SZENT ISTVÁN EGYETEM

A LIKOPIN FELSZÍVÓDÁSA, HASZNOSULÁSA ÉS GYAKORLATI SZEREPE TOJÓMADARAK TAKARMÁNYOZÁSÁBAN (JAPÁN FÜRJÖN VÉGZETT MODELLKÍSÉRLETEK)

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Papócsi-Réthy Katalin

GÖDÖLLŐ
2012

A doktori iskola

megnevezése: **ÁLLATTENYÉSZTÉS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

tudományága: **ÁLLATTENYÉSZTÉS-TUDOMÁNY**

vezetője: **Dr. Mézes Miklós egyetemi tanár,**
MTA levelező tagja
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

Témavezető: **Dr.Kiss Zsuzsanna egyetemi docens és**
Dr. Bárdos László egyetemi tanár, az állatorvos-tudomány kandidátusai
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet
Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék

..... **.....**

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezetők jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS 7
1.1 A téma aktualitása 7
1.2. Célkitűzések 9
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 11
2.1 Karotinoidok 11
2.1.1 A karotinoidokról általánosságban 11
2.1.2. A karotinoidok jellemzése 12
2.1.3. A takarmányok karotinoid tartalma 14
2.1.3.1. Kísérleti takarmányok 17
2.1.4. A karotinoidok felszívódása 18
2.1.5. Likopin $C_{40}H_{56}$ 18
2.1.5.1. A likopin szerkezete, tulajdonságai, előfordulása 18
2.1.5.2. A likopin élettani hatásai emberekben 23
2.1.5.3. A likopin élettani hatásai állatokban 24
2.1.5.4. A likopin gyakorlati alkalmazása baromfitakarmányozásban 26
A likopin a tojómadarak takarmányozásában 27
3. ANYAG ÉS MÓDSZER 29
3.1 Kísérleti állatok 29
3.2 Kísérleti helyszín és tartástechnológia 29
3.3 Mintavétel és a minták előkészítése 30
3.3.1 Vérminták 30
3.3.2 Májminták 30
3.3.3. Bélszövet minták 31
3.3.4 Tojás minták 32
3.4 A kísérletek 32
3.4.1. Kísérleti takarmányok 32
3.4.1.1 Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás 32
3.4.1.2. A vizsgálatokhoz felhasznált likopinforrások likopin tartalmának meghatározása és a kísérleti dózisok kiszámítása 34
3.4.2. A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok likopinnal (1. kísérlet) 34
3.4.3. A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet) 36
3.4.4 A likopinkiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet) 37
3.4.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly valamint szintetikus likopin készítmény etetését követően (4. kísérlet) 39
3.5 Statisztikai értékelés 41
4. EREDMÉNYEK 43
4.1 Kísérleti takarmány 43
4.1.1 Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás 43
4.1.2 A vizsgálatokhoz szükséges likopinforrások likopin tartalmának meghatározása 44
4.2 A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok (1. kísérlet) 45
4.3 A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet) 48
4.4 A likopinkiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet) 53
4.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly és szintetikus likopin-készítmény etetését követően 58
A likopinmolekula felszívódási helye 59
A paradicsomtörköly, mint lehetséges likopinforrás hasznosulása 59

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK 62
5. KÖVETKEZTETÉSEK 63
5.1 Kísérleti takarmány 63
5.1.1. Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás 63
5.1.2 A vizsgálatokhoz szükséges likopinforrások likopin tartalmának meghatározása 63
5.2 A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok (1. kísérlet) 64
5.3 A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet) 65
5.4 A likopin-kiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet) 67
5.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly és szintetikus likopin készítmény etetését követően (4. kísérlet) 68
A likopin felszívódási helyének meghatározása 68
A likopin hasznosulása paradicsomtörköly és szintetikus likopin készítmény etetését követően 69
6. ÖSSZEFOGLALÁS 73
7. MELLÉKLETEK 77
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 93

RÖVIDÍTÉSEK

Rövidítés	Megnevezés
ADI	Acceptable Daily Intake (elfogadható napi bevitel)
BC	B-karotin
BSA	Bovine serum albumine
FRAP	Ferric reducing ability power (vasredukciós képesség)
HDL	High density lipoprotein (nagy sűrűségű lipoprotein)
HL-60	Human promyelocytic leukemia cells (humán promielocita leukémia sejtek)
HMG-CoA	Hidroximetil-glutaril koenzim-A
HU	Haugh Unit (Haugh-egység)
L	Likopin
LDL	Low density lipoprotein (kis sűrűségű lipoprotein)
MDA	Malondialdehid
NE	Nemzetközi egység
nm	nanométer
OD	Optical density (optikai sűrűség)
RB1	Retinoblastoma (retinoblasztóma)
ROL	Retinol
RP	Retinil-palmitát
SeFa	Serum fructose-amin (szérum fruktóz-amin)
Sz.a.	Sszárazanyag
TP	Total protein (összfehérje)
Tak.kg.	Takarmány kilogramm
VIS	Visible spectrum (látható tartomány)
YCF	Yolk Color Fan

1. BEVEZETÉS

1.1 A téma aktualitása

A világ karotinoid piaca 2010-ben 1,07 milliárd USA dollár volt, 2015-re pedig elérheti a 1,2 milliárd dollárt (Cosgrove, 2010). Ennek mintegy 60%-a takarmányokhoz adagolt karotinoid. Takarmány adalékanyagként legnagyobb mennyiségben eladott karotinoid a β-karotin, az asztaxantin és a kantaxantin. Míg az első provitamin aktivitású takarmány adalékanyag, addig az utóbbi kettő, elsősorban színező funkciót tölt be az aquakultúrában és baromfitakarmányozásban, bár egyéb, például antioxidáns hatásaikat is figyelembe veszik alkalmazásuk során. A baromfi termékeknek, mint pl. a bőrnek és a tojássárgájának tetszetősebbé tétele színezéssel a fogyasztói igények miatt általánosan alkalmazott. A tojássárgája színezésére azonban csupán igen kis hányadban alkalmaznak természetes eredetű növényi festékanyagokat, mint például a bársonyvirág kivonatát vagy a piros paprikaport, mert ezek kombinált használata gazdasági szempontból nem versenyképes a piacvezető, szintetikus asztaxantin, kantaxantin vagy apokarotin-észter színezékekkel szemben.

A „bio” élelmiszerek iránt egyre nő a kereslet világszerte, főképp a fejlett országokban. Az ökológiai gazdaságok termékei iránti igény és hozamuk növekszik, több országban a támogatásuk is jelentős mértékű. Az élelmiszerekben egyre nagyobb szerepet kapnak a természetes adalékanyagok. A tudatos táplálkozás, a „vegyszermentesség” mára közigény és az egészségtudatos életmód alapfeltétele. A különböző allergiás megbetegedésekben szenvedő emberek számát, amely évről-évre nő, jórészt a környezeti hatások, nemegyszer az élelmiszerekben is előforduló xenobiotikumok okozzák. Az allergiás megbetegedéseket, az immunrendszert megzavaró állapotnak tekinthetjük (Griem *et al*., 1998).

A tartós, krónikus környezeti terhelést jelentő vegyszer-, vagy a terápiás és túlzott mértékű gyógyszerbevitel, illetve a radioaktív sugárzást követő toxikus hatások egyik gyakori, és elsődleges, célszerve az immunrendszer. Az immunrendszer és a xenobiotikumok közötti kölcsönhatások három alapvető negatív hatást okozhatnak: 1. immunszupressziót (ezzel a fertőző betegségek előfordulásának fokozott kockázatát); 2. autoimmunitást (immunderegulációt) és 3. a xenobiotikumokra adott immunológiai választ, azaz allergiát (Berlin, 1987; Mekdeci, 2011).

A toxikus hatások lehetnek kémiai vagy fizikai jellegűek, de minden esetben gyengítik a szervezetet. A homeosztázis fenntartása érdekében a xenobiotikus hatások kivédéséhez, a biológiai antioxidáns védőrendszer hatékony működésére, azaz hatékony antioxidánsokra van szükség, amelyeket természetes és mesterségesen előállított adalékanyagokkal biztosíthatunk az emberi és állati szervezet számára.

Az állattenyésztésben az „organikus” (természetes vagy természetazonos) takarmány-adalékanyagok egyre inkább terjednek. A hozamfokozó antibiotikumok betiltását követően ma már a szerves savaké és egyes növényi eredetű szerves biológiailag aktív anyagoké, az ún. fitobiotikumoké a főszerep a kórokozók elleni védekezésben. Emellett az emésztési folyamatok hatékonyságát növelő fitogén adalékanyagok is gyakran részét képezik a receptúráknak. A tudatos fogyasztó olyan állati eredetű termékeket keres, melynek megtermelése során lehetőség szerint természetes eredetű takarmány-adalékanyagokat alkalmaztak az állatok takarmányozásában. Ennek a tendenciának kell, hogy része legyen a növényi eredetű színezőanyagok térnyerése is.

Az elmúlt évtizedekben, a hazai szakirodalomban is több összefoglaló közlemény jelent meg az állatorvosi kutatásokról (Gaál *et al.*, 1996; Mézes *et al.*, 2003) a szabadgyökök károsító hatásaival, valamint a szervezet antioxidáns védelmi rendszerének vizsgálatával kapcsolatban. Jól ismert, hogy számos humán betegség (érelmeszesedés, idegrendszeri károsodások, daganatos és autoimmun betegségek) kóroktanában is fontos szerepet tulajdonítanak az oxidatív stressznek (Lapenna *et al.*, 1998; Lachance *et al.*, 2001).

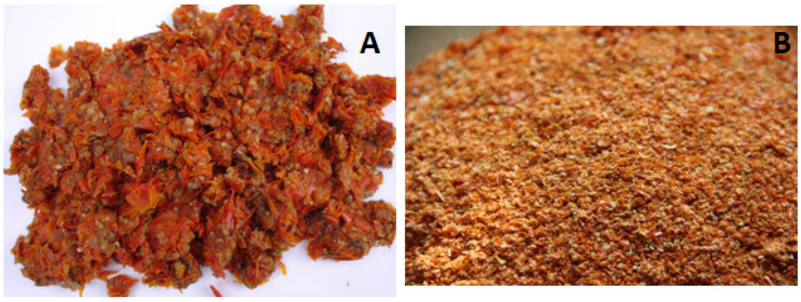
A karotinoidok természetes, kis molekulájú vegyületek, amelyek közül egyesek pro-retinoid hatásúak és nemcsak színeznek, de egyúttal hatékony antioxidánsok is. Ezek védik a szervezetet a fiziológiás és toxikus eredetű oxidációs folyamatok következtében keletkezett oxigén szabad gyökök, vagy egyéb oxidáló anyagok káros hatásaival szemben. A szervezet antioxidáns kapacitása a fiziológiás mértéket meghaladó, azaz káros, oxidációs hatásokkal szembeni védekezőképességet jelenti. Az antioxidáns kapacitás a rendelkezésre álló antioxidáns vegyületek vagy enzimek mennyiségének és aktivitásának, valamint a szervezetet ért oxidatív terhelés mértékének függvénye (Huang *et al.*, 2005). A karotinoidok közé sorolt vegyületek közül a likopin – amit a paradicsom (*Solanum lycopersicum*) különösen nagy mennyiségben tartalmaz – az egyik leghatékonyabb természetes antioxidáns, emellett citoprotektív tulajdonságú (*Leal et al.*, 1999). A likopinnak nincs provitamin hatása, azaz a szervezetben nem alakul át az anyagcsere során A-vitaminná. Antioxidáns kapacitása mellett, a sejtek közötti anyag- és információáramlásban (*cell-to-cell communication*) is részt vesz (Bertram és Vine, 2004), valamint az előzőekkel is összefüggő immunmodulációs hatása is kiemelendő (Rao és Agarwal, 1999).

A dolgozatomban bemutatott kísérleteim során japánfürjek takarmányát három, különböző likopin forrással (paradicsompüré, szintetikus likopinkészítmény és paradicsomtörköly) egészítettük ki, a vegyület egyes élettani hatásainak a tanulmányozása céljából. A japánfürj gyors fejlődési eréje, szaporasága, kis mennyiségű takarmány-igénye miatt kitűnő modellállat, mert az eredmények a gyakorlati szempontból lényeges tyúkfélékre is adaptálhatók (Klasing, 1998; Gregosits *et al.*, 2007).

1.2. Célkitűzések

A paradicsom a kedvező éghajlati viszonyok miatt Magyarország egyik vezető zöldségnövénye. Statisztikai adatok szerint hazánkban 2009-ben közel 193.000 tonna volt a termelt mennyiség, amiből 120.000 tonna feldolgozásra került (Monsanto, 2009; FAO, 2012).

A **paradicsomtörköly** a konzerviparban a paradicsompüré-gyártás legnagyobb mennyiségben képződő melléktermék, amely jelenleg ipari hulladéknak tekinthető, illetve takarmányozási célra egyes konzervgyárak alacsony áron szarvasmarha telepek részére adják el kiegészítő takarmány-alapanyagként. Takarmányozási szempontból adható még sertésnek és nyúlnak is (Schmidt, 1990). A termék tartalmazza a bogyótermés héját, a magot és annak zöld részeit, amelyet speciális szárítási eljárással tettünk alkalmassá a hosszabb idejű tárolásra és a takarmányba történő homogén keverésre (1. ábra).



1. ábra. Nedves (A) és szárított (B) paradicsom törköly

A paradicsom és annak melléktermékei alkalmasak lehetnek a baromfitakarmányozásban történő alkalmazásra is, különös tekintettel a tojássárgája színezésére. Egyéb kedvező hatásai miatt, pedig akár alkalmas lehet funkcionális élelmiszerek előállítása során is (Bárdos *et al*., 2006; Sahin *et al*., 2008).

A lehetőség feltérképezésére kutatásaim során a következőket tűztem ki célul:

- előállítani egy olyan kísérleti takarmányt, ami csökkentett karotinoid tartalmú és ezzel alkalmassá válik a likopin baromfi szervezeten belüli nyomon követésére illetve hatásainak kimutatására;
- meghatározni a karotinoidok kiürülési (deplecio) idejét, majd a kiürülést követően dózisfüggő hatásvizsgálatokat végezni likopinnal;
- meghatározni a likopin-molekula felszívódási helyét a fürjek vékonybelében;
- vizsgálatokat végezni a likopin élettani hatásainak tanulmányozására, pl: test-, és májtömeg, tojástermelési paraméterek (tojástömeg, darabszám, tojássárgája szín), lipid-anyagcsere, a vér néhány biokémia paramétere, retionoid-anyagcsere és antioxidáns kapacitás;
- megvizsgálni a paradicsomtörköly, mint természetes likopin forrás, hasznosulását tojómadarakban.

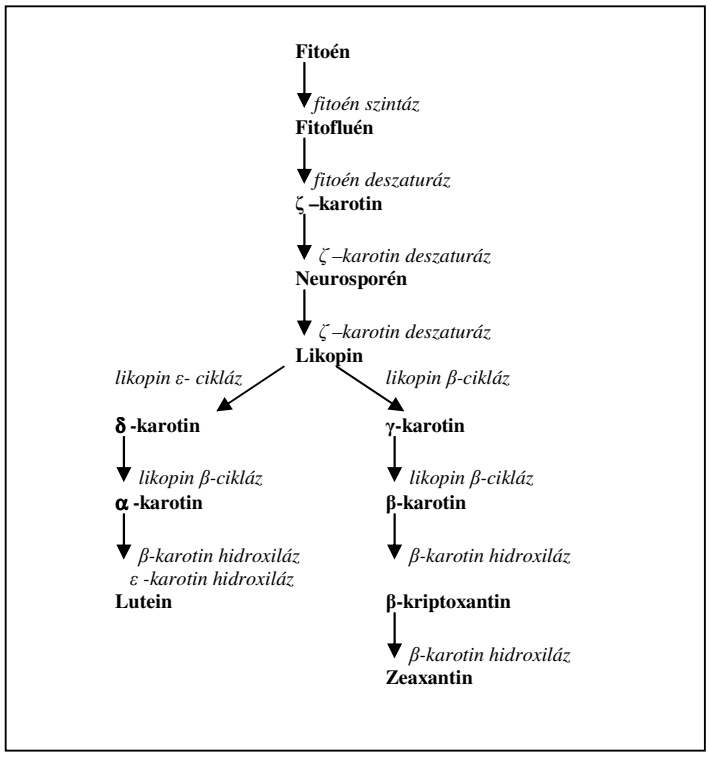
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Karotinoidok

2.1.1 A karotinoidokról általánosságban

Több mint 600-féle karotinoidot fedeztek fel ez idáig a természetben, amelyek két fő csoportra, a xantofillokra és a karotinokra oszthatók. A xantofillok oxigént is tartalmaznak, míg a karotinok egyszerű szénhidrogének. Szerkezetileg a tetraterpének csoportjába tartoznak, vagyis 40 szénatomjuk van, amely 4 terpén egységből áll (Bünzli-Trepp, 2007).

Természetes „festékanyagok", amelyek megtalálhatók a fotoszintetizáló zöld növényekben, termésekben, mikroorganizmusokban, egyes ízeltlábúak, halak (Maoka, 2011) és madarak kültakarójában (Bárdos, 1994), valamint az emlősök egyes szöveteiben is (Deming és Erdman, 1999). Az állatok szervezete nem képes a karotinoidok szintézisére, ezért fontos, hogy táplálékukkal fedezni tudják a szükségletüket. A növényvilágban két fontos szerepük van: megkötik fotoszintézishez szükséges fényenergiát, valamint megvédik a klorofillt a fény okozta károsodástól (Armstrong és Hearst, 1996).



2. ábra. Karotinoid bioszintézis
(Rodrigo *et al*., 2003, Rodriguez-Amaya, 2001, Fraser *et al*., 2002, Masaya *et al*., 2004)

A karotinoid bioszintézis korai szakaszában a C_5 egységek összekapcsolódásával kialakul a C_{10}, C_{15}, majd C_{20} szerkezet. Ennek dimerizációjával pedig kialakul a fitoén, amely az első C_{40}-es

karotinoid. A kettős kötések további kialakulásával, egy deszaturációs reakció-sorozatban aztán fitoén→fitofluén→ ζ-karotin→neurosporén→ likopin alakul ki (2. ábra).

A természetben előforduló legfontosabb karotinoidok és forrásaik (Bárdos, 1994, Rodriguez-Amaya, 2001):

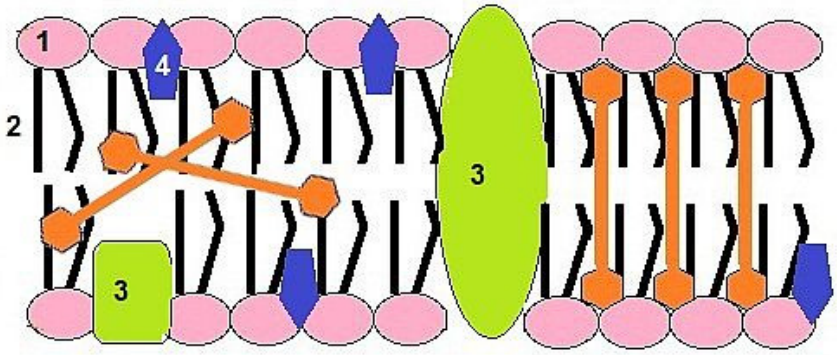
- Karotinok
  - α-karotin – sárgarépa, sütőtök, kukorica, mandarin, narancs
  - β-karotin – lucerna, sárgarépa, sütőtök, algák, tojássárgája
  - likopin – paradicsom, grapefruit, görögdinnye
  - fitofluén – csillag gyümölcs, édesburgonya, narancs
  - fitoén – édesburgonya, narancs
- Xantofillok
  - kapszantin – pirospaprika
  - kriptoxantin – mangó, mandarin, narancs, papaya, őszibarack, avokadó, grapefruit, kivi
  - zeaxantin – spenót, kelkáposzta, kukorica, tök, narancs, tojás
  - asztaxantin – mikro alga, élesztő, krill, garnéla, lazac, homár, tarisznyarák
  - lutein – spenót, római saláta, tojás, pirospaprika, tök, mangó, papaya, narancs, kivi, őszibarack, hüvelyesek, káposztafélék, szilva, édesburgonya, sárgadinnye, rebarbara,
  - rubixantin – csipkebogyó.

