanje rumenjaka in prav tako večjo trdnost lupine. Dodatek obojega, lipojske kisline in koencima Q₁₀, je na jajcih težkega tipa kokoši povzročil znižanje višine gostega beljaka in zmanjšanje števila haughovih enot ter intenzivnejše obarvanje rumenjaka, na jajcih nesnic lahkega tipa pa večjo trdnost lupine, temnejše obarvanje lupine, zvišanje gostega beljaka in povečanje števila haughovih enot ter manjšo intenzivnost obarvanja rumenjaka.

Sovič (2010) je prišla do sklepa, da je pri obeh genotipih dodatek koencima Q₁₀ v krmo kokoši značilno vplival na večjo trdnost lupine, temnejšo lupino in večjo maso jajc; dodatek lipojske kisline je imel značilen vpliv na slabšo kakovost beljaka (tako v številu haughovih enot kot v višini gostega beljaka) in večjo trdnost lupine; dodatek CoQ₁₀ in lipojske kisline v krmo pa je značilno vplival na trdnost lupine, temnejšo barvo lupine ter nižji gosti beljak in manjše število haughovih enot.

2.3.4 Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo na proizvodne lastnosti kokoši in na vsebnost koencima Q₁₀ v jajčnem rumenjaku

Kotnik (2012) je proučevala vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši lahkega in težkega tipa na proizvodne lastnosti. Ta poskus je opisan v poglavju 2.3.3 (Sovič, 2010). V trimesečnem poskusnem obdobju je bil največji povprečni odstotek nesnosti pri kokoših lohmann brown v kontrolni skupini (94,9 %), najmanjši pa v skupini QL (86,6 %). V poskus so bile kokoši vključene v starosti od 36 do 47 tednov. V tem starostnem obdobju naj bi bila po tehnologiji kokoši lohmann nesnost 92,4 %. Ta odstotek je presegla samo kontrolna skupina, medtem ko skupine Q, L in QL niso dosegle teh normativov. Največja celokupna masa jajc je bila zabeležena v skupini K, najmanjša pa v skupini L.

Ob vselitvi v individualne kletke so bile kokoši v kontrolni skupini težke v povprečju 1,8 kg, v ostalih skupinah pa v povprečju 1,9 kg; na koncu poskusa pa so bile kokoši v K in

Q skupini v povprečju težke 1,9 kg, v L in QL pa 1,8 kg. Vse kokoši so bile nekoliko lažje, kakor bi morale biti po podatkih v tehnologiji reje.

Zauživanje krme je bilo največje v skupini Q (123,6 g/dan), najmanjše v skupini QL (112,6 g/dan), vmesne vrednosti za količino zaužite krme so bile v skupini K (123,2 g/dan) in skupini L (112,7 g/dan). Povprečno naj bi kokoš v tem starostnem obdobju zaužila 117 g/dan, to vrednost so presegle kokoši iz skupine Q in K.

Kotnik (2012) je v drugem poskusu proučevala vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v jajčnem rumenjaku. V poskus je bilo vključenih 786 kokoši slovenske grahaste kokoši in 82 petelinov slovenske rjave kokoši. Živali so bile v talni reji. Poskus je trajal 32 dni, na začetku poskusa so bile živali stare 39 tednov. Temperatura v hlevu je bila med 9 °C in 16 °C. Starševska jata je bila izpostavljena svetlobi od 4. do 18. ure. Kokoši in peteline so stehali 2 dni pred poskusom in nato živali razdelili v kontrolno skupino (K), v kateri so živali krmili s popolno krmno mešanico za kokoši nesnice NSK, in poskusno skupino (Q), kjer so živalim v popolno krmno mešanico NSK vmešali 2 g Amil Q / kg krme. Vsaka od teh skupin je bila razdeljena še na tri paralelke.

V 32 dneh krmljenja starševske jate kokoši nesnic z dodatkom koencima Q₁₀ v krmno mešanico je ugotovila, da je bila vsebnost CoQ₁₀ v rumenjaku jajc poskusne skupine neznačilno večja kot v jajcih kontrolne skupine.

Zanimive so ugotovitve Kamisoyama in sod. (2010), ki so opravili poskus s kokošmi nesnicami, ki so jih razdelili v dve skupini. Prva je bila kontrolna skupina in so jo krmili z osnovno krmno mešanico, drugi skupini pa so v krmo primešali 0,8 % CoQ₁₀. Poskus je trajal štiri tedne. Živali so bile v individualnih kletkah, jajca so pobirali dnevno. Vsak teden so jajcem izmerili vsebnost CoQ₁₀ in holesterola. Po zakolu so živalim odvzeli še vzorce jeter in plazme. Ugotovili so, da med skupinama ni prišlo do razlik v masi in številu jajc, masi rumenjaka ter izkoriščanju krme, so pa zabeležili značilne razlike med skupinama v vsebnosti CoQ₁₀ v jajčnem rumenjaku. V poskusni skupini je bila vsebnost CoQ₁₀ v plazmi in jetrih skoraj petkrat večja kot v kontrolni skupini. Vsebnost holesterola v jajčnem rumenjaku je bila značilno manjša pri poskusni skupini.

2.4 VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO PITOVNIH PIŠČANCEV NA VSEBNOST KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH IN ORGANIH

2.4.1 Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v drobovini

Halilović (2008) je raziskovala vpliv dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v drobovini. Izhajala je iz poskusa, ki sta ga opisala Volk in Brus (2009), na 200 piščancih provenience ross. Ti so bili razporejeni v pet skupin glede na čas krmljenja s krmo obogateno s koencimom Q₁₀ (kontrolna skupina, piščanci krmljeni 10 dni, 20 dni, 30 dni in 40 dni). Zaklani so bili pri starosti 41 dni.

Ugotovila je, da piščančja jetra vsebujejo več CoQ₁₀ kot piščančja srca in da 40 dnevno dodajanje koencima Q₁₀ v krmo ne vpliva na vsebnost koencima Q₁₀ v jetrih, v srcih pa je vsebnost značilno večja pri piščancih, krmljenih 30 in 40 dni z vodotopnim koencimom Q₁₀, kot v kontrolni skupini in skupini, krmljeni 10 dni z vodotopnim koencimom Q₁₀.

Prav tako je ugotovila, da vsebnost holesterola v piščančji drobovini na splošno ni odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo. Podrobnejša analiza je pokazala, da je bilo v jetrih piščancev, krmljenih s CoQ₁₀ 20, 30 in 40 dni, značilno več holesterola kot v kontrolni skupini in skupini piščancev, ki so dodatek koencima Q₁₀ v krmo dobivali 10 dni. Vsebnost holesterola v srčni mišici je bila značilno manjša v skupinah piščancev krmljenih s CoQ₁₀ 20, 30 in 40 dni kot v kontrolni skupini in skupini piščancev, ki so dodatek koencima Q₁₀ v krmo dobivali 10 dni.