2.1.2. A karotinoidok jellemzése

A karotinoidok színe a halvány sárgától a világos narancssárgán át a sötétvörösig terjed. Ez a „sokszínűség” a karotinoidok szerkezeti felépítéséből ered. A xantofillok gyakran sárgák, a név is innen ered. A szén-szén kettős kötések konjugációval kölcsönhatásba lépnek egymással, aminek következtében az elektronok szabadon vándorolhatnak a molekula e részében. Amennyiben a kettős kötések száma nő, a konjugált rendszerhez kapcsolódó elektronoknak több helyük van a mozgásra, és a helyzetváltoztatásuk kevesebb energiát igényel. Emiatt az adott molekula kisebb energia-tartalmú fényt tud elnyelni. Ahogy a látható spektrum rövid hullámhosszú végéről egyre több fény nyelődik el, úgy lesznek a vegyületek egyre vörösebb színűek (Nair, 2007).

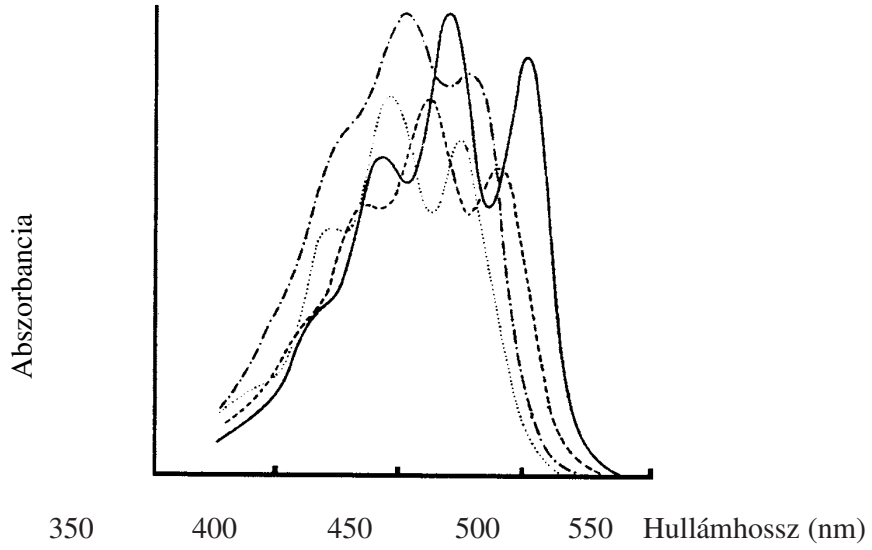
Az egyes karotinoid molekulák közötti kölcsönhatások nagymértékben befolyásolják a tulajdonságaikat. Mivel a karotinoidok alapvetően hidrofób jellegűek, ezért könnyen kapcsolódnak össze és hoznak létre kristályos szerkezetet vizes közegben. Az apró karotinoid kristályszemcsék

felhalmozódása gyakori a magasabb rendű növények kromoplasztjában, mint pl. a likopin a paradicsomban. Az összekapcsolódás következtében megváltoznak a karotinoidok fizikai jellemzői, mint pl. a fény-elnyelés, a kémiai reakcióképességük, valamint tényleges méretük és oldékonyságuk, mindezekkel befolyásolva a felszívódásukat és biológiai hozzáférhetőségüket az állatokban, illetve bejutási képességüket és funkciójukat a szubcelluláris struktúrákban. A β-karotin és a likopin csak a membrán belső, hidrofób részén elhelyezkedő gyökökkel képes reakcióba lépni, míg a zeaxanthin vagy az asztaxanthin, amelyek végcsoportjai beleérnek a poláris zónába és a hidrofób és hidrofil fázis határán helyezkednek el, a hidrofil fázisban képződő oxigén szabadgyökökkel is reakcióba léphet, ezt mutatja a 2. ábra. Ezért néhány karotinoid a többihez képest hatékonyabb antioxidánsként funkcionálhat a membránokban (Britton, 1995).



3. ábra. Az egyes karotinoidok elhelyezkedése és irányultsága
a biológiai membránokon belül (Bárdos *et al.*, 2011)
balra: apoláros karotinoid (ß-karotin), jobbra: poláros karotinoid (asztaxanthin)
1: a foszfolipid poláris feje, 2: a foszfolipid hidrofób farka (zsírsavak), 3: integrált fehérje, 4: koleszterin

A legtöbb karotinoid három hullámhosszon nyeli el a fényt, és ezzel jellegzetes, három-csúcsú spektrumot ad (4. ábra). Az abszorpciós maximumok annál inkább a nagyobb hullámhossz tartományba esnek, minél több a konjugált kettős kötés a molekulában. Ezért a 11 konjugált kettős kötést tartalmazó, telítetlen, aciklikus likopin piros, és a leghosszabb hullámhosszon nyeli el a fényt; maximuma a 444, 470, és 502 nm-en van. Legalább 7 konjugált kettős kötés kell viszont ahhoz, hogy a molekula színesnek tűnjön. Ilyen pl. a ζ -karotin, amely molekula még csupán halványsárga színű és szintén aciklikus. A hármas csúcs itt is megtalálható, ám jóval alacsonyabb hullámhosszon, mivel maximuma a 378, 400, és 425 nm-en van (Rodriguez-Amaya, 2001).



4. ábra. A likopin (———), a γ - karotin (- - - -), az α- karotin (–·–·–·–·), és a β-karotin (·····) abszorpciós spektruma petróleuméterben (Rodriguez-Amaya, 2001)

2.1.3. A takarmányok karotinoid tartalma

A xantofillok a gazdasági állatok, ezen belül a baromfifajok takarmányozásában is rendkívül értékes vegyületek. A β-karotin, amely nem a xantofillok közé tartozik, pigmentáló[1] hatása kisfokú. Ezzel szemben a főként kukoricában előforduló zeaxantin sötét narancs, közel piros színt ad, míg a lutein, amely a kukoricán kívül a lucernában és általában minden zöld levélben is nagy mennyiségben megtalálható, pedig sárga színt. A fentiek miatt a takarmány-alapanyagok karotinoid-tartalma és ezzel színező hatása is eltérő lehet (Leeson és Summers, 2005).

Az irodalmi adatokból (Leeson és Summers, 2005, Seeman, 2000; NRC, 1994) összeállított 1. táblázat különböző xantofill tartalmú takarmány-alapanyagot tartalmaz.

[1] A karotinoidokat a legtöbb irodalom pigmentnek nevezi. A **pigment**, vagy **festék** nem szinonim megjelölése a **színezék**nek. A pigmentekre az jellemző, hogy valójában nem oldódnak a közegben. A karotinoidok viszont egyenletesen feloldódnak a transzport (*lipoprotein*) részecskékben, ill. a szöveti tárolás helyén, a lipoidokban (Gregosits *et al*, 2007).

1. táblázat. Egyes takarmány-alapanyagok xantofill tartalma
(Leeson és Summers, 2005, Seeman, 2000; NRC, 1994)

Karotinoid forrás	Xantofill tartalom (mg/kg)
Fűliszt	140
Kukorica	15-20
Kukorica "vörös"	32
Kukoricaglutén-liszt 20% fehérje	20
Kukoricaglutén-liszt 41% fehérje	175
Kukoricaglutén-liszt 50% fehérje	185
Kukoricaglutén-liszt 60% fehérje	290
Szemes cirok	1
Lucerna	180
Lucerna liszt	175
Lucerna liszt 17 % fehérje	260
Lucerna liszt 20 % fehérje	280
Lucerna liszt 22 % fehérje	330
Szárított alga	2000

Az étkezési tojásnak, a fogyasztói igényeknek megfelelően, állandó minőségűnek kell lennie. A tojássárgája színe a minőség egyik fontos jelzője, fontosságát tekintve, ha tojásminőségről beszélünk, a fogyasztói értékelés alapján a harmadik helyre teszik (Hernandez és Blanch, 2000; Hernandez, 2006). A kívánt szín a takarmány oxikarotinoid tartalmának befolyásolásával érhető el. Tojásszínezés szempontjából kiemelkedő a lutein, a zeaxantin, és a szintetikus festékanyagok, mint például a kantaxantin vagy az apokarotin-észter. A kukorica és annak glutén-lisztje, valamint a lucernaliszt éppen a magas lutein- és zeaxantin- szintjük miatt alkalmazhatóak jól a tojássárgája színezésre (2. táblázat).

2. táblázat A tojássárgája várható YCF színskála értéke három, magas karotinoid-tartalmú takarmány-alapanyag esetében (Leeson és Summers, 2005)

Takarmány komponens	Bekeverési arány (%)	Színskála (YCF) érték[2]
Kukorica	0	2
	20	6
	40	8
	60	9
Kukoricaglutén-liszt	2	6
	6	9
	8	14
Lucernaliszt	2	4
	6	7
	8	9

[2] A tojássárgájának színét fél-kvantitatív módon a HOFFMANN-LA ROCHE (DSM) cég által kifejlesztett Yolk Color Fan (YCF) színskálával mérik, ahol az 1-es érték a leghalványabb, legvilágosabb, míg a 15-ös érték pedig a legsötétebb sárga árnyalatot jelenti

Saha *et al.* (1999) tanulmánya szerint, ha a kukorica az egyetlen érdemi xantofill forrásként van jelen a takarmányban, akkor 50%-os bekeverése önmagában YCF 7 körüli színt eredményez. Ugyanilyen arányú búza alkalmazása esetén a YCF érték átlagosan 1,5 mivel a búza elhanyagolható mennyiségű karotinoidot tartalmaz.

A „színező" takarmány-alapanyagok mellett sok esetben tojássárgája-színező adalékanyagokat is alkalmaznak az árutojás termelésben (3. táblázat). A legtöbb országban a tonnánkénti 7–8 g xantofill kiegészítés megszokott, mivel 5 g/tonna alatt csak halványsárga színt eredményez a kiegészítés. A baromfi takarmányok esetében a kiegészítésként használható összes karotinoid tartalmára maximális érték van meghatározva, ami legfeljebb 80 mg/kg takarmány lehet (EK Tanács 70/524 direktíva, 2004).

A tojássárgája színének kialakulása jól definiálhatóan két fázisra tehető. Az első fázis a „szaturáció", amikor a sárga karotinoidok deponálódásával egy ún. „sárga alap" jön létre. A második fázis -„színeződés" – során a piros karotinoidok beépülésével a tojássárgája arany-narancs sárgára színeződhet. A három leggyakoribb, tojásszínezésre használt sárga karotinoid a lutein, zeaxantin és apo-észter, a három piros pedig kantaxantin, citraxantin és a kapszantin (kapszorbin). Mindegyik karotinoid egyedi tulajdonságokkal rendelkezik (pl. színárnyalat, beépülési hatékonyság). Míg az apo-észter például 40-50%-ban épül be, addig a lutein vagy zeaxantin esetében ez 10-20%. Vagyis a luteinből és zeaxantinból háromszor annyi szükséges, mint az apo-észterből az azonos szín eléréséhez. Ha a piros karotinoidokat vetjük össze, akkor elmondható a színezési hatékonyság kapszantin: kantaxantin esetében 2,6-2,8 : 1 (Beardsworth és Hernandez, 2004).

3. táblázat. A baromfi takarmányokban gyakran alkalmazott természetes és szintetikus színező anyagok (Seeman, 2000)

Takarmány-kiegészítő	Hatóanyag-tartalom (mg/kg)
Sárga szintetikus pigment (apo-észter)	100 000
Bársonyvirág	12-25 000
Piros szintetikus pigment (kantaxantin)	100 000
Paprika kivonat	5-10 000

Santos-Bocanegra *et al.* (2004) tojótyúkokkal végzett kísérletében a takarmányhoz adalékanyagként bársonyvirágból származó 7,5 mg/kg sárga xantofillt és paprikából származó 4 mg/kg piros xantofillt adott. Ezek együttes hatására a tojássárgája színe 11,6 ± 0,15 YCF értéket mutatott. Szintetikus karotinoidok adagolásával, amennyiben azokat a dózisajánlás szerinti legmagasabb koncentrációban alkalmazta (apo-észter 1,5 mg/kg, citranaxanthin 3,5 mg/kg) YCF 13,8 ± 0,23-t ért el, míg alacsonyabb koncentrációban (apo-észter 1,5 mg/kg, citranaxanthin 3,0 mg/kg) 12,4 ± 0,25 YCF volt elérhető. A szerző eredményei alapján arra következtetésre jutott, hogy a természetes karotinoidokból legalább háromszoros mennyiség szükséges, mint a szintetikus

vegyületekből, az azonos hatás eléréséhez. Ezt írja le az Európai Közösség (2002) egyik szakvéleménye is.

Hasin *et al*. (2006) a narancshéj (*Citrus aurantium)* és a bársonyvirág (*Tagetes*) tojássárgája színező hatását vizsgálata. A bársonyvirág 156,32 mg/kg szárazanyag xantofillt, míg a narancshéj-dara 83,02 mg/kg szárazanyag xantofillt tartalmaz. Tojótakarmányba 4 % bársonyvirágot keverve, YCF 11 érhető el, ami körülbelül 30 mg szintetikus színező/kg takarmánynak hatásának felel meg. Darált narancshéj 4%-ban történő adagolása azonban mindössze YCF 5 értéket eredményezett.

Lokaewmanee és Yamauchi (2010) vizsgálatában kukorica alapú takarmányhoz (YCF 8,64) adagolt paprikaport 0,1 %-ban, illetve bársonyvirág-kivonatot és paprikaport együttesen, 0,2 %-ban. A két színezőanyag kombinációjával YCF 12,17 színt értek el, míg a paprika önmagában YCF 11, 47 értékre színezte a tojások sárgáját.

2.1.3.1. Kísérleti takarmányok

Korábban már több kutatócsoport is vizsgálta a természetes karotinoidok tojótyúkok tojástermelésére gyakorolt hatását. A vizsgálatokban a legtöbb esetben a tápból a hozzáadott A-vitamin (Ágota *et al*., 1998), illetve a β-karotin (Statham, 1984) került kivonásra, az alap takarmánykomponensek azonban ugyanazok maradtak. Csak néhány esetben alkalmaztak csökkentett karotinoid tartalmú a takarmányt. Ezekben a kísérletekben a legfontosabb összetevő, a fehér, azaz alacsony karotin-tartalmú kukorica volt. Suarez (1969) az elsők között vizsgálta az egyik természetes karotinoid, a likopin tojássárgájába való beépülését. Ehhez a kísérleti tápban lófogú, fehérkukoricát használt. Udedibie és Opara (1998), egy Dél-Amerikában honos növény (*Alchornia* sp.) takarmány-kiegészítőként való alkalmazásakor szintén a fehér kukorica felhasználásával állították össze a kísérleti tojótakarmányt. Santos-Bocanegra *et al*. (2004) kísérletében a csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmányt, cirok-szója alapon állította össze. García *et al.* (2010) kukorica kiváltására, karotinoid hasznosulási kísérletében szintén cirokot alkalmazott. A búza és az árpa volt Karadas *et al.* (2006a) japán fürjekkel végzett kísérleteiben a két fő takarmány-alapanyag. Hasin *et al*. (2006) tojótyúkokkal végzett likopin hasznosulási kísérletükben búzaalapú, emellett 9,75 % rizst is tartalmazó takarmánnyal dolgozott.

2.1.4. A karotinoidok felszívódása

A karotinoidok állatfajtól függően, különböző szövetekben és szervekben raktározódnak, emellett felszívódásukban is kimutatható bizonyos mértékű fajspecifitás (Zechmeister és Tuzson,1934). Az ember, a ló, a szarvasmarha és a tyúkfélék vékonybélhám sejtjei a karotinoidokat nagyrészt metabolizálják, de a felszívódott mennyiség 20-30%-a változatlan formában a keringésbe jut (Bárdos, 1994). A β-karotin felszívódásának helye madarakban a vékonybél. Mind a duodenum, mind a jejunum részt vesz a β-karotin felszívódásban. A felszívódás az egyes bélszakaszokban, tekintettel a takarmányrészek továbbhaladási sebességére néhány perces különbséggel történik, majd a bélhámsejtekben nem metabolizálódó hányad rövid időn belül bekerül a portális keringésbe. A bélhámsejtek intracelluláris terébe került β-karotin egy részét a β-karotin-15,15'-dioxigenáz enzim két molekula retinallá (RAL) hasítja (Devery és Milborrow, 1994).

Kérődzőkben a lutein felszívódásának a helye főként a vékonybél, de kismértékű felszívódás a vastagbélben is feltételezhető (NRC, 2009). Tyczkowski és Hamilton (1986) eredményei szerint brojlercsirkékben a lutein a vékonybélből a duodenumban és a jejunum felső szakaszában szívódik fel, míg a zeakarotin (A-vitamin prekurzor) viszont az ileumban.

A bélből történő likopin felszívódásával kapcsolatosan a szakirodalomban nem találhatók adatok a baromfifajokkal kapcsolatban. Emlős fajokban, így patkányban vagy vadászgörényekben a likopin felszívódását a vékonybélen kívül a vastagbél kezdeti szakaszából (Oshima et al.,1999), sőt a gyomorból is kimutatták (Ferreira et al., 2000).

A likopin, más karotinoidokhoz hasonlóan, a béllumenből passzív transzporttal szívódik fel az itt található zsírokból, illetve epesavakból kialakuló micellákba épülve, majd emlősökben kilomikronként a nyirokáramba jut. Azonban madarakban, mivel a bélbolyhokban nincsenek nyirokkapillárisok, ezek a lipoidok az ún. portomikron frakciót alkotják, azaz közvetlenül a portális keringésbe jutnak (King és McLelland, 1984).

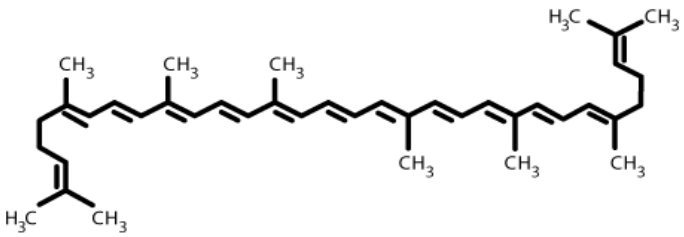
2.1.5. Likopin $C_{40}H_{56}$

2.1.5.1. A likopin szerkezete, tulajdonságai, előfordulása

A likopin fitoénből képződik négy deszaturációs lépés eredményeként. Ezek a reakciók a magasabb rendű növények plasztidjaiban játszódnak le, két, membránhoz kötött deszaturáz enzim segítségével (2.ábra).

Likopin, más néven ψ, ψ-karotin, lipofil karakterű, azaz vízben oldhatatlan molekula, amely a kettős kötések száma miatt elvileg 1056 izomer kialakulását teszi lehetővé, de ezeknek csak kis hányada található meg valóban a természetben (Britton *et al.*, 2009).

A likopin kémiailag a β-karotin aciklikus izomerje (5. ábra), egy többszörösen telítetlen szénhidrogén, amely 13 kettőskötést tartalmaz, amelyek közül 11 konjugált kettőskötés. Ez a molekulaszerkezet az alapja a vegyület antioxidáns tulajdonságának.



5. ábra. A likopin molekula szerkezete (Rath/FAO, 2009)

A likopin számos egzotikus növényben, de hazai gyümölcsökben is megtalálható (4. táblázat), azok piros színét e vegyület adja. A likopint, más karotinoidokhoz hasonlóan, csak növények és mikroorganizmusok képesek szintetizálni, az állatok azonban nem (Hodgson és Murillo, 1993).

3. táblázat. Természetes likopin források gyümölcsökben

Forrás	Mennyiség (mg/kg)	Hivatkozás
Gac-gyümölcs	2019	Ishida *et al.*, 2004
Görögdinnye	23-72	Xianquan *et al.*, 2005
Görögdinnye	48	Holden *et al*, 1999
Guava	54	Xianquan *et al*, 2005
Grapefruit	34	Xianquan *et al*, 2005
Grapefruit	15	Holden *et al*, 1999
Papaya	20-53	Xianquan *et al*, 2005
Csipkebogyó	8	Rao és Rao, 2007

Termesztett növényeink közül a likopint legjelentősebb mennyiségben a paradicsom, illetve annak feldolgozott termékei, tartalmazzák (5. táblázat). Az élelmiszerek likopin tartalmára vonatkozóan az elfogadható napi bevitel (Acceptable Daily Intake: ADI) értéke 0,5 mg/kg testtömeg/nap, azaz 60 kg testsúllyal számolva 30 mg/nap (EFSA, 2010).

4. táblázat. A paradicsom és feldolgozott termékeinek likopin-tartalma

Forrás	Mennyiség (mg/kg)	Hivatkozás
Paradicsom	9-42	Xianquan *et al*, 2005
Paradicsom	35	Niizu és Rodriguez-Amaya, 2005
Paradicsom	30	Holden *et al*, 1999
Paradicsom	8,5-136	Lugasi *et al*, 2003
Főtt paradicsom	37	Xianquan *et al*, 2005
Főtt paradicsom	44	Holden *et al*, 1999
Paradicsom szósz	62	Xianquan *et al*, 2005
Paradicsom szósz	93-180	Lugasi *et al*, 2003
Sűrített paradicsom	54-1500	Xianquan *et al*, 2005
Sűrített paradicsom	250-1500	Bicanic *et al*, 2003
Paradicsom por	1126-1264	Xianquan *et al*, 2005
Paradicsom por	56-359	Lugasi *et al*, 2003
Paradicsomlé	50-116	Xianquan *et al*, 2005
Paradicsomlé	93	Holden *et al*, 1999
Pizza szósz	127	Xianquan *et al*, 2005
Ketchup	99-134	Xianquan *et al*, 2005
Ketchup	170	Holden *et al*, 1999
Ketchup	124	Rao és Rao, 2007
Ketchup	85	Heinz*
Ketchup	19-262	Lugasi *et al*, 2003

* flakonon feltüntetett adat

A nyers paradicsomban az összes karotinoid 60–64%-a likopin, 10–12%-a γ-karotin, 10–12%-a fitoén, 7–9%-a neurosporén, 1–3% β- és δ-karotin és 0–1% lutein (Lugasi *et al.*, 2004). Niizu és Rodriguez-Amaya (2005) mérései alapján a paradicsom átlagosan 35,4 µg/g likopint, 3,2 µg/g β-karotint és 1.0 µg/g luteint tartalmaz. Rodriguez-Amaya (2001) három mérés eredményeként a következő eredményre jutott a paradicsom karotinoid tartalmának analízisekor: β-karotin (*transz+cisz)* tartalom 2,8±0,2 µg/g, lutein tartalom 1,3±0,2 µg/g, likopin tartalom 39±0 µg/g, neurosporén tartalom 3,0±0,1 µg/g, ζ-karotin tartalom 8,4±0,2 µg/g fitofluén tartalom 5,1±0,8 µg/g, fitoén tartalom 6,0±1,0 µg/g.

A paradicsom likopin tartalma az érés folyamán folyamatosan nő, ugyanakkor β-karotin tartalma folyamatosan csökken a sárga színű érési állapotot követően (Cano *et al.*, 2003). Hazai kutatók átfogó tanulmányokat folytattak, hogy mely tényezők befolyásolják a paradicsom likopintartalmát. A hazai paradicsomfajták likopintartalmában akár 50 %-os különbség is lehet (Helyes *et al.*, 2008) továbbá a paradicsom érési stádiuma is hat a likopintartalomra és az antioxidáns kapacitásra (Helyes és Lugasi, 2006). A termesztés feltételei, mint a vízellátottság, a napfénynek való kitettség, a termesztéstechnológia (szabadföldi, üvegházas) akár 30 %-kal is megváltoztathatja a paradicsom likopintartalmát (Brandt *et al*. 2003; Pék *et al*., 2011) csakúgy, mint a tárolási hőmérséklet (Pék *et al*., 2010).

A paradicsom feldolgozása (mechanikai feltárás, pépesítés és hőkezelés) elősegíti a vegyület hasznosulását, mert ilyenkor a sejtekből kiszabadul a likopin, de mégis a saját biológiai közegében

marad. Ez az úgynevezett mátrixhatás (Castenmiller és West, 1998; Jongen, 2002; Lengyel és Szabó, 2002; Takeoka *et al.*, 2001). Példaként említendő, hogy Böhm és Bitsch (1999) arról számoltak be, miszerint két hét kiürülési (depléciós) fázist követően, nyers paradicsomot fogyasztó emberek csoportjában a likopin koncentráció szignifikánsan nem nőtt, míg a paradicsom oleoresin kapszulát, illetve paradicsomlevet fogyasztó csoportoknál a vér likopinszintje jelentősen megnövekedett.

A mátrixhatás oka, hogy a likopin egy polién vegyület, és cisz-transz izomerizáción megy át fény, hő vagy kémiai reakciók hatására (Clinton, 1998). A növényekben a likopin „all-transz" formában van jelen, amely termodinamikailag a legstabilabb formának tekinthető. A paradicsomból származó likopin-kivonat kb. 86 %-a all-*transz* likopint, ~ 6% 5-*cisz*-likopint, ~2% 9-*cisz*-likopint, ~2% 13-*cisz*-likopint, és 4% egyéb likopin-karotinoidot tartalmaz. További, nem karotinoid összetevők a zsírsavak és acil-glicerolok (69-74%), foszfolipidek (8,9-14%) és viasz (5-8,4%), amelyet részletesen a 6. táblázatban mutatok be.

5. táblázat. A frissen préselt paradicsomlé likopin kivonatának kémiai összetétele (Rath, 2009)

Összetevő	Tartalom (%)	
	Min.	Max.
Nem elszappanosítható	**13,4**	**31,4**
Likopin	4,9	15,0
Fitoén	0,5	1,1
Fitofluén	0,4	0,9
β-Karotin	0,1	0,5
Tokoferolok	1,0	3,0
Szterolok	1,5	2,5
Egyéb (pl. viasz)	5,0	8,4
Zsírsavak és acil-glicerolok	**69,0**	**74,0**
Mirisztinsav (14:0)	0,5	0,6
Palmitinsav (16:0)	22,5	23,0
Sztearinsav (18:0)	5,1	5,4
Olajsav (18:1)	12,4	13,5
Linolsav (18:2)	46,7	48,7
Linolénsav (18:3)	8,8	10,9
Arachinsav (20:0)	0,9	1,1
Behénsav (22:0)	0,5	—
Szabad zsírsavak	5,0	—
Víz	**0,5**	**0,9**
Vízoldható anyagok	**2,7**	**4,8**
Tejsav	0,5	0,7
Más szerves savak	2,0	0,1
Egyéb	2,2	4,0
Összes foszfor	**0,4**	**0,5**
Szerves foszfor	**0,3**	**0,5**
Foszfolipidek	**8,9**	**14,0**
Nitrogén	**0,2**	**0,3**
Hamu	**0,7**	**0,8**

Stahl *et al.* (1992) vizsgálatai alapján humán szérumban az *all-transz* izomer mellett 3 féle cisz izomer (9-, 13-, és 15-cisz) volt megtalálható. β-karotinnal összehasonlítva, a karotinoidokat tartalmazó szervek közül (máj, here, mellékvese, vese, petefészek és zsírszövet) csak a herékben volt predomináns a likopin a β-karotinnal szemben. A likopin és a β-karotin között szinergizmus fedezhető fel a molekulák felszívódásának tekintetében, azaz, a β-karotin elősegíti a likopin hasznosulását (Johnson et al., 1997).

Stahl és Sies (1992) vizsgálatában a nyers paradicsomlevet a hőkezelt paradicsomlével összehasonlítva megállapította, hogy a szérumban a likopin koncentráció csak a hőkezelt lé fogyasztásakor növekedett meg szignifikáns mértékben. Rao *et al.* (2003) számos cisz-izomert azonosítottak feldolgozott paradicsom készítményekben, valamint a vérben és a különböző szövetekben. A vizsgálatok eredményei szerint a cisz izomerek általában stabilabbak és hatékonyabb antioxidánsok, mint az *all-transz* likopin. Feltételezhető, hogy a cisz-izomeráció növeli a felszívódás hatékonyságát. A likopin felszívódása szignifikánsan nagyobb mértékű a hőkezelt paradicsom alapú élelmiszerekből, mint a nyers paradicsomból, tehát ott, ahol a cisz-transz izomeráció végbe ment.

Likopin nyerhető a paradicsomgyártás melléktermékeként jelentkező paradicsomtörkölyből is, amelynek összetétele azonban nagyban befolyásolhatja annak felhasználhatóságát. A feldolgozottság típusától és fokától függően jelentősen eltér a likopintartalom (7. táblázat) valamint a beltartalmi paraméterek (8. táblázat).

7. táblázat A paradicsomtörköly likopin tartalma

Likopin koncentráció (mg/kg)	Minta típus	Szerző
734	Szárított paradicsomhéj	Knoblich *et al.* (2005)
130	Szárított paradicsommag	
281	Szárított paradicsomtörköly	Botsoglou *et al.* (2004)
145	Nedves paradicsomtörköly	Basuny *et al.* (2008)

8. táblázat A paradicsomtörköly beltartalmi paraméterei

Minta típusa	Nyersfehérje (%)	Nyerszsír (%)	Hamu (%)	Savdetergens rost (%)	Nyersrost (%)	Szerző
Szárított paradicsomtörköly	20	13-15	3-5		25-35	Aldrich (2009)
Paradicsomtörköly	17-22	10-15		39-60	33-57	Feedipedia (2012)
Szárított paradicsomhéj	10		25,6	29,9		Knoblich *et al.* (2005)
Szárított paradicsom mag	20,2		5,18	53,8		
Szárított paradicsom mag	25	20	3,1		35,1	Persia *et al.* (2003)
Szárított paradicsomtörköly	22	11,6			27	Rahmatnejad *et. al.* (2011)

A likopin kémiai szerkezetére jellemző, hogy ß-jonon gyűrűvel nem rendelkezik. Ilyen módon nincs provitamin hatása sem, tehát nem A-vitamin előanyag (Combs, 2012). Ennek ellenére, mint az egyre több karotinoidról bizonyítást nyert, számos önálló élettani hatása van.

2.1.5.2. A likopin élettani hatásai emberekben

Humán vonatkozásban a likopin hatásai napjainkban már viszonylag jól ismertek, főként a szív és érrendszeri betegségekben, valamint a rákos megbetegedések megelőzésében van kimagasló szerepe (Rao és Agarwal, 2000). Stahl és Sies (1996) mérései szerint a likopin az emberi vérben 0,5 mmol/l plazma mennyiségben van jelen. Rao és Agarwal (1999) tanulmánya szerint a herékben és a mellékvesékben a karotinoid-tartalom 80 %-a likopin.

Giovannucci *et al*. (2002) átfogó tanulmányában arról számol be 72 vizsgálatot alapul véve, hogy fordított arányosság áll fenn a paradicsom alapú termékek fogyasztása (és a vér likopin-szintje) valamint a tumorok kialakulása/továbbfejlődése között. A legszorosabb összefüggést a prosztata-, tüdő-, és gyomorrák kialakulásával kapcsolatban találták. Gann *et al*. (1999), valamint Michaud *et al*. (2000) a prosztata, illetve tüdőrák megelőzésében betöltött szerepét igazolták.

A likopin, a fentiek alapján tehát antikarcinogén hatású vegyületnek tekinthető, amely hatását a sejt-sejt kommunikáció szabályozásán keresztül fejti ki (Forbes et al., 2003). Feltételezhetően gátolja egyes szabályozó proteinek, mint pl. a RB1 által indukált foszforilációt, és a G0-G1 fázisban megállítja a karcinogén sejtciklust (Park *et al*., 2005; Ivanov *et al*., 2007).

A likopin bizonyítottan részt vesz a sejtek közötti egyik réskapcsolat (*gap junction*) típus (*Connexin 43*) kialakulásában. Ennek a réskapcsolatnak a hiánya több humán tumor esetében is kimutatható, és helyreállítását, illetve szabályozását a csökkent sejtosztódással hozzák kapcsolatba (Heber *et al.*, 2001). Kis koncentrációban a likopin és az 1,25-dihidroxivitamin D3 keveréke szinergens módon gátolja a ráksejtek sejtosztódását és sejtdifferenciálódását, a HL-60-as leukémia sejtek növekedési ciklusát is blokkolja, ami molekuláris szintű vagy szubcelluláris kölcsönhatásokat feltételez (Amir *et al*., 1999).

A likopin molekulaszerkezetéből adódóan erős antioxidáns vegyület. Mind humán, mind állatkísérletek igazolták, hogy ennek révén sejtvédő hatása kedvező (Rao *et al*., 2003). Összehasonlítva más természetes antioxidánsokkal, így például az E-vitaminnal, a glutationnal, vagy a β-karotinnal, a likopin rendelkezik a legerősebb szinglet-oxigén megkötő kapacitással (Di Mascio *et al*., 1991, Rao *et al*., 2003). A karotinoidokat kiemelve látható, hogy a likopin áll az első helyen a szabadgyök megkötés tekintetében (7. táblázat).

A likopin és a lutein, kombinációban szinergens módon támogatják egymást antioxidánsként, ami a sejtmembránokban lévő különböző karotinoidok specifikus elhelyezkedésére (3. ábra) vezethető vissza (Heber és Lu, 2002).

9. táblázat. Karotinoidok szinglet-oxigén megkötő képessége (Di Mascio *et al*., 1991)

Karotinoid	**Konjugált kettős (C=C) kötések száma/gyűrűk száma**	**k_q érték (10^6 $M^{-1}s^{-1}$)**	**Plazma és szövet**
Astaxantin	11/2	24 000	
α-karotin	11/2	19 000	0,05-0,1 μmol/l
Kantaxantin	11/2	21 000	
β-karotin	11/2	14 000	0,3-0,6 μmol/l
γ-karotin	11/1	25 000	
Kriptoxantin	11/2	6 000	0,3 μmol/l
Lutein	11/2	8 000	80 ng/retina (zeaxantin és lutein)
Likopin	13/0	31 000	0,5-1,0 μmol/l
Zeaxantin	11/2	10 000	43 ng/retina

Egyéb élettani hatásai közül fontos kiemelni, hogy a likopin a hidroximetil-glutaril koenzim-A reduktáz (HMG-CoA) gátlásával csökkenti az endogén koleszterin bioszintézist (Agrawal és Rao, 1998; Fuhrman *et al*., 1997) és ezzel hozzájárulhat a vér koleszterinszintjének csökkentéséhez.

Agarwal és Rao tanulmányukban (1998) úgy fogalmaznak, hogy a likopin, más hatásai mellett csökkenti az LDL koleszterin oxidációját, ennek révén csökkentheti az atherosclerosis kockázatát. Blum *et al*. (2006), pedig arról számoltak be, hogy egy hónapon át, napi 300 g nyers paradicsom fogyasztása esetén a HDL koleszterinszint 15,2% emelkedett, míg az LDL szint szignifikánsan csökkent.

2.1.5.3. A likopin élettani hatásai állatokban

A likopin szervi deponálódásáról Jain *et al*. (1999) számoltak be. Patkányoknak 10 mg/kg likopint adva, a molekula eredményesen felszívódott és a szövetekben eloszlott. Legnagyobb mennyiségben a lép, a máj és a prosztata tartalmazta, míg legkisebb mennyiségben az agyból volt kimutatható. Tojótyúkok esetében, a takarmányba adagolt likopin hatékonyan felszívódik és megjelenik a vérben, majd beépül a tojásba (Bárdos *et al*., 2004; Bárdos *et al*., 2005).

Karadas (2006a) tojó japán fürjeknek adagolt szárított paradicsompürével (20g/kg takarmány) végzett vizsgálatainak eredményei alapján a likopin átjut a tojásba, majd ott az embriók májában raktározódik. Gregosits (2010) napos csibék karotinoid anyagcseréjét tanulmányozta, és megállapította, hogy a likopin 24 óra elteltével nem jelent meg sem a szérum, sem a máj

karotinoidjai között, amit a szikzacskóból származó anyagok által tamponálódott bélszakasszal magyarázott.

A likopin tumor-képződést gátló hatását főként laborállatokban vizsgálták (Nagasawa *et al*., 1995; Wang *et al*., 1989). Nyers paradicsomot (25 mg likopin/kg/nap) brojlercsirkék takarmányába keverve Leal *et al*., (2002) emellett kimutatták a molekula kemoprotektív hatását a T-2 mikotoxin citotoxicitása esetén. Azt is megállapították, hogy erősíti az immunrendszert (Bárdos *et al*., 2005). Bovans tyúkoknak adagolt, 25mg/kg likopin etetésekor a bovine-serum-albuminnal (BSA) történő immunizálás esetén növelte az IgY titert, vagyis az immunrendszer a likopin kiegészítés hatására intenzívebben reagált az antigénre.

Baromfifajokban is megállapították, hogy a lipid anyagcserében betöltött szerepe miatt csökkenti a vér koleszterinszintjét. Safamehr *et al*. (2011) vizsgálata szerint a tojás koleszterinszintje nem, a szérumkoleszterin szintje azonban szignifikánsan csökkent (13,16 → 9,16 mmol/l) paradicsomtörköly 12%-os bekeverése esetén.

Ševčíková *et al*. (2008) két dózisban (50 ill. 100 mg/tak. kg) adagolták brojlercsirkéknek a 14-35. napok között a likopint, szelén kiegészítéssel. A 35. napon mért végsúly 9,7 %-kal, szignifikánsan nagyobb volt a 100 mg/kg likopin kiegészítésű csoportban a kontroll csoporttal összevetve. A mellhúst ezek a dózisok nem színezték meg, de az 50 mg/kg likopin a HDL koleszterin szintet szignifikánsan emelte, az összkoleszterin és az LDL koleszterin szintekre viszont nem volt hatással. Az összkoleszterin szintet a 100 mg/kg adagolás, bár nem szignifikáns mértékben, de tendenciájában csökkentette.

Gregosits *et al*. (2009) pedig arról számoltak be, hogy 10 g/tak. kg mennyiségben, 5%-os szintetikus likopint takarmányba keverve, tyúkok vérében csökkent az összkoleszterin koncentráció. A HDL-koleszterinszint gyakorlatilag nem változott, és a tojások koleszterintartalmában sem jelentkezett csökkenés.