V sklepu te raziskave Halilović (2008) navaja, da organizmu šele po določenem času uspe vzpostaviti ravnotežje med eksogenim in endogenim koencimom Q₁₀.

2.4.2 Vsebnost dodanega koencima Q₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v piščančjem mesu

Tudi Penko (2008) je uporabila vzorce iz poskusa, ki sta ga opisala Volk in Brus (2009) (poglavje 2.3.2.). Zanimal jo je vpliv dodatka koencima Q₁₀ v krmo na njegovo vsebnost v mesu pitovnih piščancev.

Ugotovila je, da dodatek koencima Q₁₀ v krmo statistično značilno vpliva na povečano vsebnost le tega v mesu in da se povečuje glede na čas krmljenja. Največjo koncentracijo koencima Q₁₀ je v vseh kosih izmerila pri piščancih, ki so obogateno krmo zauživali 40

dni. Na kosih, ki vsebujejo naravno manj koencima Q₁₀, kot so prsi in peruti, se je dodatek v krmo poznal bolj kot pri bedrih. Kljub temu je največjo vrednost koencima Q₁₀ zabeležila v bedrih (21,9 µg/g), nekaj manj v prsih (8,9 µg/g) in najmanj v perutih (7,0 µg/g).

2.4.3 Razvoj funkcionalnega mesnega izdelka – jetrne paštete s koencimom Q₁₀

Jazbec Križman (2011) je ugotovila, da bi lahko dobili izdelke obogatene s koencimom Q₁₀ iz mesa piščancev, ki so bili krmljeni s krmo, ki so ji dodajali koencim Q₁₀. Uvedli so QCI indeks, ki predstavlja merilo za izboljšanje kakovosti mesa in prikazuje razmerje med CoQ₁₀ in holesterolom. Rezultati so pokazali največji porast indeksa v piščančji jetrni pašteti.

Koren (2009) je proučila možnosti izdelave funkcionalnega živila – perutninske jetrne paštete s CoQ₁₀. Poskus je razdelila na tehnološki, kemijski in senzorični del in ga v celoti opravila v treh ponovitvah. Pred tem je izvedla še predpoizkus. Naredila je pet vrst paštet (kontrolna – brez dodatkov, Q₁₀ – dodatek 20 mg CoQ₁₀/100g, Q₁₀C - dodatek 20 mg CoQ₁₀/100 g in askorbinske kisline 200 mg/100 g, Q₁₀E - dodatek 20 mg CoQ₁₀/100 g in α – tokoferola 20 mg/100 g, Q₁₀CE - dodatek 20 mg CoQ₁₀/100 g, askorbinske kisline 200 mg/100 g in α – tokoferola 20 mg/100 g). Paštete je nato shranila v steklene kozarce, jih polovico pasterizirala, drugo polovico sterilizirala in jih shranila v hladilnik. Po 24-ih urah mirovanja je sledila senzorična analiza. Vse tri serije paštet je analizirala v enakem časovnem obdobju. Tako so razvili lastno recepturo za pašteto, ki je kakovostna tako iz tehnološkega kot senzoričnega vidika. Razvili so funkcionalni izdelek – perutninsko jetrno pašteto. Razmerje hranil v pašteti je v skladu s priporočili hranil v obroku. Vsebnost CoQ₁₀ se je v pašteti pri pasterizaciji najbolje ohranila, če je bila izdelku dodana askorbinska kislina; pri sterilizaciji pa se je najbolje ohranila z dodatkom askorbinske kisline in α – tokoferola. V obeh primerih so paštete vsebovale okoli 21 mg CoQ₁₀/100g.

2.5 KOKOŠI NESNICE LOHMANN

Kokoši nesnice lohmann imajo rjavo obarvano perje in jih najdemo na številnih trgih po svetu, saj so znane po dobrih proizvodnih lastnostih. Jajčna lupina je rjave barve, njena povprečna trdnost znaša več kot 35 N. Prikazujemo razlike v proizvodnih lastnostih kokoši lohmann v baterijski in pašni reji (preglednica 3) (Lohmann Brown Classic ..., 2011). Da

bi bili pri reji čim uspešnejši, moramo upoštevati tehnologijo reje za to nesnico (Lohmann Brown management..., 2007).

Preglednica 3: Proizvodne lastnosti kokoši nesnic lohmann v baterijski in pašni reji (Lohmann Brown Classic ..., 2011)

	<i>BATERIJSKA REJA</i>	<i>PAŠNA REJA</i>
Nesnost	50 % nesnost pri starosti kokoši 145 – 150 dni; vrh nesnosti 92 – 94 %	50 % nesnost pri starosti kokoši 145 – 150 dni; vrh nesnosti 92 – 94 %
Število jajc na kokoš	12 mesecev: 315 – 320 14 mesecev: 350 - 360	12 mesecev: 295 - 305 14 mesecev: 335 - 345
Masa jajca (g)	12 mesecev: 63,5 – 64,5 14 mesecev: 64,0 – 65,0	12 mesecev: 63,5 – 64,5 14 mesecev: 64,0 – 65,0
Telesna masa (kg)	20 tednov: 1,6 – 1,7 Na koncu nesnosti: 1,9 – 2,1	18 tednov: 1,6 – 1,7 Na koncu nesnosti: 1,9 – 2,1
Vitalnost (%)	V času nesnosti: 97 - 98 V času vzreje: 93 - 96	V času nesnosti: 97 - 98 V času vzreje: 90 - 92



Slika 6: Kokoš nesnica provenience lohmann brown (Lohmann Brown Classic..., 2011)

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

V preizkus je bilo vključenih 48 kokoši lahkega tipa lohman brown in 48 mater pitovnih piščancev provenience ross. Sprva so bile živali v talni reji, pri starosti 33 tednov (kokoši lohmann) in 36 tednov (kokoši ross) so jih vselili v individualne kletke. V preizkus so bile kokoši lohmann vključene od 35 do 47 tedna starosti, matere pitovnih piščancev provenience ross pa od 38 do 50 tedna starosti, s 14 dnevnim začetnim privajanjem.

Kokoši lahkega tipa so bile krmljene po volji, in sicer z osnovno krmno mešanico NSK, kokoši težkega tipa pa omejeno, v skladu z normativom, s popolno krmno mešanico NS VAL. Krmo so pripravili v mešalnici krmil Perutnine Ptuj. Poleg osnovne krmne mešanice so jim dodajali dodatek koencima Q₁₀, lipojske kisline ali mešanico obojega. Skupini Q so tako v krmo primešali 2 g Amil Q/kg krme, skupini L 0,4 g ALK/kg krme in skupini QL mešanico obojega 2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALK/kg krme. Dodatke so vmešali najprej v predmešalca skupaj s 5 kg osnovne krme, kar je trajalo tri minute, nato pa so mešanico iz predmešalca preložili v mešalec in dodali še 35 kg osnovne krme ter mešali še nadaljnjih deset minut. Pri vsaki seriji mešanja so vzeli dva vzorca po 0,5 kg krme za kemijske analize. Vzorce so nato zamrznili pri -20 °C.