Sahin *et al*. (2006a) vizsgálatában a 100 mg/tak. kg dózisban önmagában adagolt likopin, valamint 250 mg DL-α-tokoferol-acetát/tak. kg E-vitaminnal kombinálva, mind a tojástermelésre, mind pedig a HU értékre[3] pozitív hatással volt. A lipidperoxidációs folyamatokat jelző MDA-szint a vérben és májban csökkent. A tojás és a vér koleszterinszintje szintén csökkent; a kombinált kiegészítés a pozitív hatás erősségét növelte. Egy másik kísérletében Sahin *et al*. (2006b) három dózisban alkalmazta a likopint: 50, 100 illetve 200 mg/takarmány kg mennyiségben. A vérszérum HDL koleszterin koncentrációját mindhárom szint növelte, míg a VLDL és LDL koncentrációkat viszont csökkentette. Likopin-kiegészítés hatására a szérumban a homocisztein és a MDA tartalom is csökkent. Hőstressz (napi 12 órán át 34 °C) esetén a likopin-kiegészítés a takarmányfelvételt, a

[3] Haugh Unit: a tojásfehérjének a minőségi mutatója. Közvetlenül a sárgáját körülvevő tojásfehérje (albumin) mikrométerrel mért magasságot adja meg. A magasság – összefüggésben a súllyal- megadja a „Haugh unit" (HU)-ot. A magasabb számérték jobb minőséget, frissebb tojást takar.

súlygyarapodást, a takarmány-értékesítést, valamint a vágósúlyt és húskihozatalt egyaránt növelte. Hőoptimumon tartott állatoknál a fenti paraméterekben nem volt különbség a kontrollhoz képest.

2.1.5.4. A likopin gyakorlati alkalmazása baromfitakarmányozásban

A paradicsomtörköly, mint likopinforrás, takarmány-alapanyagként felhasználható a baromfitakarmányokban (Squires *et al*., 1992). A szerző szerint, csökkentett energiatartalmú baromfitakarmányokban (brojler szülőpár, tojótyúkok esetében vedletéskor) fehérjeforrásként is használható 10, illetve 20 %-ban a termelésre gyakorolt negatív hatások nélkül. Szintén vedletéskor alkalmazták Mansoori *et al*. (2007) a paradicsomtörkölyt *ad libitum* etetve. Megfigyelésük szerint az éheztetés okozta stressz jobb elviselése miatt alkalmas lehet az állatok vedletése alatti takarmányozásra, különösen azért, mert alkalmazása esetén a vedlés utáni tojástermelés is előbb normalizálódik. Paradicsomtörkölyt 10%-ban alkalmazva Al-Betawi (2005) vizsgálatában megfigyelte, hogy brojlercsirkékben szignifikánsan növelte a takarmányfogyasztást és ezzel a napi testtömeg-gyarapodást valamint a végsúlyt a kontrollhoz képest. Nikolakakis et al. (2004) fürjeknek adagolt 5 ill. 10%-ban paradicsomtörkölyt, szójadara és árpa részleges helyettesítésére. Az állatok teljesítményére és a húskihozatalra nem volt hatással, de a nyerszsírtartalom a húsban szignifikánsan kisebb volt. Emellett a bőrt a paradicsomtörköly eredményesen megszínezte.

Tabeidian *et al*. (2011) vizsgálatai szerint brojlercsirkékben a paradicsomtörköly, 3-9% mennyiségben alkalmazva, csupán étvágyfokozónak bizonyult, tehát a takarmányfelvételt növelte, de emellett a takarmány-értékesülést rontotta. Pozitív hatással tehát a termelési eredményekre nem volt. A szerző a törköly etetése esetén, annak rosttartalma miatt, NSP enzim kiegészítést javasolt.
Szárított paradicsomtörköly hatóanyag vizsgálatakor Botsoglou *et al*. (2004) 281 mg/sz.a. kg likopint és 24,3 mg/kg szárazanyag β-karotint mértek. Japán fürjeknek a leszárított törkölyt 5 % bekeverési arányban adagolva antioxidáns hatást tapasztalt, míg 10 % bekeverés esetén már pro-oxidáns hatás jelentkezett. Lényegesen javult a hús eltarthatósága, és emiatt a húsminőség. A látszólagos pro-oxidáns hatás hátterében feltehetően az áll, hogy a 10% szárított paradicsom adagolása hatására megnő a többszörösen telítetlen zsírsavak aránya.

Lira *et al*. (2010) arról számoltak be, hogy brojlercsirkéknek 1-29 nap között 5-20%-ban adagolt paradicsomtörköly rontotta a takarmány-értékesülést és a súlygyarapodást. A hízlalás későbbi időszakában, 29-42 nap között, viszont akár 20 % bekeverési arányig is adható volt, különösebb kedvezőtlen hatás nélkül.

A likopin a tojómadarak takarmányozásában

Tojómadarakban a likopin a petefészekben deponálódik, emiatt a tojássárgáját is eredményesen színezi. Karadas *et al*. (2006b) szárított paradicsompürét (20 g/tak.kg), mint likopinban dús kiegészítő takarmányt, sikeresen alkalmazták tojássárgája színezésre. Búza/árpa alapú takarmányba adagolva YCF 7,7 értéket értek el a 20 g/tak.kg paradicsompürével, míg YCF 10,6 értéket 2 g/tak.kg bársonyvirág kivonattal kombinálva.

Kang *et al*. (2003) megfigyelése szerint 4 mg likopin/kg takarmány dózis esetén már a 4. naptól szignifikánsan sötétedett a tojássárgája színe; a tojásba való beépülés aránya 2 % volt.
Tojótyúkokon végzett vizsgálatot Gregosits *et al*. (2009), melynek során azt tapasztalták, hogy 250 ill. 500 mg/kg takarmány mennyiségben adagolt szintetikus likopin készítmény a tojássárgáját eredményesen színezi, ám a két csoport esetében a dózis-szín között nem volt lineáris az összefüggés. Továbbá méréseik szerint a dózis kétszerezése nem mutatott egyenes arányosságot a vérszérum és a tojássárgája likopin tartalmával sem.
Dotas *et al*. (1999) 120 g/tak. kg szárított paradicsomtörköly hatását hasonlította össze kantaxantinnal. A paradicsomtörköly nem volt negatív hatással a takarmányfogyasztásra vagy a tojástermelésre, és a tojássárgája színét is kedvezően sötétítette, azonban a szín elmaradt a kantaxantin alapú készítmény alkalmazásakor kapott eredményektől.

A szárított paradicsomtörköly tojótyúkokra gyakorolt hatását mérték Yannakopoulos *et al*. (1992) vizsgálatukban, ahol 80 ill. 150 g/tak. kg dózis hatásait hasonlították össze. A súlygyarapodást, a termelt tojások számát, a takarmányfogyasztást és az elhullást szignifikánsan nem befolyásolta a darált, szárított paradicsomtörköly. A kezelés a tojás súlyát szignifikánsan növelte, a tojáshéj minőségét, valamint a tojások formáját azonban nem befolyásolta. A tojássárgája színe YCF: 11,2 értékhez képest 12,9-re növekedett. A vérfoltok előfordulását a szárított paradicsomtörköly szintén csökkentette.

Calislar és Uygur (2010) tojótyúkokkal etetett 100-200 g/kg takarmány adagban paradicsomtörkölyt. A kísérleti takarmány pozitív hatással volt a testtömeg-gyarapodásra és a takarmányfogyasztásra, viszont a takarmány-értékesülés romlott. A megtermelt tojások mennyiséget a 100 g/kg dózis növelte, de 150 ill. 200 g/kg mennyiségben már csökkentette. Mindhárom kezelés a tojássárgáját hatékonyan színezte, a tojássárgája tömegét pedig növelte. A tojássárgája indexet a 100 g/kg takarmány mennyiség növelte, a fehérje indexet és a HU-értéket viszont szignifikáns mértékben nem változtatta meg. A szerző szerint a paradicsomtörköly akár 20%-ban is bekeverhető tojótyúkok takarmányába.

Ferrante *et al*. (2003) kukorica alapú kereskedelmi tojótakarmányba kevert 10%-ban paradicsomtörkölyt. A törköly pozitív hatással volt a színre, valamint a sárgája tömegét

szignifikánsan növelte. Jafari *et al*. (2006) legfeljebb 10%-os bekeverést javasolt a paradicsomtörkölyből, mert ez a dózis a tojástermelést és a tojáshozamot 2,7 illetve 4,1 %-kal növelni tudta, míg a 10 % feletti adagolás már negatív hatással volt a tojástermelés paramétereire.

Mansoori *et al*. (2008) szárított paradicsomtörkölyt adott tojótyúkoknak 50 ill. 100 g/ kg takarmány dózisban és megfigyelése szerint már a kisebb dózis is elegendő volt a tojássárgája eredményes megszínezéséhez. Olson *et al*. (2008) szintetikus likopin készítményt alkalmazott kísérletében, és azt mutatta ki, hogy legalább 65 mg likopin/kg takarmány szükséges a likopin tojásból való kimutathatóságához. Vizsgálata szerint 65, 257, ill. 650 mg likopin/kg takarmány 11,5, 12,0 és 12,0 YCF értéket eredményezett. A regresszió-analízis azt mutatta, hogy az optimális likopin koncentráció a likopin tojásba való beépüléséhez 420 mg likopin/kg takarmány, itt éri el a csúcsot, e fölött viszont már csökken a beépült mennyiség.

3 ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérleti állatok, a kezelések, valamint a biokémiai vizsgálatok módszereit a kísérleti elrendezéseknek és az Eredmények fejezetben közölteknek megfelelő tagolásban ismertetem.

3.1 Kísérleti állatok

A kísérleteket japán fürjekkel (*Coturnix coturnix japonica*) végeztük. Ez a faj az élettani, genetikai, toxikológiai és takarmányozási vizsgálati területeken is a házityúk modellállatának tekinthető (Klasing, 1998; Gregosits *et al*., 2007).

A fürjeket részben a fentiek miatt, gyakran alkalmazzák a karotinoid és retinoid hatások vizsgálataira is kísérleti állatként (Kerti és Bárdos, 1999; Sahin *et al*., 2008).

3.2 Kísérleti helyszín és tartástechnológia

A SZIE MKK Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék (ÁÉET) kísérleti állatházában a 103/2002 (V.10.) Kormány Rendelet előírásainak megfelelően, az állatkísérletek elvégezhetőek voltak, ehhez a kutatóhely rendelkezett a Szent István Egyetem Munkahelyi Állatkísérleteket Engedélyező Bizottságának az engedélyével. Az állatok tartására természetes megvilágítású és szellőztetésű állatházban elhelyezett külső etetővel és önitatókkal felszerelt battériákat, ill. faforgáccsal almozott műanyag állattartó dobozokat használtunk ad libitum takarmány és ivóvíz ellátással.

A kialakított csoport a battériás ill. dobozos tartás esetén egy-egy állat számára min 500 cm^2-t jelentett, ami esetünkben a nagyüzemi tojóállományok tartástechnológiájában javasolt 100 állat/m^2 ajánlásnak többszöröse volt. A vizsgálatokat egymást követő években május és június hónapokban végeztük, amikor a természetes megvilágítás időtartama minimum 14 óra volt. A teremhőmérséklet a felnőtt fürjek számára elegendő, minimum 20 ^{0}C volt.

A kísérletekhez szükséges méréseket és vizsgálatokat az Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék laboratóriumában végeztük.

3.3 Mintavétel és a minták előkészítése

3.3.1 Vérminták

A vérvizsgálatokhoz a mintákat a madarak szárnyvénájából vettük. A plazmanyeréshez az alvadásgátlást folyékony heparin oldattal Heparin 1x5 ml (Richter Gedeon Rt, Budapest) végeztük, ami 25000 IU Heparinum nátriumot tartalmaz. Ebből 3 csepp 10 ml vért alvadását biztonsággal meggátolja (Gaál, 1999) a közismert antitrombin aktivitása révén. Esetünkben az általában 1-1,5 ml-nyi vérvételek alkalmával 1-1 csepp heparint mértünk a vérvételi csövekbe.

Szérum minták nyerése érdekében alvadásgátlót nem tartalmazó csövekbe vettük a vért. A csövekben a vér szobahőmérsékleten 5 percen belül teljesen megalvad. Az alvadék és a cső fala között óvatosan körbevezettünk egy vékony injekciós tűt, majd ezt követően 4°C-on tároltuk éjszakán át a csöveket. A tárolás közben is igen jelentős mértékben összehúzódik a vérlepény kipréselve a savót (*serum*) amit kíméletes centrifugálással (5000 rpm, 10 min) még elő is segítettünk. Ezt a savót szívtuk le analitikai célra, vagy egy újabb tiszta Eppendorf csőbe további fagyasztva tárolás érdekében

3.3.2 Májminták

A májmintákból 1:9 (máj:0.65 % NaCl oldat) térfogat arányban készítettük a homogenátumot. A mérlegre helyezett kitárázott főzőpohárba mértünk 1 g szövetet, amihez „madár fiziológiás sóoldatot” mértünk. Ezt a keveréket ezután potter készülékkel teljesen elzúztuk, majd centrifugáltuk (10 000 rpm, 4°C, 10 min), végül a felülúszóból végeztük el a kémiai analízist.

Máj előkészítése –karotinoid és retinoid analízishez

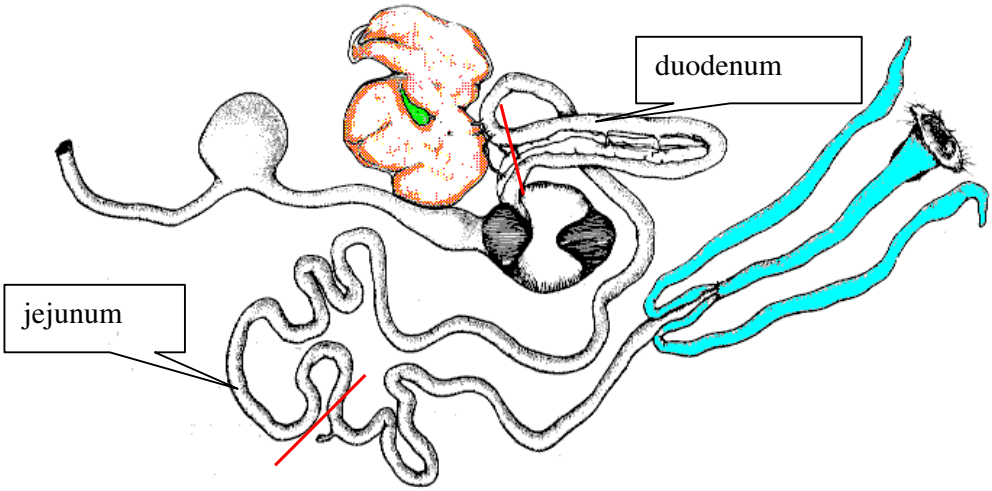
A máj tömegét lemértük, majd feldolgozásig -20 °C-on tároltuk. A lefagyasztott mintákból felolvasztás után 0,3 grammot kimértünk, ehhez 1,5 ml 10%-os aszkorbinsavat adtunk. Örvénykeverés közben üvegbottal homogenizáltuk, és 3 ml extraháló keveréket (10:6:6:7: hexán: aceton: absz. etanol: toluol) adtunk hozzá. 10 perces centrifugálást követően a tiszta felülúszóból:

a.) NP-HPLC analízishez közvetlenül felhasználtuk a szeparátumot.

b.) RP-HPLC analízishez 400µl-t Eppendorf-csőbe pipettáztunk, és N_2 áramoltatással bepároltunk (kb. 4-5 percig). A maradékot közvetlenül a HPLC-oszlopra történő injektálás előtt 100 µl etanol-dioxán 1:1 arányú keverékben felvettük, és rövid ideig tartó örvénykeverés után 150 µl acetonitrilt adtunk hozzá.

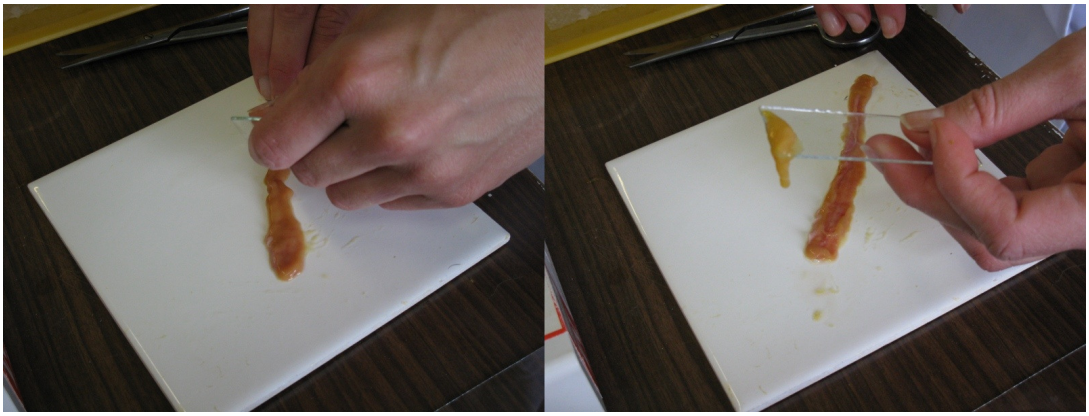
3.3.3. Bélszövet minták

A bélmintákhoz szükséges egyedeket *lege artis,* elvéreztettük. A hasüregből az elvéreztetést követően a vékonybél-szakaszokat kiemeltük és azok tömegét megmértük. A bélszakaszokat ezután elkülönítettük. A duodenum esetében ez a hasnyálmirigyet körülvevő U alakú bélkacsot jelenti. Mivel a madarak középbél szakaszainak nincsen egyértelmű anatómiai határuk, ezért jejunumnak a kiterített középbél mellé fektetett vakbél csúcsokig terjedő vékonybél szakaszt tekintettük. (Fehér, 2000).



6. ábra. A tyúkalakúak tápcsatornája (Duke, 1984), a vékonybélszakaszok határainak megjelölésével (Bárdos, 2007)

A bélszakaszokat hideg (4 ^{0}C) 0,75%-os NaCl (v/w) oldattal, fecskendővel átmostuk, majd kifordítottuk és újabb fiziológiás oldattal történő öblítés után csiszolt tárgylemez élével a bélnyálkahártyát (*tunica mucosa*) lekapartuk a simaizom rétegről (*tunica muscularis*), ez látható a 7. ábrán.



7. ábra A bélnyálkahártya eltávolítása tárgylemezzel

A nyálkahártya kaparék tömegét lemértük és 4^0C-os élettani sóoldattal homogenizáltuk (Ganguly *et al*., 1959).

A nyálkahártya nyúzat szárazanyag-tartalmának méréséhez a bélszakaszokat a fent leírtak szerint kipreparáltuk és súlyállandóságig (szárítószekrényben, 65 ^{o}C-on) szárítottuk.

3.3.4 Tojás minták

Tojássárgájából pipettával 1 ml mintát vettünk, ezt használtuk fel a vizsgálatokhoz. A koleszterin és triglicerid koncentrációk meghatározásához (mivel e módszerek eredendően szérummintákra lettek kifejlesztve) a tojásokat úgy készítettük elő, hogy azokat megfőztük, majd 0,1 g tojássárgáját és 0,8 ml vizet homogenizáltunk, ezt követően vattán, centrifugálással leszűrtük (Ágota, 2000). A kapott oldat lett a tojás-minta, amit azután már a szérumnak megfelelően reagáltattunk.

3.4 A kísérletek

3.4.1. Kísérleti takarmányok

3.4.1.1 Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás

A természetes eredetű karotinoidok metabolizmusának tanulmányozása céljából olyan kísérleti takarmányt állítottunk össze, amely csak minimális mértékben tartalmazott karotinoidokat. Ennek a speciális takarmánynak az összeállításánál – a tojómadarak táplálóanyag szükségleteinek figyelembevételével – a hántolt rizs bizonyult a legalkalmasabb takarmány-alapanyagnak, mivel a rizsnek a legkisebb a karotinoid-tartalma. Irodalmi adatok alapján a többi komponenst is úgy választottuk ki, hogy azok ne, vagy csak minimális mennyiségben, tartalmazzanak színanyagot (Ciba-Geigy, 1977; NRC, 1994).

Kísérleti tojótakarmányunk táplálóanyag tartalmát tekintve a hagyományos, kukorica alapú tojótáppal megegyező energia, nyersfehérje, nyerszsír és nyersrost tartalmú volt. A beltartalmi szinteket a Trouw Nutrition Hungary Kft. aktuálisan érvényben lévő, könnyűtestű tojótyúk receptúrája alapján állítottuk be. Az új, rizsre alapozott csökkentett karotinoid tartalmú valamint a kukorica alapú tojótakarmányok összetételét és táplálóanyag-tartalmát a 10. táblázat tartalmazza. A bekevert rizs hántolt, étkezési célra alkalmas volt, amit egy, az egyetemhez közeli takarmánykeverő üzem darált meg nekünk a többi takarmány alapanyaggal együtt. Ezt követően a takarmány alapanyagokat a receptúrának megfelelő mennyiségben laboratóriumi keverővel homogénen elkevertünk. Az egyszerre legyártott mennyiség 3 kg késztakarmány lett.

Az így kapott, teljes értékű keveréktakarmány, valamint a vizsgálatban kontrollként szolgáló, saját összeállítású, kukorica alapú tojótakarmány karotinoid spektrumát az elszappanosítást követően, a

mintából készített hexán extraktum látható tartományban (400-700 nm) mért abszorpciós spektrumát regisztráló fotométeren (*Specord UV-VIS*, VEB Zeiss Jena) vettük fel. A takarmány-alapanyagok tényleges karotinoid-tartalmát fordított fázisú, izokratikus HPLC módszerrel, 430 nm-en mértük (Kerti és Bárdos, 2006).

10. táblázat. A csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti és a kukorica alapú tojótakarmány összetétele és számított táplálóanyag-tartalma

Takarmány összetevő (%)	**Kísérleti Takarmány**	**Kukorica alapú Tojótakarmány**
Rizs	40,00	0,00
Kukorica	0,00	30,00
Búza	15,31	27,63
Extrahált szójadara II.o. 46%	15,76	15,20
Fullfat szója	11,98	10,80
Extrahált napraforgódara II.o.	5,00	5,00
Mész	9,20	8,80
MCP	1,12	1,16
Só	0,38	0,38
DL metionin	0,14	0,15
L-lizin HCl	0,16	0,21
NSP enzim előkeverék	0,45	0,15
Egységes tojópremix*	0,50	0,50
Táplálóanyag tartalom		
AMEn, MJ/kg	11,50	11,63
Nyersfehérje, g/kg	180,00	181,00
Lizin, g/kg	9,99	10,26
Metionin, g/kg	4,23	4,24
Metionin+cisztin, g/kg	7,40	7,41
Nyerszsír, g/kg	36,36	37,31
Nyersrost, g/kg	31,48	39,60
Nátrium, g/kg	1,60	1,60
Kalcium, g/kg	39,96	38,50
Foszfor, g/kg	6,40	6,40
Emészthető foszfor, g/kg	3,53	3,57
A vitamin, NE/kg	0	8300
D3 vitamin, NE/kg	3000	3000
E vitamin, mg/kg	30,00	30

*Kereskedelmi tojópremix a DSM cég terméke színező és A-vitamin nélkül (lásd. M2)

3.4.1.2. A vizsgálatokhoz felhasznált likopinforrások likopin tartalmának meghatározása és a kísérleti dózisok kiszámítása

A sűrített paradicsom likopin-tartalmát a hexánnal kivont extraktum spektrumának felvételével és a likopin moláris abszorpciós koefficiense alapján állapítottuk meg (*Specord UV-VIS*, VEB Zeiss Jena). A paradicsomtörköly likopin-tartalmát hexánnal történt extrahálást követően fordított fázisú izokratikus HPLC-vel mértük (Kerti és Bárdos, 2006).

A kísérleti dózisokat úgy állítottuk be, hogy a kereskedelmi tojótakarmányban mért A-vitamin tartalommal (8333,6 NE) sztöchiometriailag megegyező retinol-ekvivalens β- karotint és ezzel egyező mennyiségű likopint vettük alapdózisnak (L1) (Brubacher és Weiser, 1985). Ezek alapján a kísérleti likopin koncentrációk a következők voltak: L1=4,7 mg/tak. kg, L2=9,4 mg/tak. kg, L3=14,1 mg/tak. kg.

3.4.2. A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok likopinnal (1. kísérlet)

A vizsgálat célja

A kísérlet célja az volt, hogy meghatározzuk a karotinoidok szervezetből való kiürülési idejét és annak hatását a szervezet retinoid szintjére, lipid anyagcseréjére, antioxidáns állapotára és a tojástermelés egyes paramétereire. Célunk volt továbbá, hogy a kiürülést követően vizsgáljuk, a kétféle dózisú likopin bevitel hogyan befolyásolja a fent említett élettani paramétereket.

Kísérleti elrendezés

Ebben a kísérletben 40, nyolc hetes tojó fürjet vontunk be vizsgálatunkba. A fürjek a betelepítést követően a tenyésztőtől kapott takarmányt kapták még három napig, majd további négy napon át 50%-ban hozzákevertük az általunk összeállított, csökkentett karotinoid tartalmú, rizs alapú kísérleti takarmányt, hozzászoktatás céljából. A kísérlet tényleges kezdetétől (D0) a madarak teljes egészében a kísérleti takarmányt fogyasztották, amely nem tartalmazott sem A-vitamint, sem pedig színezéket. A kísérlet elrendezését a 11. táblázat mutatja. 6 hét depléciós fázist követően, a 7-9. héten sűrített paradicsomot kevertünk az állatok takarmányába L2 és L3 dózisban, paradicsompüré formájában. A paradicsomsűrítményt az eredeti, nedves állapotban kevertük a takarmányba úgy, hogy egy alkalommal 200 g darált búzával összekevertük, majd ezt kevertük bele a receptúra szerinti további szükséges búza mennyiségbe mintegy előkeveréket képezve.

11. táblázat. A 3.4.2 kísérlet mintavételi időpontjai és kísérleti elrendezése

Mintavételi Időpont	Állatok száma	Likopin-kiegészítés
Kísérlet kezdete (**D0**)	**40**	-
Kísérlet kezdetén vágás	*10*	
I. szakasz (0-6 hét)	**30**	-
*I. szakasz végén vágás (**D6**)*	*10*	-
II. szakasz (7-9 hét)	**10**	9,4 mg/tak. kg likopin (**L2**)
	10	14,1 mg/tak. kg likopin (**L3**)
II. szakasz végén vágás	*10-10*	-

Vizsgált paraméterek

Csoportonként naponta 5 tojást véletlenszerűen kiválasztottunk, tömegüket lemértük és elvégeztük a tojások sárgájának színbírálatát a YCF színskálával, majd az adatokból heti átlagszámításokat végeztünk. A tojás sárgájából vett mintából 505 nm-en kromatogramot vettünk fel, a likopin dózisfüggő beépülésének igazolására. A tiobarbitursav reaktív anyagok mérésére a tojássárgájából három alkalommal MDA értéket mértünk. A tárolt A-vitamin tartalmat jellemző retinil-palmitát (RP) és az A-vitamin tranzit állapotát mutató retinol (ROL) mennyiségét a kísérlet kezdetekor (**D0**), a kiürülési (depléciós) fázis vizsgálatának lezárásakor, a 6. héten (**D6**), továbbá a három hetes likopin kiegészítést (**L2** ill. **L3**) követően a 9. héten (**D9**) mértük, *lege artis* exterminált 10-10 állat kiemelt májából. A vizsgálathoz egyedenként a teljes májból készített homogenizátumot használtuk. Vérszérumból hetente, FRAP módszerrel meghatároztuk a vér antioxidáns kapacitását, továbbá három időpontban mértük a triglicerid és az összkoleszterin szinteket.

Mérési módszerek

A tojássárgája színét a nemzetközi standardnak tekinthető színskálával (Yolk Colour Fan – DSM) összehasonlítva pontértékben fejeztük ki. A YCF (Yolk Color Fan) nemzetközi standardnak tekinthető, amely alkalmas arra, hogy a tojássárgája akár a termelés helyén történő gyors elbírálásra kerüljön és ezzel az ipari tojástermelés legelterjedtebb mérőeszköze. A színbírálatot én végeztem úgy, hogy egy fehér papírlapra Petri-csészét helyeztem és abba törtem fel egyesével a vizsgálandó tojásokat. A színbírálatra az ablakhoz közvetlenül elhelyezett íróasztalnál a déli órákban került sor, a megvilágítás természetes volt.

A máj és tojások tömegét analitikai mérlegen (Typ OA-2, Gdansk) mértük. A tojások sárgájából Dorman *et al*. (1995) módszerével MDA értékeket mértünk.

A máj retinil-palmitát és retinol koncentrációját, valamint a tojássárgák karotinoid-profilját Biesalsky et al. (1986), Kerti és Bárdos (1999) által módosított HPLC módszerével határoztuk meg. A rendszer *Jasco* HPLC pumpából (Jasco, Japán) és *Isco V_4 UV-VIS* detektorból (Isco, USA) állt. Az értékeléshez a kromatográfiás csúcsok alatti területeket integráló programot (Barspeck, Israel) használtunk.

A vérplazma és tojássárgája antioxidáns kapacitásának mérésére Benzie és Strain módszerével (1996) a vasredukciós tesztet (FRAP) alkalmaztuk, míg a szérum összkoleszterin és a triglicerid szintjét enzimatikus, kolorimetriás módszeren alapuló vegyszercsomagokkal mértük (Koleszterin CHOD-PAP: 36097-2-99-80, illetve Triglicerid-GPO-POD-liqS: 36155-2-99-80 Reanal, Budapest). A kapott oldatokat 505 nanométeren *Specord UV-VIS* (VEB Zeiss Jena) spektrofotométeren mértük.

3.4.3. A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet)

A vizsgálat célja

A vizsgálat célja az volt, hogy felmérjük és összehasonlítsuk a likopint, a ß-karotint illetve a kereskedelmi tojótakarmányt fogyasztó tojómadarak egyes élettani és tojástermelési paramétereit.

Kísérleti elrendezés

A kísérletbe összesen 30, nyolc hetes, aktív tojó japán fürjet vontunk be, amelyeket véletlenszerűen három kísérleti csoportba osztottunk (n=10/ csoport). A kísérletet megelőzően a madarakat 3.4.2 kísérletben leírtaknak megfelelően szoktattuk hozzá a kísérleti takarmányhoz. A kísérlet időtartama 8 hét volt, ami a két karotinoid kiegészítésű csoport esetében 2 hét depléciós fázisból (-2-0.hét) és 6 hét (0-6 hét) kísérleti szakaszból állt. A kontroll csoport a kísérlet nyolc hete alatt kukorica alapú tojótápot fogyasztott. A kísérleti elrendezést az 12. táblázat foglalja össze.

12. táblázat. A 3.4.3. kísérlet elrendezése

Csoportok	Állatok száma	Takarmány	A-vitamin	Karotinoid kiegészítés/tak. kg
Likopin	10	Kísérleti	-	4,7 mg likopin
β-karotin	10	Kísérleti	-	4,7 mg β-karotin
Kontroll	10	Kukorica alapú tojó	8333,6 NE/kg	-

A Likopin (**L1**) csoport 4,7 mg likopin kiegészítést kapott paradicsom sűrítmény formájában, a másik kísérleti csoport (**BC**) esetében β-karotint (4,7 mg/kg) Lucarotin 10% (BASF) formájában etettük. Mindkét karotinoid forrást a kimért takarmány komponensekkel együtt laboratóriumi keverővel gondosan elkevertünk, a 3.4.2 kísérletben leírtak szerint.

Vizsgált paraméterek

A kísérlet ideje alatt (8 hét) a tojástermeléssel összefüggő napi méréseket végeztünk, ezek a következők voltak: csoportonkénti napi termelt tojásmennyiség, tojástömeg és tojássárgája színbírálat (5 tojás/csoport). A 0. és 6. héten vett tojássárgája és vérmintákból vizsgáltuk a lipidanyagcsere változásait (triglicerid és összekoleszterin), valamint a vér összfehérje, hematokrit és hemoglobin szintjeinek alakulását.

A kísérlet zárásakor a három csoport karotinoid/retinoid státuszának összehasonlítása céljából mértük a máj és vér retinoid-tartalmát. Meghatároztuk a vér karotinoid profilját az egyes csoportokban. A tojássárgák színéről fotót készítettünk.

Mérési módszerek

A tojások sárgájának színét a YCF színskálával bíráltuk el (lásd 3.4.2 kísérlet), a tojások tömegét szintén analitikai mérlegen (Typ OA-2, Gdansk) mértük. A megtermelt tojások számából és tömegéből ún. *összes tojástömeget (tojásmassza)* számítottunk hetente illetve a kísérlet végén ebből *halmozott összes tojástömeget* kalkuláltunk.

A vér és máj retinil-palmitát és retinol koncentrációját valamint a vér karotinoid-profilját a 3.4.2 kísérletben leírtak szerint határoztuk meg. A heparinra levett vérből meghatároztunk a hematokrit és hemoglobin értékeket (Gaál, 1999). A centrifugálással (2500 g, 10 perc, 4°C) nyert vérplazmából az összfehérje koncentrációt színreakcióval (Biuret-reakció), kolorimetriásan határoztuk meg (Gaál, 1999). A méréseket *Humalyser* (Human Gmbh, Németország) laboratóriumi analizátorral végeztük. A szérum és tojássárgája összkoleszterin, valamint a triglicerid szintjét a 3.4.2 kísérletben leírtak szerint határoztuk meg.

3.4.4 A likopinkiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet)

A vizsgálat célja

Célunk volt megvizsgálni, hogyan reagál az állatok szervezete a csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmányra, illetve annak esetleges negatív hatásait hogyan befolyásolja a likopin és A-vitamin kiegészítés, s mindez hogyan hat az állatok egyes élettani paramétereire.

Kísérleti elrendezés

Ebben a kísérletben 60 darab, 10 hetes aktív tojó fürjből véletlenszerűen három kísérleti csoportot alakítottunk ki (n=20/csoport). A kísérletet megelőzően az állatok az általunk összeállított kukorica

alapú tojótakarmányt (10. táblázat) fogyasztották egy hétig. Kiürülési fázist nem iktattunk be. A vizsgálat három hétig tartott, mely során mindhárom csoport a csökkentett karotinoid tartalmú, rizs alapú kísérleti takarmányt fogyasztotta. A likopint paradicsomsűrítmény formájában L3 dózisban (**L3**), az A-vitamint por formában (DSM) kevertük a takarmányba (**L3+Av**), a 3.4.2 kísérletben leírtak szerint. A kísérleti elrendezést az 13. táblázat mutatja be.

13. táblázat A 3.4.4 kísérlet elrendezése

Csoportok	Állatok száma	Takarmány	A-vitamin	Likopin kiegészítés/tak. kg
L_3+Av	20	Kísérleti	8300 NE/kg	14,1 mg likopin
L_3	20	Kísérleti	-	14,1 mg likopin
Kontroll	20	Kísérleti	-	-

L_3+Av: Likopin (3x dózis) + A-vitamin kiegészítés

$L_{3:}$ Likopin (3x dózis) kiegészítés

Vizsgált paraméterek

A kísérlet kezdetén lemértük a kísérletbe vont állatok testömegét. Csoportonként hetente öt állatot véletlenszerűen kiválasztottunk és azok élettani paramétereit vizsgáltuk. Mértük a test-, a máj-, és a tojástömegét, valamint elvégeztük a tojássárgája színbírálatát. Komplex vérvizsgálatot végeztünk, melynek során mértük a vér összfehérje és hemoglobin tartalmát valalmint a hematokrit értéket, a glükóz és fruktóz-amin koncentrációit, továbbá a lipidanyagcsere egyes mutatóit, a triglicerid és összkoleszterin koncentrációkat. Az antioxidáns állapot egyik jellemzőjeként szérumból és májból FRAP meghatározásokat végeztünk.

Mérési módszerek

A tojások tömegét, az egyedi testömeget és a *lege artis* exterminálást követően a máj tömegét analitikai mérlegen mértük (Typ OA-2, Gdansk). A tojássárgája színét YCF színskálával bíráltuk (lásd 3.4.2 kísérlet). Vérből meghatároztuk a hemoglobin és összfehérje koncentrációkat, valamint a hematokrit értéket a 3.4.3 kísérletben leírtak szerint. A szérumból mért összkoleszterin és a triglicerid koncentrációkat a 3.4.2 kísérletben leírtaknak megfelelően mértük. A glükóz koncentrációt szintén enzimatikus, kolorimetriás módszert használó vegyszercsomaggal mértük (Glükóz GOD-PAP liquid, 36116-2-99-90, Reanal, Budapest). A szérum fruktóz-amin mérését Oppel *et al*. (2000) módszerével végeztük. A kapott oldatokat 505 ill. 550 nanométeren *Specord UV-VIS* (VEB Zeiss Jena) spektrofotométeren mértük. A vér és máj antioxidáns kapacitásának mérésére Benzie és Strain, (1996) módszerével vasredukciós tesztet (FRAP) alkalmaztuk.

3.4.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly valamint szintetikus likopin készítmény etetését követően (4. kísérlet)

A vizsgálat célja

A vizsgálat célja az volt, hogy nagy dózisban (500 mg/kg takarmány) adagolt szintetikus likopinforrás felhasználásával meghatározzuk a likopin molekula felszívódásának a helyét az emésztőcsatornában, továbbá az egyes szervekben való raktározásának mértékét. További célunk volt, hogy megvizsgáljuk a paradicsomtörköly, mint lehetséges likopinforrás hasznosulását a baromfifajok modellállataként szolgáló japán fürjben.

Kísérleti elrendezés

A kísérletben 30, tíz hetes életkorú, aktív tojó japán fürjet vizsgáltunk. A kísérlet megkezdése előtt a madarak az általunk összeállított, 30% kukoricát tartalmazó tojótakarmányt (10. táblázat) fogyasztották egy héten át.

A kísérleti időszakot három részre osztottuk (14. táblázat). A -2-0. hét a kiürülési (depléciós) fázis volt, amiben mindhárom csoport a csökkentett karotinoid tartalmú alaptakarmányt fogyasztotta. Ezt 5 hetes likopin-kiegészítési szakasz követte (0-5 hét), amely alatt a kontroll állatok továbbra is a kísérleti alaptakarmányt, míg a két kísérleti csoport likopinnal kiegészített takarmányt fogyasztott. Ebből az egyik csoport (**Likopin500**) alaptakarmányába 10 g/kg takarmány Redivivo^{TM} Lycopene 5% TG/P (DSM) szintetikus likopin tartalmú adalékanyagot kevertünk, amely 500 mg/kg takarmány likopin kiegészítést jelentett. A másik csoport (**Ptörköly**) takarmányába a likopint 25 mg/tak. kg dózisban, szárított paradicsomtörköly formájában (lásd 1.2) kevertünk.

A paradicsomtörköly likopin tartalmát a szárítást és darálást követően mértük, majd a takarmányba a kívánt arányba történt bekeverést követően újra mértük a hatóanyag tartalmat, így kaptuk a 25 mg/takarmánykilogramm koncentrációt. A likopin etetés időszaka összesen 5 hétig tartott, ez alatt az éppen szükséges mennyiséget mindig frissen daráltam le egy háztartási darálóval, a fel nem használt paradicsomtörkölyt pedig légmentesen lezárva sötét helyen, kb. 15 ^{0}C-on tároltam.

A kísérlet harmadik szakaszban, a 6-7. héten mindhárom csoport kukorica alapú tojótakarmányt fogyasztott, amelynek nyersfehérje-tartalma 18,1 %, a látszólagos metabolizálható energiája pedig 11,63 MJ/kg volt. (lásd 10. táblázat). A teljes vizsgálati időszak így kilenc hétig tartott.