Kokoši lahkega tipa so krmo dobivale po volji. Vsak dan so dobivale 125 g krme/žival, enkrat tedensko pa so prejele še 60 g krme/žival dodatka. Matere pitovnih piščancev provenience ross so krmili omejeno, v skladu z normativom za določeno starost. Vse živali so krmo dobile enkrat dnevno. Enkrat tedensko so bili stehtani ostanki krme pri posamezni živali, da so lahko izračunali povprečno porabo krme na žival na dan.

Kokoši tako lahkega kot težkega tipa so bile razdeljene v štiri skupine: kontrolna skupina (K), skupina v kateri so bile živali krmljene z dodatkom koencima Q₁₀ (Q), živali, ki so v krmo dobivale dodatek lipojske kisline (L) in skupina, v kateri so bile kokoši krmljene z dodatkom koencima Q₁₀ in lipojske kisline (QL). V vsaki izmed skupin je bilo po dvanajst živali (Kotnik, 2012).

V svojem diplomskem delu se bom osredotočila na kokoši lahkega tipa lohmann brown.

3.2 METODE DE LA

Drugi dan po končanem poskusu so živali zaklali v Šolski klavnici in razsekovalnici na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete. Živali so obešali na lire v zaporednem vrstnem redu, ki se je v naslednjem krogu ponovil. Najprej je bila na vrsti žival iz kontrolne (K) skupine, naslednja je bila žival iz skupine Q, sledila je žival skupine L in na koncu tista iz skupine QL. Najprej so jih omamili z električnim tokom in jim nato prerezali vratno žilo. Ko je kri odtekla iz kokoši so iz vsake vzeli vzorce jeter, prsno mišičnino, bedrno mišičnino, srce in abdominalno maščobo. Vzorce so shranili pri – 20 °C, da so tako počakali na nadaljnje raziskave. Vsebnost CoQ₁₀ je bila določena s tekočinsko kromatografijo, kot detektor pa je bil uporabljen masni spektrometer (LC-MS) (Kotnik, 2012).

V preglednici 4 je prikaz števila živali po skupinah ter število vzorcev za posamezno tkivo, pri čemer moramo upoštevati, da so bili vsi vzorci merjeni v paralelkah.

Preglednica 3: Prikaz števila kokoši nesnic po skupinah ter števila vzorcev za posamezna tkiva

SKUPINA	ŠTEVILO ŽIVALI V PREIZKUSU	ŠTEVILO VZORCEV			
		Prsna mišičnina *	Bedrna mišičnina *	Jetra *	Srce *
<i>K</i>	12	5	5	4	1
<i>Q</i>	12	5	5	4	1
<i>L</i>	12	5	5	4	1
<i>QL</i>	12	5	5	4	1

K – kontrolna skupina, Q – skupina z vmešanim koencimom Q₁₀ v krmo, L – skupina z vmešano lipojsko kislino v krmo in QL – skupina z vmešanim koencimom Q₁₀ in lipojsko kislino v krmo, * - vzorci so bili merjeni v paralelkah

Odtaljena tkiva smo narezali na koščke, jih sesekljali in odtehtali 30 g. Dodali smo destilirano vodo v razmerju 1:1 in nato homogenizirali z ultraturaxom. Vzeli smo 50 ml centrifugirko, v katero smo odtehtali 3 g homogenata in dodali 15 ml destilirane vode segrete na 40 °C. Vzorec smo najprej ročno stresali in ga nato za 15 min postavili v ultrazvočno kopel. Dodali smo 20 ml mešanice kloroforma in metanola v razmerju 2:1. Zopet smo stresali 5 min ročno in ga kasneje dali še za 15 min v ultrazvočno kopel. Sledilo

je 6 min centrifugiranja, s katerim smo ločili organsko fazo od vodne. Po centrifugiranju smo odpipetirali 10 ml spodnje organske faze vzorca in ga prenesli v 100 ml bučko z okroglim dnom. Ponovili smo ekstrakcijo s kloroformom in metanolom. Po končani ekstrakciji smo kloroform odparili z vakuumskim rotavaporjem (Büchi, Rotavapor R-114). Ostanek v bučki smo raztopili v 2 ml heksana in vzorce shranili v temne vialke. Topilo smo nato odparili z dušikom in do analize dobljene vzorce shranili pri -30 °C. Suh preostanek smo raztopili v 5 ml 2-propanola in analizirali s HPLC-APCI-MS metodo in po ustreznem redčenju tudi z QTLC.

Na Kemijskem inštitutu v Ljubljani so nato izmerili koncentracije CoQ₁₀ v tkivih kokoši nesnic lohmann po skupinah. Pri prsni in bedrni mišičnini so izmerili pet vzorcev, pri srcu enega in pri jetrih štiri. Vsi vzorci so bili merjeni v paralelkah.

3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Za analizo vsebnosti koencima Q₁₀ v tkivih smo predpostavili normalno (Gaussovo) porazdelitev in uporabili naslednji model:

$$y_{ijk} = \mu + P_i + G_j + PG_{ij} + e_{ijk}$$

y_{ijk} = opazovana lastnost (vsebnost CoQ₁₀ v prsni in bedrni mišičnini, srcih, jetrih)

μ = srednja vrednost populacije

α = srednja vrednost

P_i = vpliv proizvodnega tipa živali (i = lahki tip-lohmann, težki tip-ross)

G_j = vpliv poskusne skupine (j = štiri skupine: K, Q, L, QL)

PG_{ij} = vpliv interakcije med proizvodnim tipom živali in poskusno skupino

e_{ijk} = ostanek

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Zanimalo nas je, kako se dodatek koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmi odraža v tkivih kokoši nesnic. Kokoši smo krmili po volji, krmni mešanici za skupino Q smo v krmo primešali 2 g Amil Q/kg, skupini L 0,4 g ALK/kg in za skupino QL mešanico obojega, 2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALK/kg.

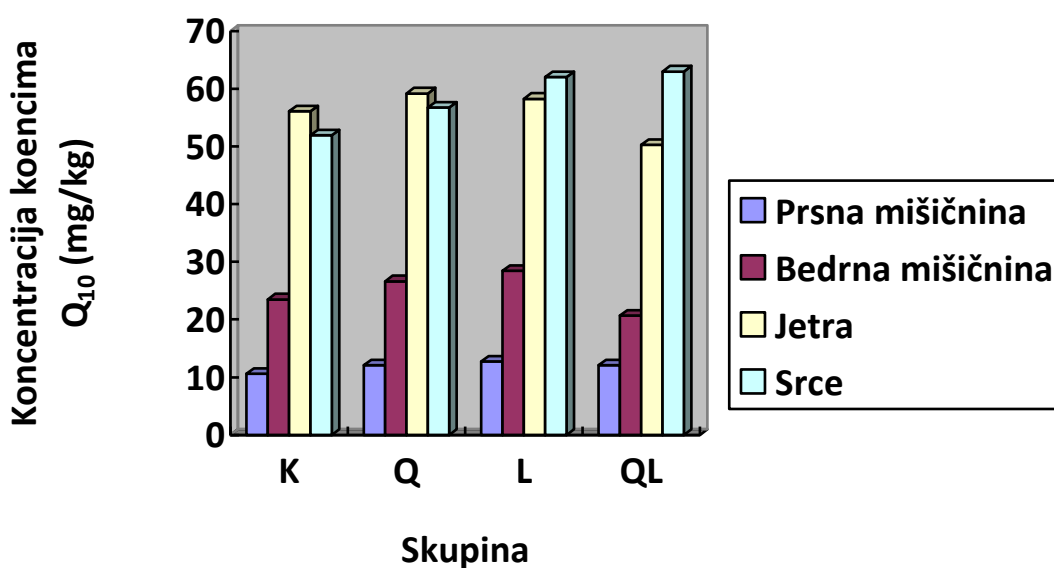
4.1 OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI

Iz preglednice 5 je razvidno, da je vsebnost koencima Q₁₀ v tkivih večja po krmljenju s krmo, ki je s tem koencimom obogatena. Izjema je le vsebnost CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih skupine QL. Največ koencima Q₁₀ vsebuje srce, vendar samo v skupinah L in QL, medtem ko je v skupinah K in Q večja koncentracija koencima Q₁₀ v jetrih. Tema dvema organoma nato sledi še bedrna mišičnina, najmanj koencima Q₁₀ pa vsebuje prsna mišičnina. V prsni mišičnini je največja vsebnost koencima Q₁₀ v skupini L, 12,69 mg CoQ₁₀/kg; v bedrni mišičnini prav tako v skupini L, in sicer 28,42 mg CoQ₁₀/kg; v jetrih v skupini Q, 59,18 mg CoQ₁₀/kg; v srcu pa v skupini QL, in sicer 62,96 mg CoQ₁₀/kg. Najmanjšo vrednost koencima Q₁₀ smo zabeležili, poleg kontrolne skupine, v prsni mišičnini skupine Q, in sicer 12,04 mg CoQ₁₀/kg (preglednica 5, slika 7). Tudi Volk in Brus (2009) sta ugotovila povečanje koncentracije CoQ₁₀ v bedrni in prsni mišičnini pitovnih piščancev, in to sorazmerno s časom krmljenja.

Preglednica 4: Statistični parametri za koncentracije koencima Q₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih kokoši lahkega tipa

SKUPINA	TKIVA				
		<i>Prsna mišičnina</i>	<i>Bedrna mišičnina</i>	<i>Jetra</i>	<i>Srce</i>
K	N	5	5	4	1
	POVP.	10,57	23,50	56,09	51,94
	SD	0,67	3,10	8,31	/
	MIN	9,54	19,06	47,07	/
	MAX	11,51	28,32	68,10	/
Q	N	5	5	4	1
	POVP.	12,04	26,63	59,18	56,71
	SD	1,91	1,67	3,55	/
	MIN	9,63	24,13	53,80	/
	MAX	14,80	29,29	65,13	/
L	N	5	5	4	1
	POVP.	12,69	28,42	58,26	62,03
	SD	1,29	1,41	14,01	/
	MIN	10,81	26,76	42,53	/
	MAX	15,02	31,64	83,12	/
QL	N	5	5	4	1
	POVP.	12,08	20,66	50,27	62,96
	SD	2,73	1,88	4,79	/
	MIN	7,75	17,32	41,45	/
	MAX	17,21	23,69	55,64	/

K-kontrolna skupina, Q-dodatek koencima Q₁₀ v krmo, L-dodatek lipojske kisline v krmo, QL-dodatek koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo, N-število meritev, POVP.-povprečna vsebnost, SD-standardni odklon, MIN - najmanjša vsebnost, MAX - največja vsebnost



Slika 7: Koncentracija koencima Q₁₀ (mg/kg) po skupinah v tkivih kokoši lahkega tipa

4.2 PRIMERJAVA VSEBNOSTI KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH KOKOŠI IN PITOVIH PIŠČANCEV

Penko (2008) je raziskovala vsebnost koencima Q₁₀ v bedrni in prsni mišičnini pitovnih piščancev ross, Halilovič (2008) pa v drobovini. Piščanci so bili v poskus vključeni 41 dni in so dobivali krmo BRO – Grower (do 35. dne starosti), po 35. dnevu starosti pa BRO – Finišer 2. V krmo so primešali 5 mg CoQ₁₀/kg. V našo raziskavo so bile vključene kokoši lahkega tipa lohmann brown, ki so dobivale osnovno krmno mešanico NSK po volji in matere pitovnih piščancev ross, ki so krmo dobivale omejeno, v skladu z normativom, s popolno krmno mešanico za plemenske jate NS VAL. Poskus je trajal 12 tednov in v tem času naj bi kokoši dnevno zaužile 5 mg CoQ₁₀ oz. 50 mg lipojske kisline. V ta namen smo jim v krmo primešali 2 g Amil Q/kg (dodatek koencima Q₁₀), 0,4 g ALA/kg (dodatek lipojske kisline) ali pa mešanico obojega, 2 g Amil Q/kg krme in 0,4 g ALA/kg.