14. táblázat. A 3.4.5. kísérlet elrendezése

Kísérleti szakaszok	Állat száma	Takarmány típusa	Karotinoid kiegészítés	Csoport
Kiürülési szakasz (-2-0.hét)	**30**	Kísérleti	-	**Mindhárom**
Kiegészítés (0-5.hét)	10	Kísérleti	500 mg/kg likopin	**Likopin500**
	10		25 mg/kg likopin	**Ptörköly**
	10		-	**Kontroll**
Vágás	*6/6*			**Likopin500/ Ptörköly**
Visszaetetés (6-7.hét)	4/4/10	Kukorica-alapú tojó	-	**Mindhárom**

Vizsgált paraméterek

A két, likopin kiegészítésű csoport 6-6 egyedének véréből (szérum), tojásainak sárgájából likopin-tartalmat mértünk a 2. szakasz kezdetén és végén, valamint a megmaradt állatokból (n=4-4) a kísérlet zárásakor. Mértük továbbá a 2. szakasz végén a Ptörköly és Likopin500 csoport májmintáinak, valamint a Likopin500 csoport duodenum- és a jejunum-homogenátum mintáinak likopin-tartalmát. A kontroll csoport három egyedéből megmértük a duodenum- és a jejunum szárazanyag-tartalmát a kísérlet zárásakor. A szérum összkoleszterin tartalmát és a tojássárgája koleszterin tartalmát mértük a 2. szakasz elején és végén csoportonként 6 állatból, valamint a kísérlet zárásakor csoportonként 4 állatból.

A kísérlet teljes ideje alatt csoportonként, hetente 5 tojás sárgáiból színbírálatot végeztünk és a kísérlet zárásakor azok színéről fotót készítettünk.

Mérési módszerek

A paradicsomtörköly, a kísérleti csoportok likopinnal dúsított takarmányának valamint a szérum, máj, tojássárgája és a vékonybélszakaszok likopin-tartalmát fordított fázisú, izokratikus HPLC módszerrel mértük Kerti és Bárdos (2006) metodikája szerint. A rendszer *Jasco* HPLC pumpából (Jasco, Japán) és *Isco V_4 UV-VIS* detektorból (Isco, USA) állt. Az értékeléshez a kromatográfiás csúcsok alatti területeket integráló programot (Barspeck, Israel) használtunk. A bélminták előkészítése a 3.3.3 pontban bemutatottak szerint történt. A szérum és tojássárgája összkoleszterin és triglicerid koncentrációkat a már korábban ismertett módon mértük (lásd. 3.4.2 kísérlet) A tojássárgája színét a YCF színskálával határoztuk meg (lásd. 3.4.2).

3.5 Statisztikai értékelés

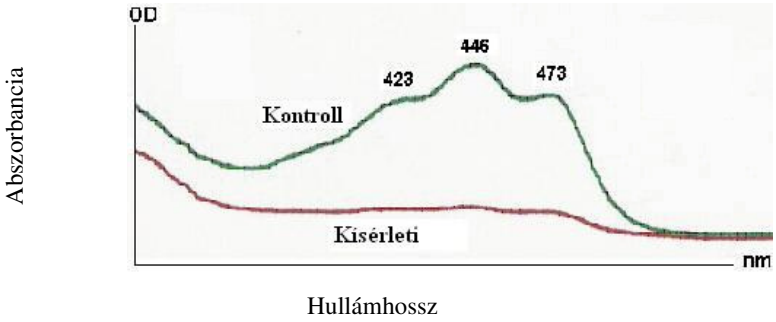
Az egyedi mérési adatokból átlag és szórás (x±s) számítást végeztünk. Azokban az esetekben ahol több csoportátlag értékeit elemeztük, varianciaanalízissal (ANOVA) post hoc Tukey tesztet (*GraphPad Prism ver. 5.0 for Windows*) alkalmaztuk. A csoportok közötti heti változásokat kétmintás Student *t-próbával* (MS Office 2003 Excel) $p>0,001$ szinten hasonlítottuk össze. A glükóz és fruktóz-amin szintek alakulásának összehasonlítására korrelációanalízist végeztünk.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Kísérleti takarmány

4.1.1 Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás

Kísérleteink alapját képező, rizsalapú takarmányunk zsíroldószerrel készített kivonatának a látható tartományban (VIS) felvett spektruma igazolta, hogy a takarmány karotinoid tartalma elhanyagolható volt (8. ábra), szemben a kukorica alapú kontroll takarmánnyal, amely mutatta a karotinoidokra jellemző három karakterisztikus abszorpciós maximumot.



8.ábra A kísérleti és kontroll takarmány karotinoid spektrumának felvétele
(OD: optikai sűrűség; nm: nanometer)

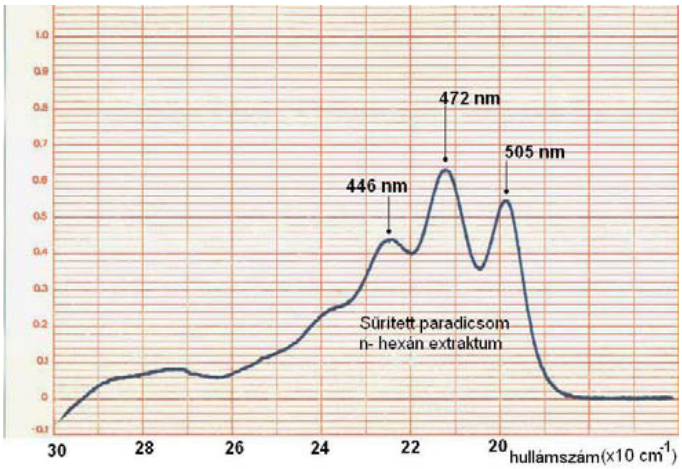
Fordított fázisú izokratikus HPLC módszerrel vizsgáltuk a takarmányalapanyagok lutein és zeaxantin összkoncentrációt, mivel ez a két xantofill a tojássárgája legfontosabb színezőanyaga (15. táblázat). A várakozásoknak megfelelően, a kukorica tartalmazta a legnagyobb mennyiségű luteint és zeaxantint, a második helyen pedig a fullfat szója állt. Ugyanakkor a rizs csupán 0,06 µg/g koncentrációban tartalmazta a vizsgált karotinoidokat.

15. táblázat. A kísérleti és kontroll takarmány-alapanyagok lutein és zeaxantin koncentrációi

Takarmány komponens	Lutein és zeaxantin összkoncentráció (mg/kg)
Rizs 1. minta	0,07
Rizs 2. minta	0,05
Búza 1. minta	0,79
Búza 2. minta	1,03
Extrahált szójadara 1. minta	0,73
Extrahált szójadara 2. minta	0,73
Full-fat szója 1. minta	3,05
Full-fat szója 2. minta	3,10
Full-fat szója 3. minta	3,31
Napraforgó 1. minta	0,42
Napraforgó 2. minta	0,24
Kukorica 1. minta	8,50
Kukorica 2. minta	8,95

4.1.2 A vizsgálatokhoz szükséges likopinforrások likopin tartalmának meghatározása

A sűrített paradicsomból vett minta látható tartományban felvett abszorbancia spektruma jól mutatta (9. ábra), hogy a likopinnak is – a karotinoidokra általában jellemző – három abszorpciós maximuma van. Ezek közül a moláris extinkciós/abszorpciós koefficiens alapján végzett koncentráció kiszámításánál az 505 nm-es, a legtöbb karotinoidra jellemző, 450-470 nm-es sávtól távol eső maximummal (OD-értékkel) számoltunk (Ravelo-Pérez *et al.*, 2008).

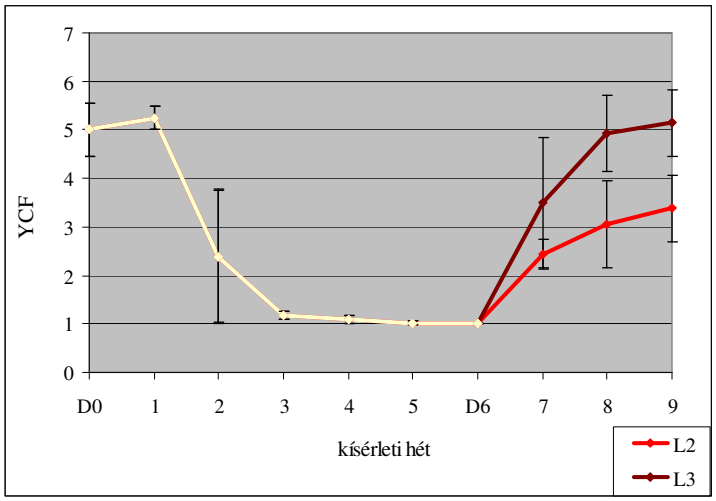


9.ábra. A likopinra (sűrített paradicsom) jellemző VIS spektrum

4.2 A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok (1. kísérlet)

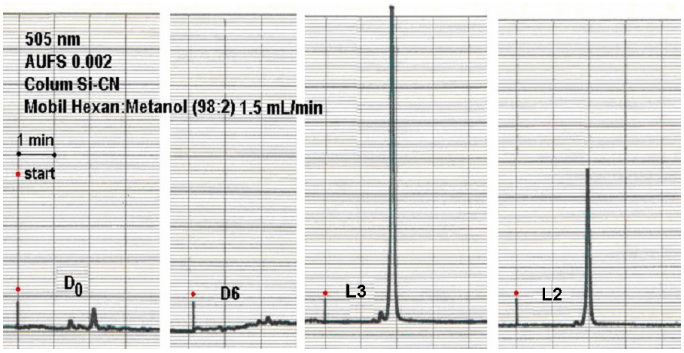
A kísérlet első szakaszában a csökkentett karotinoid tartalmú tojótakarmányt 6 hétig etettük a tyúk modellállataként általánosan elfogadott japán fürj tojókkal, majd ezt követően három hétig likopin kiegészítést alkalmaztunk két dózisban.

A tojássárgája színét hetente mértük a Yolk Color Fan színskála segítségével (10. ábra). A kísérlet kezdetekor a tojássárgája színe YCF 5±0,55 volt és az első héten még nem mutatkozott szignifikáns változás. A kiürülés 11. napjától erőteljes csökkenés volt mérhető, majd a depléció további szakaszában sárgás-fehérre halványult a tojások sárgája (YCF=1). Likopin kiegészítéssel a tojássárgája színe dózisfüggő mértékben világosabb illetve sötétebb sárga árnyalatúvá vált az 1 hetes likopin kezelés után (2,44±0,31 az L2 csoportban, illetve 3,50±1,35 az L3 csoportban). Három hétre volt szükség, mire a tartós szín a tojássárgájában kialakult, ez YCF 3,38±0,69 volt az L2 csoportban és YCF 5,14±0,69 az L3 csoportban.



10. ábra. A tojássárgája színek alakulása a kísérlet során
L2: 2x likopin dózis, L3: 3x likopin dózis (az A-vitamin ekvivalens L1 alapdózishoz viszonyítva)

A likopin 505 nm-en jellemző abszorpciós maximumán lemért tojássárgája hexános extraktum HPLC kromatogramján látható (11. ábra), hogy a depléciós szakasz kezdetén (D0) néhány nem azonosítható kis csúcs, a 6 hetes időszak végén (D6) viszont gyakorlatilag semmilyen jel nem volt mérhető. Három héttel később, a L2 és L3 kezelés végén a dózissal arányos különbséget jeleztek a likopin retenciós idején kimutatható csúcsok.



11. ábra. A tojássárgája kromatogramja a kiürülési fázis kezdetén (D0) és végén (D6), illetve a likopin kiegészítést (L2/L3) követően

A tojások heti átlagtömegében kismértékű csökkenés volt mérhető a depléciós fázis első hetében, de szignifikáns különbség a kísérlet időtartama alatt nem mutatkozott (16. táblázat).

16. táblázat. A heti átlag tojástömeg alakulása (x±s) a kísérlet során

Hét	Tömeg (g)	
D0	11,41 ± 0,59	
1	10,86 ± 0,24	
2	11,22 ± 0,51	
3	11,18 ± 0,29	
4	11,23 ± 0,18	
5	11,15 ± 0,19	
D6	11,10 ± 0,39	
	L2	**L3**
7	11,65 ± 0,24	11,03 ± 0,11
8	11,28 ± 0,42	10,94 ± 0,39
9	11,16 ± 0,29	11,05 ± 0,14

D0: depléciós fázis 0.hete, D6: depléciós fázis 6.hete
L2: 2x likopin dózis, L3: 3x likopin dózis (az A-vitamin ekvivalens L1 alapdózishoz viszonyítva)

A máj retinoid tartalmának vizsgálatával is nyomon követtük a depléciós fázist (17. táblázat). A májminták retinoid tartalma jelentős, a tárolás mértékét mutató retinil-palmitát (RP) esetében szignifikáns ($p<0,05$) csökkenést mutatott a kiürülési fázis során. Az aktív A-vitamin transzportot jelző retinol (ROL) koncentrációban is ez a tendencia érvényesült, bár a különbség nem volt szignifikáns. A három hetes likopin kezelés alatt a koncentrációk tovább csökkentek, és szignifikáns differencia mutatkozott mind az RP, mind pedig a ROL koncentrációk esetében.

17. táblázat. A máj retinoid tartalma (x±s) a kísérlet különböző szakaszaiban

Retinoid (µg/g)	Depléciós fázis		Kezelési szakasz vége	
	D0	D6	L2	L3
RP	207 ± 46	82 ± 52*	56 ± 27**	65 ± 47 **
ROL	102 ± 34	88 ± 32	76 ± 28*	73 ± 22*

* = p<0,05 **= p<0,01 a D0 értékekhez viszonyítva

A szervezet antioxidáns kapacitásának jellemzésére a vérből és a tojásból hetente FRAP, valamint tojásból három alkalommal MDA értéket mértünk (18. táblázat). A FRAP értékek a kiürülési időszakban ingadoztak, de alapvetően csökkenő tendenciát mutattak. A likopin adagoláskor az L2 csoportban továbbra is változó értékeket mértünk a vérplazmában, míg az L3 csoportban folyamatosan emelkedni kezdett, azonban a változás nem volt szignifikáns. A tojásból mért FRAP értékek a kísérlet teljes ideje alatt ingadoztak, de a tendencia csökkenő volt. A likopin kiegészítés 2. és 3. hetében (a kísérlet zárásakor) szignifikáns (p<0,001) csökkenést mértünk mind az L2, mind az L3 csoportban. A tojás MDA értékét három időpontban mérve (18. táblázat), enyhe csökkenést tapasztaltunk, de szignifikáns különbséget nem sikerült kimutatni.

18. táblázat. A vérből és tojásból mért FRAP és MDA értékek (x±s) alakulása a kísérlet során

Hét	Vérplazma FRAP érték (mg/l)		Tojássárgája FRAP érték (mg/l)		Tojássárgája MDA érték (µmol/l))	
D0	4,20 ± 1,15		4,45 ± 0,52		110,9± 17,85	
1	4,12 ± 1,28		4,48 ± 0,09			
2	3,10 ± 1,24		4,29 ± 0,24			
3	3,14 ± 1,33		3,30 ± 0,03			
4	3,53 ± 0,22		3,28 ± 0,86			
5	2,56 ± 0,12		3,47 ± 0,38			
D6	2,93 ± 1,75		3,86 ± 0,62		90,68± 6,93	
	L2	L3	L2	L3	L2	L3
7	2,46 ± 0,68	3,34 ± 1,55	2,60 ± 1,27	2,76 ± 1,26		
8	3,71 ± 1,31	4,48 ± 0,58	1,88 ± 0,71***	1,90 ± 0,3***		
9	3,42 ± 1,94	4,53 ± 1,23	2,08 ± 0,86***	2,54 ± 0,31***	84,4 ± 8,88	85,1 ± 9,86

***= p<0,001 a D0 értékhez viszonyítva

A vér összkoleszterin és triglicerid koncentrációinak változásait mutatja az 19. táblázat. Az összkoleszterin a D0-D6 fázisban nem szignifikánsan, de csökkent, míg a L2 és L3 likopin kiegészítés hatására szignifikánsan csökkent (p<0,05). A triglicerid szint a D0-D6 kísérleti szakaszban emelkedett (p>0,05), de a likopin kiegészítések (L2-L3) 3. hetének végére drasztikusan, szignifikáns mértékben csökkent.

19. táblázat. A vér triglicerid és összkoleszterin koncentrációi (x±s) a kísérlet során

Vizsgált paraméter (mmol/l)	Depléciós fázis		Kezelési szakasz vége	
	D0	D6	L2	L3
Összkoleszterin	5,57 ± 0,11	4,86 ± 0,82	3,47 ± 0,51*	3,76 ± 0,37*
Triglicerid	4,33 ± 2,24	7,25 ± 1,79	1,59 ± 0,25**	1,76 ± 0,32***

* = p<0,05 **= p<0,01, ***= p<0,001 a D6 értékhez viszonyítva

4.3 A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet)

A kísérlet teljes ideje alatt, csoportonként naponta 5 állat tojásának tömegét mértük és elbíráltuk a tojások sárgájának színét. A kapott eredményekből heti átlagszámításokat végeztünk. A két, kísérleti takarmányt fogyasztó csoportnál a két hetes kiürülési fázis (-2-0.hét) végére csökkenést tapasztaltunk a tojások tömegében (p<0,05), majd a karotinoid kiegészítések hatására nőtt a tojások tömege (20 ill. 22-23. táblázat). A kísérlet zárásakor p<0,001 szignifikáns tojástömeg különbség mutatkozott mindkét karotinoid kiegészítésű csoportnál a kontrollhoz képest, de a két csoport között statisztikai különbség nem mutatkozott. A kontroll csoport madarainak tojástömege a kísérlet ideje alatt csökkenő tendenciát mutatott és a kísérlet végére p<0,01 szignifikancia-szint különbség mutatkozott a kezdeti értékhez képest.

Csökkenés volt tapasztalható a hetenkénti átlagos darabszámban is a kiürülési fázis végére (0.hét) a két kísérleti csoportban, majd a karotinoid kiegészítés a tojástermelést mindkét csoportban növelte (p<0,001). A karotinoid adagolás 3-5. hetében a β-karotin csoport tojástermelése szignifikánsan meghaladta a L1 csoportét. A kontroll csoport tojástermelése csökkenő tendenciát mutatott és a kísérlet végére jelentősen csökkent (p<0,001) a kezdeti értékhez képest (0.hét). A kapott eredményekből kiszámoltuk a *heti összes tojástömeget* (átlag darabszám x átlagtömeg) valamint annak halmozott értékét a kísérlet végén (21. táblázat). Eredményként elmondható, hogy a β-karotin kiegészítésű csoport mutatta a legmagasabb halmozott értéket, de mindkét kaprotinoid kiegészítésű csoport jelentősen meghaladta a kontroll csoport eredményét.