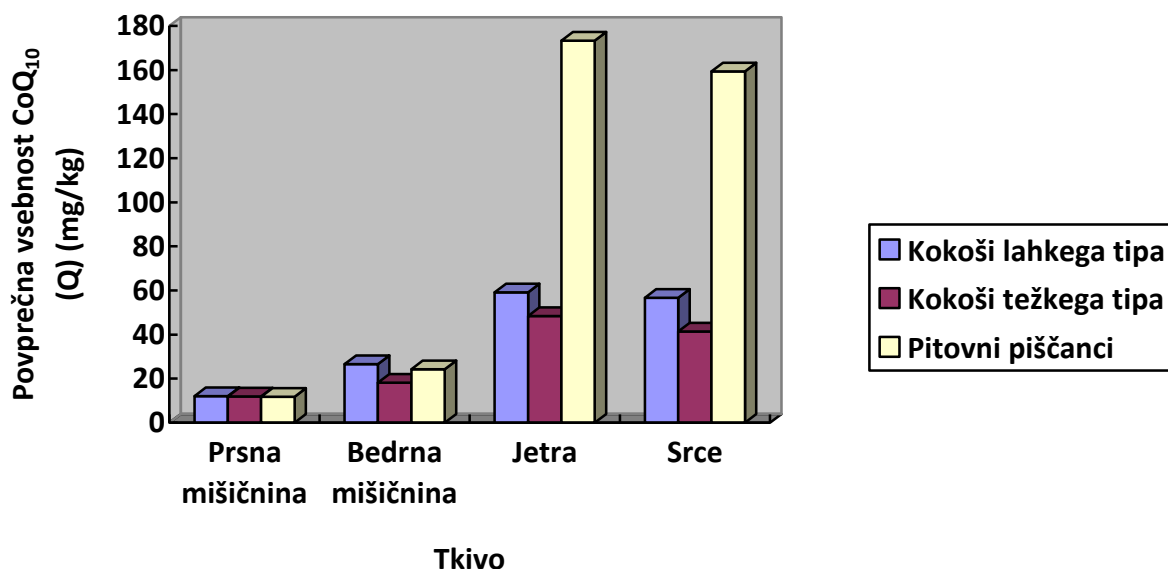
V kontrolni skupini so si vsebnosti koencima Q₁₀ v prsni in bedrni mišičnini pri lahkem in težkem tipu kokoši ter pri pitovnih piščancih podobne in se gibljejo v okviru od 8,89 mg/kg do 12,47 mg/kg v prsni mišičnini in od 17,22 mg/kg do 23,50 mg/kg v bedrni mišičnini, medtem ko je v jetrih in srcu v kontrolni skupini pitovnih piščancev vsebnosti približno trikrat večja kot pri obeh tipih kokoši. Enako je pri skupini, ki ji je bil v krmo primešan koencim Q₁₀. V Q skupini je povprečna vsebnost koencima Q₁₀ v prsni mišičnini pitovnih piščancev znašala 11,78 mg CoQ₁₀/kg tkiva, pri kokoših lahkega tipa 12,04 mg CoQ₁₀/kg, pri težkem tipu kokoši pa 11,96 mg CoQ₁₀/kg. Pri pitovnih piščancih je bila povprečna vsebnost izmerjena v skupinah piščancev, ki so bili krmljeni s krmo s primešanim koencimom Q₁₀ 10 dni, 20 dni, 30 dni in 40 dni. Pri kokoših lahkega in težkega tipa pa so bile povprečne vsebnosti izmerjene v skupini kokoši, ki so bile s krmo z dodatkom koencima Q₁₀ krmljene 12 tednov. Pri pitovnih piščancih je bilo pri vsakem tkivu izmerjenih po šest vzorcev, medtem ko je naša raziskava temeljila na petih vzorcih prsne in bedrne mišičnine, štirih vzorcih jeter in z enim vzorcem srca. V obeh raziskavah so bili vzorci merjeni v paralelkah. Tudi v bedrni mišičnini so si vsebnosti CoQ₁₀ podobne in znašajo 24,32 mg CoQ₁₀/kg pri pitovnih piščancih, 26,63 mg CoQ₁₀/kg pri kokoših lahkega tipa in 18,12 mg CoQ₁₀/kg pri kokoših težkega tipa. Razlika je bila očitna pri vsebnosti koencima Q₁₀ v jetrih in srcu pitovnih piščancev in kokoših nesnicah ter materah pitovnih piščancev. Tudi ta raziskava (Halilovič, 2008) je temeljila na enakem vzorcu živali kot Penko (2008), vendar pa se tukaj vsebnosti koencima Q₁₀ v tkivih zelo

razlikujejo med pitovnimi piščanci in obema tipoma kokoši. Povprečna vsebnost CoQ₁₀ v jetrih pitovnih piščancev je bila 173,34 mg CoQ₁₀/kg in v srcu 159,34 mg CoQ₁₀/kg; medtem ko so vsebnosti pri kokoših nesnicah v jetrih znašale 59,18 mg CoQ₁₀/kg in v srcu 56,71 mg CoQ₁₀/kg; pri kokoših težkega tipa pa 48,43 mg CoQ₁₀/kg v jetrih in 41,47 mg CoQ₁₀/kg v srcu. Vsebnosti koencima Q₁₀ v jetrih in srcu pitovnih piščancev so bile približno trikrat večje kot pri odraslih kokoših lahkega in težkega tipa (preglednica 6, slika 8). Bhagavan in Chopra (2006, cit. po Kotnik, 2012) navajata, da naj bi bile največje koncentracije CoQ₁₀ v srcu, kar razlagajo z velikimi energijskimi potrebami tega organa. V naši raziskavi so bile med vsemi proučevanimi tkivi največje koncentracije v jetrih. Enake ugotovitve navaja tudi Jazbec Križman (2011) pri pitovnih piščancih.

Preglednica 5: Povprečna vsebnost CoQ₁₀ (mg/kg tkiva) v tkivih v kontrolni skupini in skupini, ki je imela v krmo primešan koencim Q₁₀

	KOKOŠI LAHKEGA TIPA		KOKOŠI TEŽKEGA TIPA		PITOVNI PIŠČANCI	
	<i>K</i>	<i>Q</i>	<i>K</i>	<i>Q</i>	<i>K</i>	<i>Q</i>
Prsna mišičnina	10,57 (n = 5)	12,04 (n = 5)	12,47 (n = 5)	11,96 (n = 5)	8,89 (n = 6)	11,78 (n = 6)
Bedrna mišičnina	23,50 (n = 5)	26,63 (n = 5)	17,22 (n = 5)	18,12 (n = 5)	21,89 (n = 6)	24,32 (n = 6)
Jetra	56,09 (n = 4)	59,18 (n = 4)	53,64 (n = 4)	48,43 (n = 4)	168,95 (n = 6)	173,34 (n = 6)
Srce	51,94 (n = 1)	56,71 (n = 1)	47,83 (n = 1)	41,47 (n = 1)	136,72 (n = 6)	159,34 (n = 6)

K – povprečne vsebnosti koencima Q₁₀ v kontrolni skupini, Q – povprečne vsebnosti koencima Q₁₀ pri živalih, ki so prejemale krmo s primešanim koencimom Q₁₀, n = število vzorcev



Slika 8: Povprečne vsebnosti CoQ₁₀ (Q) v tkivih kokoši lahkega tipa in težkega tipa ter pitovnih piščancev, ki so uživali krmo z dodatkom CoQ₁₀

4.3 UČINEK DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA KONCENTRACIJO KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH KOKOŠI LAHKEGA TIPRA

Koncentracije CoQ₁₀ v prsni mišičnini kokoši nesnic so v vseh poskusnih skupinah (Q, L in QL) značilno večje kot v kontrolni skupini, a med poskusnimi skupinami ni značilnih razlik. Prav tako so koncentracije CoQ₁₀ v srcu v vseh poskusnih skupinah značilno večje kot v kontrolni skupini, a so značilne razlike tudi znotraj poskusnih skupin. Moramo pa poudariti, da je bila koncentracija CoQ₁₀ v srcu izmerjena le na enem vzorcu oz. dveh paralelkah. V koncentraciji CoQ₁₀ v jetrih se od kontrolne skupine značilno razlikuje le skupina QL, kjer so vsebnosti značilno manjše. V koncentraciji CoQ₁₀ v bedrni mišičnini se značilno razlikujejo vse skupine, in sicer so v skupini Q in L koncentracije CoQ₁₀ značilno večje, v skupini QL pa značilno manjše kot koncentracije CoQ₁₀ v kontrolni skupini.