20. táblázat. Heti átlag tojástömeg és darabszám csoportonkénti alakulása (x±s) a kísérlet során

Hét	Heti átlag tojástömeg			Heti átlag darabszám		
	Kontroll	Likopin	β-karotin	Kontroll	Likopin	β-karotin
-2.	10,56 ± 0,64	10,56 ± 0,64	10,56 ± 0,64	9,00 ± 0,81	9,00 ± 0,81	9,00 ± 0,81
0.	10,53 ± 0,38	10,27 ± 0,38	10,12 ± 0,43	9,40 ± 0,55	8,83 ± 1,17	9,00 ± 0,63
1.	9,51 ± 0,31	9,51 ± 0,36	9,38 ± 0,37	7,57 ± 2,23	4,14 ± 2,41	5,29 ± 3,09
2.	9,13 ± 0,19	10,50 ± 0,38	10,58 ± 0,36	8,57 ± 0,98	7,00 ± 3,65	6,29 ± 3,73
3.	8,79 ± 0,13	10,93 ± 0,34	10,87 ± 0,22	6,29 ± 1,50	8,29 ± 1,6	9,00 ± 1,00
4.	8,75 ± 0,27	10,69 ± 0,22	10,56 ± 0,21	7,29 ± 1,11	7,43 ± 1,27	9,57 ± 0,79
5.	9,43 ± 0,41	10,95 ± 0,14	11,04 ± 0,18	6,29 ± 1,11	8,00 ± 1,15	9,29 ± 0,95
6.	8,85 ± 0,15	11,11 ± 0,19	10,82 ± 0,34	6,43 ± 1,4	8,57 ± 0,79	10,00 ± 0,0

21. táblázat Az összes tojástömeg (tojásmassza) csoportonkénti alakulása a kísérlet során

Hét	Heti összes tojástömeg (g)		
	Kontroll	Likopin	β-karotin
0.	98,95	90,65	91,08
1.	72,02	39,37	49,62
2.	78,23	73,53	66,53
3.	55,28	90,64	97,85
4.	63,81	79,42	101,06
5.	59,31	87,56	94,58
6.	56,93	103,18	108,22
Halmozott összes tojástömeg (g)*	**2696**	**3227**	**3647**

* 0-6. héten megtermelt tojások darabszáma és átlagos tömegük szorzata

22. táblázat. Szignifikancia szintek a kísérleti csoportok között

	Heti átlag tojástömeg			Heti átlag darabszám		
Hét	**L1-BC**	**L1-K**	**BC-K**	**L1-BC**	**L1-K**	**BC-K**
0.	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1.	ns	ns	ns	ns	*	ns
2.	ns	***	***	ns	ns	ns
3.	ns	***	***	ns	*	**
4.	ns	***	***	**	ns	***
5.	ns	***	***	*	*	***
6.	ns	***	***	***	**	***

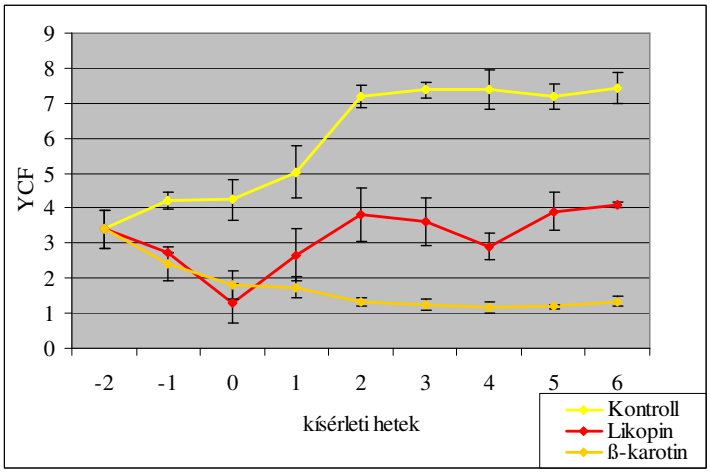
ns= nem szignifikáns, * = p<0,05 **= p<0,01, ***= p<0,001
L1: Likopin; BC: β-karotin; K: kontroll

23. táblázat. Csoporton belüli, kísérleti szakaszonkénti szignifikancia szintek

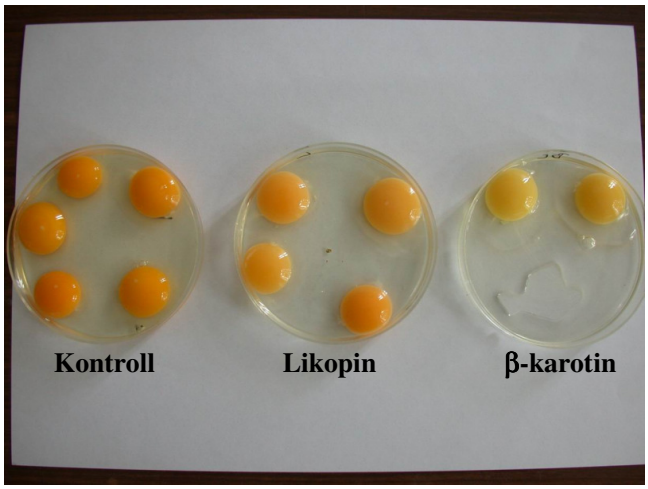
Kísérleti szakasz	Heti átlag tojástömeg			Heti átlag darabszám		
	K	**L1**	**BC**	**K**	**L1**	**BC**
-2–0. hét Kiürülés	*	*	*	ns	**	*
0-6. hét Kiegészítés	***	***	***	ns	***	***

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05 **= p<0,01, ***= p<0,001

A tojássárgája naponkénti színbírálatakor a 30% kukorica tartalmú tojótakarmányt fogyasztó kontroll csoport tojássárgái bizonyultak a legsötétebbnek (12. és 13. ábra), ami számszerűsítve YCF 7,19±0,33 színt jelentett és ez a szín két hét alatt alakult ki. Az eredmények alapján elmondható, hogy a β-karotinnak jelentéktelen a színező hatása, hiszen a depléciót követően a tojássárgája színértéke tovább csökkent és sárgás-fehérre fakult (YCF=1,25±0,07). A likopin kiegészítésű csoportra átlagosan a YCF 3,67±0,46 volt jellemző. A kiegészítés 4. hetében kismértékű visszaesést tapasztaltunk. A kontroll csoport és a depléciós fázisban lévő, csökkentett karotinoid tartalmú takarmányt fogyasztó csoportok között már az első héttől szignifikáns (p< 0,01) különbség volt, mely a második héttől p<0,001 szignifikancia szintre emelkedett. A karotinoid kiegészítés első hetének végére a Likopin és β-karotin csoport tojássárgáinak színe elvált egymástól és a szignifikáns különbség a kísérlet végéig megmaradt (p<0,001). Összegzésként elmondható továbbá, hogy a tartós szín kialakulásához mindkét karotinoid esetében 2 hétre volt szükség.



12. ábra. A különböző kísérleti csoportok tojássárgáinak színalakulása a vizsgálat ideje alatt



13. ábra. A három kísérleti csoport tojássárgájának színei a karotinoid kiegészítés 5. hetében

A 13. ábrán jól látható, hogy a β-karotin nem rendelkezik színező hatással, míg a likopin a tojást eredményesen megszínezte. A legerősebb tojássárgája színt a kukorica alapú (30 %) kontroll takarmányt fogyasztó csoport által termelt tojásoknál tapasztaltam.

Mindhárom csoportban mértük a szérum és tojássárgája triglicerid és összkoleszterin koncentrációit a 0. illetve 6. héten, ezzel vizsgálva a karotinoidok lipidanyagcserére gyakorolt hatását (24-25. táblázat). A tojás koleszterin és triglicerid szintjét mindkét karotinoid kiegészítés megnövelte, de szignifikáns különbséget sem a csoportokon belül (két időpontban), sem a csoportok között (kísérlet végén) nem mértünk. Statisztikailag értékelhető különbség mutatkozott a vér triglicerid koncentrációjában az 5. héten (kísérlet vége) a BC és Kontroll csoport között. A L1 és Kontroll csoport esetében pedig a 0-6. hét között csoporton belül csökkent ($p<0,05$) a triglicerid koncentráció. A vér összkoleszterin szintje ezzel szemben mind a β-karotin, mind pedig a likopin

kiegészített takarmányt fogyasztó csoportban alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban, a likopin esetében szignifikáns (p<0,01) különbség volt a kísérlet lezárásakor. A 0. és 6. hét összkoleszterin koncentráció változását összehasonlítva elmondható, mindhárom esetben szignifikánsan csökkent a koleszterin koncentráció csoporton belül, legerősebb hatása a likopinnak volt (p<0,001).

24. táblázat. A vér és tojás kísérlet végén mért triglicerid és koleszterin szintjei (x±s)

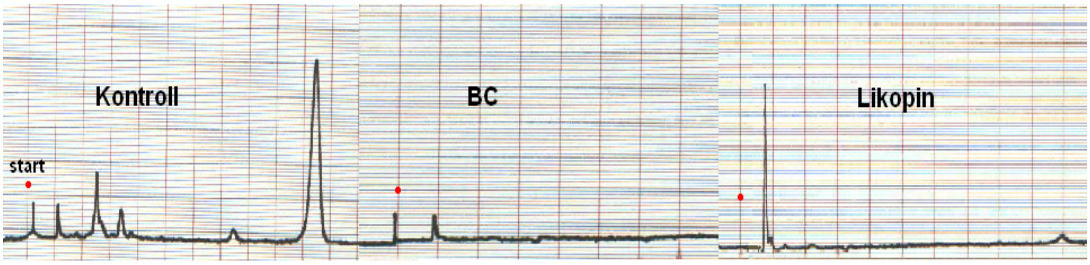
		Mintavétel	β-karotin	Likopin	Kontroll
Vér	Triglicerid (mmol/l)	0. hét	2,32 ± 0,03	2,33 ± 0,03	2,34 ± 0,01
		6. hét	2,29 ± 0,16	2,01 ± 0,37	1,93 ± 0,42
	Koleszterin (mmol/l)	0. hét	2,29 ± 0,64	2,16 ± 0,17	2,26 ± 0,29
		6. hét	1,12 ± 0,41	0,94 ± 0,33	1,51 ± 0,54
Tojás	Triglicerid (mmol/l)	0. hét	1,81 ± 0,16	1,33 ± 0,28	1,22 ± 0,56
		6. hét	1,84 ± 0,65	1,61 ± 0,68	0,92 ± 0,08
	Koleszterin (mmol/l)	0. hét	0,90 ± 0,72	0,56 ± 0,19	0,79 ± 0,59
		6. hét	0,76 ± 0,27	0,67 ± 0,43	0,48 ± 0,39

25. táblázat. A szérumból és tojássárgájából mért összkoleszterin és triglicerid koncentrációk csoportok közötti és csoporton belüli szignifikancia szintjei

	Vér		Tojás	
Csoporton belüli szignifikancia szintek				
Csoport	**Triglicerid 0-6. hét**	**Koleszterin 0-6. hét**	**Triglicerid 0-6. hét**	**Koleszterin 0-6. hét**
BC	ns	**	ns	ns
L1	*	***	ns	ns
K	*	**	ns	ns
Csoportok közötti szignifikancia szintek				
Összehasonlított csoportok	**Triglicerid 6. hét**	**Koleszterin 6. hét**	**Triglicerid 6. hét**	**Koleszterin 6. hét**
BC-K	*	ns	ns	ns
L1-K	ns	*	ns	ns
L1-BC	ns	ns	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05 **= p<0,01, ***= p<0,001
BC: β-karotin; L1: Likopin; K: Kontroll

A kísérlet zárásakor vett vérmintákból vizsgáltuk az egyes csoportok karotinoid profiljait (14. ábra). A kontroll csoport szérum mintáinak extraktumában több csúcs is kimutatható volt (β-karotin, β-kriptoxantin, kriptoxantin és lutein/zeaxantin), a kukoricaalapú takarmánynak köszönhetően, míg a kísérleti csoportok csak a kiegészítésként kapott β-karotin, illetve likopin csúcsot mutatták.



14. ábra. A kísérleti csoportok vérsavóinak karotinoid profiljai az 5. héten
detekciós hullámhossz: a Kontroll és BC (β-karotin) esetében 473 nm, a Likopin esetében 505 nm
a piros pont a minta felvitelt jelzi.

A vérből mért retinol (ROL) koncentráció (26-27. táblázat), ha nem is szignifikáns módon, de emelkedést mutatott a β-karotin kiegészítés esetén a kontrollhoz képest, míg a likopint fogyasztott csoportban jelentősen csökkent mind a kontrollal ($p<0,01$), mind pedig a β-karotin kezeléssel szemben ($p<0,001$). A májmintákból mért RP és ROL koncentrációk (26-27. táblázat) azt mutatták, hogy a kísérleti takarmányt fogyasztó csoportokban, ahol az A-vitamint is kivontuk a takarmányból mind a RP mind pedig ROL mennyisége csökkent, a likopin adagolásban részesült madarak esetében szignifikáns módon.

26 táblázat. A vér- és májminták retinoid-tartalma (x±s) a különböző csoportokban
a kísérlet végén

Retinoid	Minta	Kontroll	β-karotin	Likopin
RP	**Máj** (µg/g)	223,20 ± 4,5	216,6 ± 2,3	127,8 ± 73,4
ROL	**Máj** (µg/g)	125,0 ± 45,8	116,4 ± 60,2	83,9 ± 26,0
	Vér (µg/dl)	109,33 ± 16,42	133,87 ± 12,22	33,07 ± 8,81

27. táblázat. A szérumból és májból mért retinoid koncentrációk
csoportok közötti szignifikancia szintjei

Összehasonlított csoportok	RP	ROL	
	Máj	Máj	Vér
BC-K	ns	ns	ns
L1-K	**	*	**
L1-BC	*	ns	***

*= $p<0,05$ **= $p<0,01$, *0*= $p<0,001$
BC: β-karotin; L1: Likopin; K: Kontroll

A vér összfehérje tartalmát vizsgálva (28. táblázat) elmondható, hogy sem a β-karotin sem a Kontroll csoport vérében nem volt változás a karotinoid keigészítést követően ($p>0,05$), míg a Likopin csoport átlagértéke mindkét másik csoport átlagértékét szignifikánsan meghaladta ($p<0,01$). A hematokrit és hemoglobin értékekben nem volt szignifikáns különbség sem a csoportok között, sem pedig a csoportokon belül két mérési időpontban.

28. táblázat. A vizsgált vérparaméterek alakulása (x±s) a különböző csoportokban

Vizsgált vérparaméter	0.hét	6.hét		
	Közös minta	β-karotin	Likopin	Kontroll
Összfehérje (g/l)	33,26 ± 5,19	34,48 ± 2,89	43,82 ± 3,80**	30,7 ± 5,93
Hematokrit (l/l)	0,36 ± 0,038	0,32 ± 0,08	0,34 ± 0,06	0,39 ± 0,04
Hemoglobin (g/l)	155,33 ± 27,23	156,76 ± 26,32	146,70 ± 27,93	161,87 ± 22,26

**= p<0,01a kezdeti értékhez viszonyítva

4.4 A likopinkiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet)

A három kísérleti csoportból hetente 5-5-5 madarat *lege artis* elvéreztettünk, azok test-, és májtömegét, valamint egyes élettani-, és vér paramétereit mértük. Az A-vitamin és likopin kiegészítésben részesült csoport (L3+Av) valamint a kísérleti takarmányt fogyasztó, kiegészítés nélküli Kontroll csoport között szignifikáns testtömeg különbség (p<0,05) mutatkozott az első hét végén (29. táblázat). A likopint fogyasztó, de A-vitamin mentes csoport (L3: 14,1 mg/kg likopin) testtömege mindkét másik csoportét meghaladta, de a nagy szórás miatt ebben az esetben szignifikáns különbséget nem mértünk. A második hét végére a teljes állomány testsúlya kiegyenlítődött. A kontroll csoport első és harmadik heti testtömege között p<0,05 szignifikancia szintet mértünk. Statisztikai különbséget máshol nem mértünk.

29. táblázat. A kísérleti csoportok test-, és májtömegének alakulása (x±s) a kísérlet során

	Csoport	0. hét	1. hét	2. hét	3. hét
Testtömeg (g)	L3+Av		155,23 ± 13,11	161,27 ± 9,62	158,88 ± 9,05
	L3	147,77 ± 18,19	159,31 ± 21,27	160,10 ± 18,89	163,59 ± 8,31
	Kontroll		137,30 ± 7,76	156,91 ± 19,62	161,18 ± 7,97
Májtömeg (g)	L3+Av		5,26 ± 1,10	5,08 ± 0,47	5,68 ± 0,60
	L3		4,80 ± 1,26	4,32 ± 1,37	4,64 ± 0,72
	Kontroll		4,57 ± 1,49	5,10 ± 0,74	5,33 ± 0,76

L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

A májtömeget mérve megállapítható, hogy a kísérlet egész ideje alatt a legnagyobb átlagos máj tömege a L3+Av csoportnak volt, de szignifikáns különbséget (p<0,05) sem a csoportok között sem pedig csoporton belül nem mértünk.

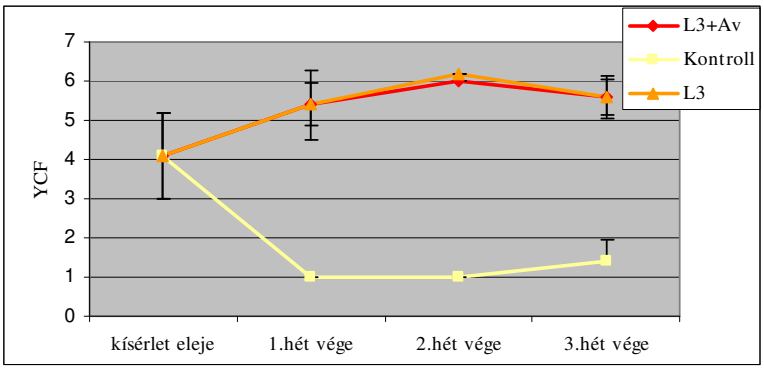
A tojások tömegét (30. táblázat) a likopin mindkét csoportban növelni tudta, de a különbség nem volt szignifikáns. A kontroll csoport értékei ingadoztak a mérési időpontok során, de kísérlet zárásakor az eredeti tömegnél kevesebbet mértünk. Statisztikai különbség itt sem mutatkozott.

30. táblázat. A tojások heti átlagtömegének alakulása (x±s) a kísérlet során

Csoportok	0. hét	1. hét	2. hét	3.hét
L3+Av		10,81 ± 0,85	10,83 ± 0,62	10,96 ± 0,74
L3	10,49 ± 0,60	11,13 ± 0,74	11,40 ± 0,80	11,28 ± 0,63
Kontroll		11,13 ± 0,64	10,49 ± 0,33	10,34 ± 0,25

L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

A tojássárgája színbírálatakor már egy hét elteltével szignifikáns ($p<0,05$) különbség mutatkozott a két likopin kiegészítésű, illetve az Kontroll csoport között (15. ábra). Az L_3+Av, ill. a L3 csoportnál azonos színt mértünk, tehát a YCF azonos görbét írt le a vizsgálati időtartam alatt. A csökkentett karotinoid tartalmú takarmányt fogyasztó, kiegészítés nélküli Kontroll csoport tojássárgája az első hét végére YCF= 1-re halványodott és ezt a színt a kísérlet végéig tartotta.



15. ábra. A tojások sárgáinak színe (YCF értéke) a kísérlet során

Vérparamétereket három időpontban vizsgálva (31-33. táblázat), a hematokrit értékekben egyetlen esetben mértünk $p<0,05$ szintű statisztikai különbséget, a L3 és L3+Av csoport között, a vizsgálat első hetének végén. A többi időpont és csoport között nem volt szignifikáns eltérés, sem a hematokrit értékekben, sem pedig a hemoglobin koncentrációkban. A csoporton belüli értékeket összehasonlítva elmondható, hogy az L3+Av csoport hematokrit értéke szignifikánsan csökkent a 2. hét végére, majd a kísérlet végére enyhén emelkedett.

Az összfehérje koncentrációkat a likopin kiegészítés, a kísérlet első hetének végére jelentősen növelte a kontrollhoz képest ($p<0,001$). A L3+Av csoport átlagértéke a L3 csoportét is szignifikánsan meghaladta. A második hétre L3+Av csoport összfehérje koncentrációja csökkent, majd a 3. hétre ugyanazon a szinten maradt. Az L3 csoport összfehérje értékei folyamatosan nőttek a három mérési időpontban. A 3. hét végére a L3 csoport szignifikáns nagyobb átlagértékkel bírt mint az L3+Av. A kontroll csoport átlagértéke a második hét végére szignifikánsan nőtt, majd enyhe csökkenést mértünk.