Dodatek CoQ₁₀ in ALK v krmo je imel pozitiven učinek na povečano koncentracijo CoQ₁₀ v obeh vrstah mišičnine in obeh organih tako v skupini Q kot L s tem, da je bilo povečanje koncentracije CoQ₁₀ v jetrih neznačilno. Hkratni dodatek CoQ₁₀ in ALA v krmni obrok

kokoši je povzročil značilno povečanje koncentracije CoQ₁₀ v prsni mišičnini in srcu ter značilno zmanjšanje v bedrni mišičnini in jetrih (preglednica 7).

Preglednica 6: Razlike med skupinami v koncentraciji CoQ₁₀ (mg/kg) v posameznih tkivih kokoši nesnic lohmann

SKUPINA	PRSNA MIŠIČNINA	BEDRNA MIŠIČNINA	JETRA	SRCE
K	10,6 ± 0,6 (9,3; 11,8) ^b	23,5 ± 0,9 (21,7; 25,3) ^{bd}	55,8 ± 3,7 (48,5; 63,0) ^{ab}	46,7 ± 8,4 (30,2; 63,2) ^{abcd}
Q	12,0 ± 0,6 (10,8; 13,2) ^{ab}	26,6 ± 0,9 (25,0; 28,3) ^{ab}	59,2 ± 3,5 (52,4; 66,0) ^{ab}	51,5 ± 8,4 (35,0; 68,0) ^{ab}
L	12,7 ± 0,6 (11,5; 13,9) ^{ab}	28,4 ± 0,9 (26,7; 30,1) ^a	58,3 ± 3,5 (51,5; 65,1) ^{ab}	50,1 ± 9,5 (31,4; 68,8) ^{abc}
QL	12,1 ± 0,6 (10,9; 13,3) ^{ab}	19,2 ± 0,9 (18,2; 21,7) ^{cd}	50,0 ± 3,7 (42,7; 57,2) ^a	63,3 ± 8,1 (47,5; 79,1) ^b

¹ – vsebnosti z različnimi črkovnimi oznakami (a,b,c,...) se značilno razlikujejo med skupinami; prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vsebnost; druga vsebnost v celici ocenjuje standardno napako; tretja vsebnost pa 95 % interval zaupanja

4.4 RAZLIKA MED LAHKIM IN TEŽKIM TIPOM KOKOŠI V UČINKU DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ IN LIPOJSKE KISLINE V KRMO KOKOŠI NA KONCENTRACIJO KOENCIMA Q₁₀ V TKIVIH

V preglednici 8 in 9 so prikazane razlike v koncentraciji CoQ₁₀ v tkivih kokoši med skupinami in genotipoma (lahki tip kokoši - kokoši nesnice in težki tip kokoši - matere pitovnih piščancev). V bedrni mišičnini je v vseh skupinah lahkega tipa kokoši značilno več koencima Q₁₀ kot pri težkem tipu kokoši. Večje vsebnosti koencima Q₁₀ v bedrni kot v prsni mišičnini kažejo na to, da je bedrna mišičnina presnovno aktivnejša od svetle prsne mišičnine. To je ugotovila že Jazbec Križman (2011). Zanimivo, da je pri obeh genotipih v bedrni in v prsni mišičnini največja vsebnost koencima Q₁₀ v skupini L. Največje koncentracije koencima Q₁₀ so bile v jetrih, prav to pa je ugotovila tudi Jazbec Križman (2011) pri pitovnih piščancih. Jetra so prvo mesto v organizmu, kjer se kopičijo lipofilne molekule zaužite s krmo. Jetra verjetno uravnavajo zaužito količino CoQ₁₀ z endogeno sintezo CoQ₁₀ (Jazbec Križman, 2011).

V prsni mišičnini kokoši nesnic je značilno manjša koncentracija CoQ₁₀ (11,8 ± 0,3 mg/kg) kot v prsni mišičnini mater pitovnih piščancev (12,9 ± 0,3 mg/kg). Nasprotno pa je v bedrni mišičnini nesnic značilno večja koncentracija CoQ₁₀ (24,6 ± 0,4 mg/kg) kot pri materah pitovnih piščancev (17,7 ± 0,4 mg/kg) (preglednica 8). V jetrih in srcu ni značilnih razlik med lahkim in težkim tipom kokoši (preglednica 9).

Preglednica 7: Razlike v koncentraciji koencima CoQ₁₀ (mg/kg) v mišičnini med skupinami in genotipoma

VSEBNOST CoQ ₁₀	GENOTIP ¹		
	SKUPINA ²	LAHKI TIP KOKOŠI	TEŽKI TIP KOKOŠI
PRSNA MIŠIČNINA	K 11,5 ± 0,5 (10,6; 12,4) ^a	11,8 ± 0,3 (11,2; 12,5) ^A	12,9 ± 0,3 (12,3; 13,6) ^B
	L 13,3 ± 0,4 (12,5; 14,2) ^a	10,6 ± 0,6 (9,3; 11,8) ^b	12,5 ± 0,7 (11,2; 13,7) ^{ab}
	Q 12,0 ± 0,4 (11,2; 12,9) ^a	12,7 ± 0,6 (11,5; 13,9) ^{ab}	14,0 ± 0,6 (12,8; 15,2) ^a
	QL 12,7 ± 0,4 (11,9; 13,6) ^a	12,0 ± 0,6 (10,8; 13,2) ^{ab}	12,0 ± 0,6 (10,8; 13,2) ^{ab}
BEDRNA MIŠIČNINA	K 20,4 ± 0,6 (19,1; 21,6) ^a	24,6 ± 0,4 (23,8; 25,5) ^A	17,7 ± 0,4 (16,8; 18,5) ^B
	L 23,8 ± 0,6 (22,6; 25,0) ^{ab}	23,5 ± 0,9 (21,7; 25,3) ^{bd}	17,2 ± 0,9 (15,5; 18,9) ^{ce}
	Q 22,4 ± 0,6 (21,2; 23,6) ^c	28,4 ± 0,9 (26,7; 30,1) ^a	19,2 ± 0,9 (17,5; 20,8) ^{ce}
	QL 18,0 ± 0,6 (16,8; 19,3) ^b	26,6 ± 0,9 (25,0; 28,3) ^{ab}	18,1 ± 0,9 (16,4; 19,9) ^{ce}
		19,2 ± 0,9 (18,2; 21,7) ^{cd}	16,2 ± 0,9 (14,5; 17,8) ^e

Skupina² – povprečje za oba proizvodna tipa; ¹ – vsebnosti z različnimi črkovnimi oznakami (A,B,...) se značilno razlikujejo med genotipoma; ² – vsebnosti z različnimi črkovnimi oznakami (a,b,c,...) se značilno razlikujejo med skupinami; prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vsebnost; druga številka v celici ocenjuje standardno napako

Preglednica 8: Razlike v koncentraciji koencima CoQ₁₀ (mg/kg) v drobovini med skupinami in genotipoma

VSEBNOST CoQ ₁₀	GENOTIP ¹		
	SKUPINA ²	LAHKI TIP KOKOŠI	TEŽKI TIP KOKOŠI
JETRA		55,8 ± 2,0 (51,8; 59,8) ^A	58,3 ± 2,0 (54,4; 62,1) ^A
	K 54,7 ± 2,7 (49,5; 59,9) ^a	55,8 ± 3,7 (48,5; 63,0) ^{ab}	53,6 ± 3,5 (46,8; 60,4) ^{ab}
	L 61,5 ± 2,6 (56,4; 66,5) ^a	58,3 ± 3,5 (51,5; 65,1) ^{ab}	64,6 ± 3,5 (57,8; 71,5) ^b
	Q 53,8 ± 2,6 (48,8; 58,9) ^a	59,2 ± 3,5 (52,4; 66,0) ^{ab}	48,4 ± 3,5 (41,6; 55,2) ^a
	QL 58,1 ± 2,7 (52,9; 63,3) ^a	50,0 ± 3,7 (42,7; 57,2) ^a	66,3 ± 3,5 (59,5; 73,1) ^b
SRCE		52,9 ± 7,7(37,8; 68,0) ^A	34,0 ± 8,3 (17,6; 50,3) ^A
	K 41,3 ± 8,3 (25,1; 57,6) ^{ab}	46,7 ± 8,4 (30,2; 63,2) ^{abcd}	35,9 ± 9,5 (17,2; 54,6) ^{acd}
	L 38,6 ± 8,8 (21,4; 55,7) ^{ab}	50,1 ± 9,5 (31,4; 68,8) ^{abc}	27,0 ± 9,5 (8,4; 45,7) ^d
	Q 40,5 ± 8,3 (24,3; 56,8) ^a	51,5 ± 8,4 (35,0; 68,0) ^{ab}	29,6 ± 9,5 (10,9; 48,2) ^{cd}
	QL 53,3 ± 8,0 (37,6; 69,0) ^b	63,3 ± 8,1 (47,5; 79,1) ^b	43,3 ± 9,5 (24,6; 62,0) ^{abcd}

Skupina² – povprečje za oba proizvodna tipa;¹ – vsebnosti z različnimi črkovnimi oznakami (A,B,...) se značilno razlikujejo med genotipoma; ² – vsebnosti z različnimi črkovnimi oznakami (a,b,c,...) se značilno razlikujejo med skupinami; prva številka v celici označuje ocenjeno srednjo vsebnost; druga številka v celici ocenjuje standardno napako

5 SKLEPI

Po 12 - tedenskem krmljenju kokoši nesnic s krmo, v katero je bil primešan CoQ₁₀, alfa lipojska kislina ter skupaj CoQ₁₀ in lipojska kislina, smo ugotovili naslednje:

- Dodatek koencima Q₁₀ v krmo kokoši nesnic je po 12. tedenskem krmljenju vplival na značilno povečano koncentracijo CoQ₁₀ v prsni mišičnini, bedrni mišičnini in srcu ter neznačilno povečano koncentracijo v jetrih.
- V poskusni skupini L, ki je prejela v krmo primešano lipojsko kislino, je značilno večja koncentracija koencima Q₁₀ v vseh tkivih, razen v jetrih, kjer je neznačilno povečana koncentracija CoQ₁₀.
- V skupini QL, ki je prejela v krmo primešan koencim Q₁₀ in lipojsko kislino, je v prsni mišičnini in srcu značilno povečana koncentracija CoQ₁₀, v jetrih in bedrni mišičnini pa značilno zmanjšana koncentracija CoQ₁₀.
- V prsni mišičnini kokoši nesnic je značilno manjša koncentracija CoQ₁₀ ($11 \pm 0,3$ mg/kg) kot v prsni mišičnini mater pitovnih piščancev ($12,9 \pm 0,3$ mg/kg). Nasprotno pa je v bedrni mišičnini nesnic značilno večja koncentracija CoQ₁₀ ($24,6 \pm 0,4$ mg/kg) kot pri materah pitovnih piščancev. V jetrih in srcu ni značilnih razlik med proizvodnima tipoma kokoši.

6 POVZETEK

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako dodatek koencima Q₁₀ in alfa lipojske kisline v krmo kokoši vpliva na njegovo vsebnost v tkivih kokoši nesnic. Pričakovali smo, da se bo z dodatkom koencima Q₁₀ v krmo kokoši povečala tudi njegova vsebnost v tkivih. Največjo koncentracijo smo pričakovali v srcu, saj je srčna mišica zelo aktivna in vsebuje veliko mitohondrijev, ki so vir koencima Q₁₀. V bedrni mišičnini smo pričakovali večje vsebnosti koencima Q₁₀ kot v prsni mišičnini, saj je temna mišičnina aktivnejša od svetle.

V poskus smo vključili 48 kokoši lahkega tipa lohmann brown, ki so bile pri 33 tednih starosti vseljene v baterijske kletke in razdeljene v štiri skupine. Kontrolna skupina je bila krmljena z osnovno krmno mešanico NSK, skupina Q je imela v krmo primešan 2 g Amil Q/kg (koencim Q₁₀); skupina L je imela v krmo dodano 0,4 g ALK/kg (lipojska kislina); skupina QL pa dodatek obojega (2 g Amil Q/kg krme + 0,4 g ALK/kg). Poskus je trajal dvanajst tednov v starosti kokoši od 35 do 47 tednov. Na koncu poskusa so živali zaklali v šolski klavnici. Iz vsake živali so vzeli vzorce jeter, srca, prsne in bedrne mišičnine ter vzorce shranili pri -20 °C. Pri vsaki skupini (K, Q, L in QL) smo dobili pet vzorcev prsne in bedrne mišičnine, štiri vzorce jeter ter en vzorec srca. Vse določitve koncentracij CoQ₁₀ v posameznem vzorcu so bile opravljene v paralelkah.

Odtaljena tkiva smo narezali na koščke, jih sesekljali in odtehtali, dodali destilirano vodo in homogenizirali. Odtehtali smo homogenat in mu dodali destilirano vodo. Vzorec smo najprej ročno stresali in ga nato postavili v ultrazvočno kopel. Dodali smo mu mešanico kloroforma in metanola. Ponovili smo stresanje in ultrazvočno kopel, nato je sledila centrifugacija, s katero smo ločili organsko fazo od vodne. Vzorec organske faze smo prenesli in ponovili ekstrakcijo z metanolom in kloroformom. Po končani ekstrakciji smo kloroform odparili z vakumskim rotavaporjem, ostanek raztopili v 2 ml heksana in vzorce shranili v temne vialo. Z dušikom smo odparili topilo in do analize dobljene vzorce shranili pri -30 °C. Na Kemijskem inštitutu v Ljubljani so nato izmerili koncentracije CoQ₁₀ v tkivih kokoši.

Rezultati raziskav so pokazali, da je dodatek koencima Q₁₀ v krmo kokoši nesnic po 12 tedenskem krmljenju vplival na značilno povečanje koncentracije CoQ₁₀ v prsni mišičnini, bedrni mišičnini in srcu ter neznačilno povečanje koncentracije CoQ₁₀ v jetrih. Enako je

bilo v skupini kokoši, ki so v krmo prejemale primešano lipojsko kislino (skupina L). V skupini kokoši, ki je v krmo dobivala primešan koencim Q₁₀ in lipojsko kislino (skupina QL) je bila značilno večja koncentracija CoQ₁₀ v prsni mišičnini in srcu in značilno manjša koncentracije CoQ₁₀ v bedrni mišičnini in jetrih. Med kokošmi lahkega in težkega tipa je bila značilna razlika v prsni in bedrni mišičnini. V prsni mišičnini kokoši nesnic je bila značilno manjša koncentracija CoQ₁₀ ($11 \pm 0,3$ mg/kg) kot v prsni mišičnini mater pitovnih piščancev ($12,9 \pm 0,3$ mg/kg). Nasprotno pa je bila v bedrni mišičnini nesnic značilno večja koncentracija CoQ₁₀ ($24,6 \pm 0,4$ mg/kg) kot pri materah pitovnih piščancev, a v jetrih in srcu ni bilo značilnih razlik med genotipoma.

7 VIRI

- Armstrong B. F. 1989. *Biochemistry*. 3rd edition. New York, Oxford. Oxford University Press: 310 str.
- Bentinger M., Brismar K., Dallner G. 2007. The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S41-S50
- Boyer R. 2005. *Temelji biokemije*. Ljubljana, Študentska založba: 432 str.
- Coenzyme Q₁₀. 2007. *Alternative Medicine Review*, 12, 2: 159-168 (jun. 2007).
<http://www.thorne.com/altmedrev/fulltext/12/2/159.pdf> (3. sept. 2013)
- Gilbert F. Hiram. 1992. *Basic concepts in biochemistry: a student's survival guide*. New York, McGraw-Hill, Inc: 225 str.
- Halilovič J. 2008. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v drobovini. *Diplomska naloga*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: 57 str.
- Jazbec – Križman P. 2011. Vpliv dodanega CoQ₁₀ na njegovo vsebnost v tkivih piščancev in zmanjševanje oksidacijskega stresa med rejo. *Doktorska disertacija*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: 116 str.
- Jagrič Munih S. 2012. Farmokinetika koencima Q₁₀ pri športnih konjih kasačih in njegov pomen pri preprečevanju oksidativnega stresa pri vadbi. *Doktorska disertacija*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta: 126 str.
- Kamisoyama H., Honda K., Kitaguchi K., Hasegawa S. 2010. Transfer of Dietary Coenzyme Q₁₀ into the Egg Yolk of Laying Hens. *Japan Poultry Science*, 47: 28-33
- Koren M. 2009. Razvoj funkcionalnega mesnega izdelka – jetrne paštete s koencimom Q₁₀. *Diplomska naloga*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: 69 str.
- Kotnik B. 2012. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline proizvodnje lastnosti in lastnosti jajc pri različnih genotipih kokoši. *Magistrsko delo*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 140 str.

Lohmann Brown Classic Management Guide Colony Systems. 2011. Lohmann GB.
<http://www.lohmanngb.co.uk/lohmann-brown-classic> (22. jan. 2014)

Lohmann Brown Management Guide. 2007. Stonegate.
http://www.stonegate.co.uk/pdfs/lohmann_management.pdf (4. sept. 2013)

Packer L., Tritschler H. J., Wessel K. 1997. Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha – lipoic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 22: 359–378

Penko A. 2008. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v mesu. Diplomaska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za živilstvo: 83 str.

Phillip J. 2010. Coenzyme Q₁₀ Boosts Energy, Promotes Heart Health and Assists Weight Loss. *IronMag* (16. okt. 2010)
<http://www.ironmagazine.com/blog/2010/coenzyme-q10-boosts-energy-promotes-heart-health-and-assists-weight-loss/> (19. sept. 2013)

Prošek M., Šmidovnik A., Fir Milivojevič M., Stražišar M., Golc – Wondra A., Andrenšek S., Žmitek J. 2005. New water – soluble form of coenzyme Q₁₀ in the form of an inclusion complex with [beta] – cyclodextrin, process of preparing, and use thereof. International publication no. WO 2005111224 A2.

Prošek M., Šmidovnik A., Jazbec P. 2008. Vloga koencima Q₁₀ pri pretvorbi energije in obrambi mehanizma. *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 okt. 2000. Zlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 48-51

Rus R., Rus P. 2008. Koencim Q₁₀. *Zdravstveno varstvo*, 47: 89-98

Sovič M. 2010. Vpliv dodanega koencima Q₁₀ in lipojske kisline v krmo kokoši na fizikalne lastnosti jajc. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 58 str.

Stocker R. 2002. Possible health benefits of coenzyme Q₁₀. Oregon, Oregon State University, Linus Pauling Institute (nov. 2002).

<http://lpi.oregonstate.edu/f-w02/coenzymeq10.html> (3. sept. 2013)

Tompkins B. 2014. CoQ₁₀ Proven benefits in heart failure patients. Life Extension Magazine (apr. 2014).

<http://www.lef.org/Magazine/2014/4/CoQ10-Proven-Benefits-In-Heart-Failure-Patients/Page-01> (9. jan. 2015)

Wolfson D. 2000. Alfa lipoic acid: The universal antioxidant. Nutrition Science News (okt. 2000).

http://www.chiro.org/nutrition/FULL/Lipoic_Acid_Universal_Antioxidant.shtml
(19. sept. 2013)

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

Žmitek J., Žmitek K. 2009. Koencim Q₁₀ kot prehransko dopolnilo in zdravilo.

Farmaceutski vestnik, 60: 150-157

ZAHVALA

Z diplomskim delom končujem šolanje in s tem še eno poglavje mojega življenja.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Antoniji HOLCMAN za vso pomoč, motivacijo, dragoceni čas, ki mi ga je namenila in podrobnejši pregled diplomskega dela.

Zahvaljujem se ekipi na Kemijskem inštitutu v Ljubljani, ki mi je pomagala pri mojem praktičnem delu in mi stala ob strani, ko je šlo kaj narobe.

Največja zahvala pa moji družini, ki me je tekom študija spodbujala in mi s tem pomagala prebroditi težko, a vztrajno pot do koncam, ter mojemu fantu Klemnu in hčerkici Zali, ki sta mi dala smisel in upanje, da je vredno končati.

Hvala tudi vsem prijateljem, ki sem jih spoznala tekom študija in smo skupaj hodili po tej poti.

Skoraj nikogar ni, ki bi bil povsem brez nadarjenosti. Izobrazba jo odkrije, pridnost jo nadgradi, značaj jo ohrani (Curt Goetz).