31. táblázat A vér összehérje és hemoglobin koncentrációinak valamint hematokrit értékének alakulása (x±s) a három csoportban a kísérlet során

Vizsált vérparaméter	Csoportok	1. hét	2. hét	3. hét
Összfehérje (g/l)	L3+A vitamin	49,28 ± 1,76	43,26 ± 2,13	43,60 ± 1,43
	L3	42,18 ± 1,19	45,01 ± 4,20	50,21 ± 3,11
	Kontroll	36,17 ± 1,36	45,01 ± 4,20	43,13 ± 2,97
Hematokrit (l/l)	L3+A vitamin	0,40 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,33 ± 0,05
	L3	0,32 ± 0,06	0,30 ± 0,04	0,36 ± 0,04
	Kontroll	0,36 ± 0,09	0,35 ± 0,04	0,32 ± 0,09
Hemoglobin (g/l)	L3+A vitamin	116,43 ± 25,04	112,00 ± 3,61	95,6 ± 15,44
	L3	89,25 ± 13,50	111,75 ± 16,13	110,25 ± 9,53
	Kontroll	92,33 ± 32,62	102,5 ± 9,26	94,33 ± 34,01

L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

32. táblázat. Csoportok közötti szignifikancia szintek a vér összehérje és hemoglobin koncentrációinak valamint hematokrit értékének mérésekor

Vizsgált vérparaméter	Összehasonlított csoportok		1.hét	2. hét	3. hét
Összfehérje	L3+Av	K	***	ns	ns
	L3	K	***	ns	ns
	L3	L3+Av	***	ns	*
Hematokrit	L3+Av	K	ns	ns	ns
	L3	K	ns	ns	ns
	L3	L3+Av	*	ns	ns
Hemoglobin	L3+Av	K	ns	ns	ns
	L3	K	ns	ns	ns
	L3	L3+Av	ns	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05, ***= p<0,001

33. táblázat Csoporton belüli szignifikancia alakulása a vér összehérje és hemoglobin koncentrációinak valamint hematokrit értékének esetében

Vizsgált vérparaméter	Csoportok	1-2 hét	1-3 hét	2-3 hét
Összfehérje	L3+Av	*	**	ns
	L3	ns	*	ns
	Kontroll	**	*	ns
Hematokrit	L3+Av	*	*	ns
	L3	ns	ns	ns
	Kontroll	ns	ns	ns
Hemoglobin	L3+Av	ns	ns	ns
	L3	ns	ns	ns
	Kontroll	ns	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05, **= p<0,01
L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

A vér glükóz szintje a L3+Av csoport esetében az 1-2 héten emelkedést mutatott, majd a 3. hét végére enyhe csökkenést mértünk (34-36. táblázat). A másik két csoport átlagértékeivel összehasonlítva, a kontroll csoporttal az első héten, míg a likopin kiegészítésű (L3) csoporttal szemben az első két hétben szignifikáns különbséget mértünk. A L3 és Kontroll csoportok között

szignifikáns különbség nem mutatkozott. A kontroll csoport glükóz koncentrációja a 2. hétre szignifikánsan nőtt (p<0,05)

34. táblázat. A szérum glükóz és fruktóz-amin szintjének (x±s) alakulása a kísérlet során

Csoportok	1. hét	2. hét	3. hét	Korrelációs együttható
		Glükóz (mmol/l)		
L_3+Av	12,77 ± 0,4	13,43 ± 1,55	13,03 ± 2,00	**0,998**
L_3	10,8 ± 0,57	11,30 ± 0,36	11,65 ± 0,07	**0,958**
Kontroll	9,43 ± 0,62	11,50 ± 0,20	10,50 ± 1,41	**0,987**
		Fruktóz-amin (mmol/l)		
L_3+Av	2,14 ± 0,05	3,15 ± 0,16	2,58 ± 0,07	
L_3	1,77 ± 0,09	2,67 ± 0,11	2,82 ± 0,12	
Kontroll	1,75 ± 0,09	1,96 ± 0,09	1,83 ± 0,05	

L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

35. táblázat. A glükóz és fruktóz-amin értékek csoportok közötti szignifikancia szintjei

Összehasonlított csoportok		Hét	Glükóz	Fruktóz-amin
L3+Av	**K**	**1.hét**	***	**
		2.hét	ns	**
		3.hét	ns	***
L3	**K**	**1.hét**	ns	ns
		2.hét	ns	**
		3.hét	ns	**
L3+Av	**L3**	**1.hét**	**	**
		2.hét	*	*
		3.hét	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05; **= p<0,01; ***= p<0,001
L3+Av: Likopin + A-vitamin kiegészítés; L3: Likopin kiegészítés

36. táblázat. A glükóz és fruktóz-amin értékek csoporton belüli szignifikancia szintjei a kísérlet során

Csoport	Hét	Glükóz	Fruktóz-amin
L_3+Av	**1-2**	ns	***
	1-3	ns	***
	2-3	ns	***
L_3	**1-2**	ns	***
	1-3	ns	**
	2-3	ns	ns
K	**1-2**	**	*
	1-3	ns	ns
	2-3	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = p<0,05; **= p<0,01; ***= p<0,001

A fruktóz-amin szint a vércukorszint időfüggő indikátora. Mindkét likopin kiegészítés a fruktóz-amin szintet növelte. A L3+Av csoport átlagértékei mindkét másik csoport átlagértékeinél szignifikánsan nagyobbak voltak (34-36. táblázat) az első 2 hétben, majd a 3. hét végére a különbség p>0,05 szintre csökkent a L3 csoporthoz képest. A L3 és Kontroll csoport között a különbség az első hét végén még nem volt szignifikáns, a további két mérés esetében azonban p<0,01 szintre emelkedett. A korrelációs együttható értéke mindhárom csoportnál >0,95 értéket

adott, ami azt jelenti, hogy a vércukorszint és a szérum fruktóz-amin szint közötti szoros összefüggés japán fürjben is igazolódott.

A vér és máj antioxidáns állapotát FRAP módszerrel, hetente mértük (37. táblázat). A szérumból vett minták esetében L3+Av és a Kontroll csoport között statisztikai különbség mutatkozott az 1. és a 3. héten ($p<0,05$). A likopin kiegészítésű csoport (L3) és a Kontroll csoport értékei ingadoztak a három mintavételi időpontban, míg az L3+Av csoport értékei azonos szinten maradtak. Elmondható továbbá, hogy a kontroll csoport májmintájának FRAP értéke a 3. hét végére szignifikáns csökkenést mutatott.

37. táblázat. A kísérleti csoportok szérumból és májból mért FRAP értékeinek (x±s) alakulása a kísérlet során

Csoportok	1. hét	2. hét	3. hét
		Vér (mg/l)	
L_3+Av	3,57 ± 0,65	3,96 ± 0,51	3,47 ± 0,51
L_3	2,71 ± 0,57	3,98 ± 0,39	2,08 ± 1,54
Kontroll	2,33 ± 0,53	3,80 ± 0,25	1,69 ± 0,36
		Máj (mg/l)	
L_3+Av	0,83 ± 0,36	0,97 ± 0,08	0,73 ± 0,15
L_3	0,80 ± 0,20	0,91 ± 0,11	0,59 ± 0,12
Kontroll	0,86 ± 0,16	1,15 ± 0,20	0,47 ± 0,06**

**=p<0,01 az első héthez viszonyítva
L3+Av: Likopin és A-vitamin kegészítés; L3: Likopin kiegészítés

A szérum triglicerid és összkoleszterin szintet három időpontban mértük (38-39. táblázat). A triglicerid szint a L3+Av csoportban ingadozott, az L3 csoportban nem szignifikánsan, de csökkent, míg a kontroll csoportban szignifikánsan növekedett az első két hétben, majd változatlan maradt. A likopin kiegészítés a vér összkoleszterin szintjét az L3+Av csoportban már a 2. héten míg az L3 csoportban a kísérlet végére csökkentette.

38. táblázat. A vér triglicerid és összkoleszterin koncentrációk alakulása (x±s) a kísérleti csoportokban

Csoport	1. hét	2. hét	3. hét
		Triglicerid (mmol/l)	
L_3+Av	6,21 ± 0,29	5,90 ± 0,95	6,13 ± 0,42
L_3	6,24 ± 0,10	6,03 ± 0,47	5,42 ± 0,74
Kontroll	5,43 ± 0,09	6,31 ± 0,15	6,30 ± 0,19
		Összkoleszterin (mmol/l)	
L_3+Av	4,95 ± 0,24	3,69 ± 0,84	3,60 ± 0,67
L_3	4,40 ± 0,60	4,21 ± 0,27	3,47 ± 0,37
Kontroll	4,34 ± 0,37	4,59 ± 0,37	5,16 ± 1,4

ns= nem szignifikáns, **= p<0,01, ***= p<0,001
L3+Av: Likopin és A-vitamin kegészítés; L3: Likopin kiegészítés

39. táblázat. A vér triglicerid és összkoleszterin koncentrációinak csoporton belüli szignifikancia szintjei a kísérlet során

Csoport	1-2 hét	1-3 hét	2-3 hét
	Triglicerid		
L_3+Av	ns	ns	ns
L_3	ns	ns	ns
Kontroll	***	***	ns
	Összkoleszterin		
L_3+Av	*	**	ns
L_3	ns	*	*
Kontroll	ns	ns	ns

40. táblázat. A vér triglicerid és összkoleszterin csoportok közötti szignifikancia szintjei

Csoportok		1. hét	2. hét	3. hét
		Triglicerid		
L_3+Av	**L_3**	ns	ns	ns
L_3+Av	**K**	**	ns	ns
L_3	**K**	***	ns	Ns
		Összkoleszterin		
L_3+Av	**L_3**	ns	ns	ns
L_3+Av	**K**	*	ns	ns
L_3	**K**	ns	ns	ns

ns= nem szignifikáns, * = $p<0,05$ **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$

4.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly és szintetikus likopin-készítmény etetését követően

Két hét kiürülési fázist követően öt hétig, két különböző likopin kiegészítést alkalmaztunk a Ptörköly illetve Likopin500 csoportokban, csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmány adagolása mellett. Öt hét elteltével kukorica alapú takarmányt etettünk az állatokkal további két héten át.

A likopinmolekula felszívódási helye

Az 5 hetes nagy dózisú (500 mg/tak.kg) likopin kiegészítést követően *lege artis* elvéreztetett állatokból vizsgáltuk a duodenum és jejunum nyálkahártyáinak likopintartalmát. A bélnyálkahártya homogenizátumból elvégzett likopin mérés eredményei azt mutatták, hogy a jejunum nyálkahártyája mintegy háromszor több likopint tartalmaz, mint a duodenum (41. táblázat).

41. táblázat. A vékonybél szakaszok likopin koncentrációi és szárazanyag-tartalma (x±s)

Bélszakasz	Likopin (µg/g)	Szárazanyag (%)
Duodenum	1,11 ± 0,22	12,43 ± 2,00
Jejunum	3,26 ± 0,62 **	12,66 ± 2,12 ns

ns=nem szignifikáns, **= p < 0,01 a duodenumhoz viszonyítva

A paradicsomtörköly, mint lehetséges likopinforrás hasznosulása

A paradicsomtörköly fogyasztás során antinutritív hatást nem tapasztaltunk. A likopin mindkét kísérleti adalékanyagunkból eredményesen felszívódott és hasznosult. Ezt az általunk vizsgált minták likopin tartalmai igazolták (42. táblázat).

42. táblázat. A vér, a máj és a tojás likopin-tartalma a kísérlet különböző szakaszaiban (x±s)

Minta	Ptörköly		Likopin500	
	Kiegészítés vége	Visszaetetés vége	Kiegészítés vége	Visszaetetés vége
Vér (µg/dl)	0,52 ± 0,13	nk	7,59 ± 3,12	1,28 ± 0,55*
Tojás (µg/g)	1,46 ± 0,15	0,1 ± 0,04***	23,61 ± 1,32	1,22 ± 1,25***
Máj (µg/g)	0,78 ± 0,1	-	20,89 ± 9,76	-

nk= nem kimutatható, * = p<0,05 **= p<0,01, ***= p<0,001

A kiürülési fázis végén, a likopin kiegészítést megelőzően a vérből, májból és tojásból vett minták nem tartalmaztak likopint. Ezt követően a likopin etetési, 2. szakasz végére a likopin mindkét csoportban dózisfüggően, de megjelent, majd a likopin elhagyásával a két hetes visszaetetés végére az Likopin500 csoportban hatodára csökkent, míg a Ptörköly csoportban már nem volt kimutatható. A 42. táblázat szemlélteti továbbá a tojássárgájában a likopin koncentráció alakulását. A tojásban mért értékek mindkét likopint fogyasztó csoportban a vérhez hasonló tendenciát mutattak, de annál jóval magasabb értékek voltak mérhetők.

Ha a takarmányba kevert és a tojásból visszamért likopin mennyiségét összevetjük a két csoportban, akkor ez a paradicsomtörköly (Ptörköly) esetében 5,84%-os, míg a Likopin 500 csoport esetében 4,7%-os hasznosulást jelentett.

A likopin a májban szintén mindkét csoportnál mérhető volt. A májak átlagos tömege a kontroll csoportban 4,77±0,18 g, a Ptörköly csoportban 4,55±0,42 g míg a Likopin500 csoportban 4,63±0,39 g volt. Statisztikai különbség a máj tömegében nem mutatkozott.

A tojás koleszterin szintje a Likopin500 csoportban csökkent ugyan a kiegészítés hatására, de a különbség nem volt szignifikáns. A vér összkoleszterin szintjét mindkét likopin kiegészítés szignifikánsan csökkentette (43. táblázat). A Likopin500 csoportban a kukorica alapú takarmánnyal történő etetés hatására a koleszterin szint az eredeti érték fölé nőtt ugyan, de statisztikai különbség nem mutatkozott.

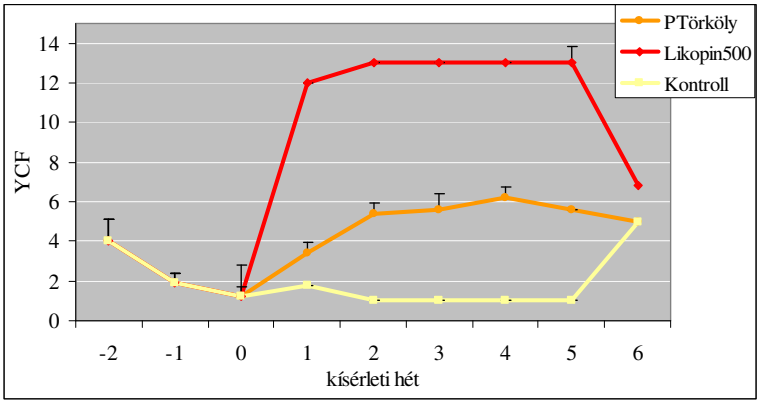
43. táblázat. A tojás és a vér összkoleszterin koncentrációk az egyes csoportokban a kísérlet során

Csoport	Likopin kiegészítés		Kukoricás Visszaetetés vége
	kezdete	vége	
Tojás (mmol/l)			
Likopin500	0,50 ± 0,13	0,36 ± 0,04	0,57 ± 0,12
Ptörköly	0,28 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,40 ± 0,06
Kontroll	0,34 ± 0,00	0,39 ± 0,10	0,51 ± 0,21
Vér (mmol/l)			
Likopin500	7,91 ± 0,81	5,15 ± 0,38*	5,67 ± 0,40
Ptörköly	8,36 ± 0,05	7,75 ± 0,08*	-
Kontroll	8,51 ± 0,03	5,96 ± 2,63	-

* = p<0,05

A tojássárgája színe a kísérleti csoportokban igen jellegzetesen alakult (16-17. ábra).

A kísérlet első és második fázisában a csökkentett karotinoid tartalmú kontroll csoportból származó tojások sárgájának a színe a YCF skála 1-2 tartományába sorolható, igen halványsárga volt (16. ábra).



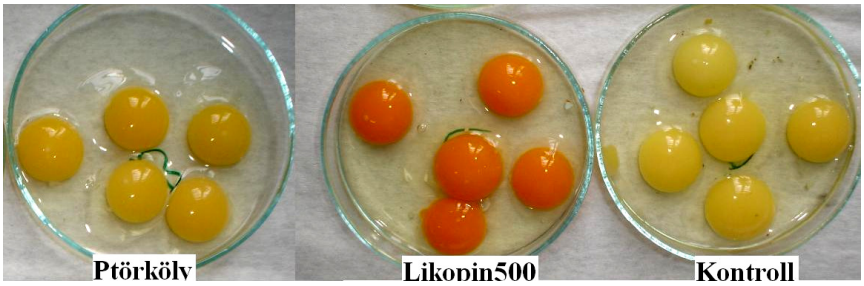
16.ábra. A kísérleti csoportok tojássárgáinak színalakulása a kísérleti hetek során

A kísérlet harmadik fázisában, a 30 % kukoricát tartalmazó tojótakarmány etetésének hatására, a kontroll madarak tojássárgája színe YCF 5-re erősödött.

A Likopin500 csoportból származó tojássárgája színe már egy hetes likopin etetést követően intenzív sárgára váltott. A YCF értékek >12 értéket mutattak, és ez a színintenzitás a kiegészítés végéig megmaradt (16. ábra). A likopin etetés befejezésével a tojássárgájának színárnyalata ugyan halványult, de a kukoricából származó természetes oxikarotinoidok (lutein, zeaxantin) hatására a YCF skála 6,8 ± 0,83-as értéket mutatott.

A paradicsomtörkölyt fogyasztó állatok tojás sárgáinak színe két hét alatt állt be YCF 5,7 ± 0,35 átlagos értékre, melyet a likopinkiegészítés végéig megtartott a csoport. A kukorica alapú takarmánnyal történő visszaetetés a paradicsomtörköly esetében enyhe színhalványulást eredményezett (YCF=5).

A csoportok között a szignifikáns ($p<0,001$) különbség már a 2. szakasz első hetének végére kialakult, és a kísérlet végéig megmaradt. A három csoport tojássárgáinak jelentős (a kiegészítés végén mért) színbeli különbségeit a 17. ábra mutatja.



17. ábra. A kísérleti csoportok tojássárgáinak színei a likopin kiegészítést követően

Az ábrán jól látszik, hogy a paradicsom törköly (Ptörköly) a tojásokat homogénen megszínezte (YCF=5,6±0,55). A Likopin500 sötét narancssárga színe számszerűsítve YCF=13, míg a rizsalapú kontroll YCF=1 értéket adott, míg szórás érdemben egyik esetben sem volt.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A rizs, a búza, a napraforgódara és az extrahált szójadara ≤1 mg/kg koncentrációban tartalmaz luteint és zeaxantint, ezzel alkalmassá válnak karotinoid-kutatások kísérleti takarmányának összeállítására. A rizs, mint takarmány alapanyag akár 40 %-os koncentrációban is alkalmazható lehet tojómadarak számára összeállított karotinoidokban szegény kísérleti takarmányok előállítása során.

2. A karotinoidok kiürülése japán fürj tojókban már 10 nap elteltével mérhető, azonban a teljes kiürüléshez 2-3 hétre van szükség. A likopin tojásban való beépüléséhez legalább 2 hét szükséges, de ezen időtartam extrém nagy dózis esetén (500mg/tak. kg) 1 hétre csökkenthető

3. Csökkentett karotinoid tartalmú takarmány etetése esetén, a likopin már 4,6 mg/kg dózisban megszínezi a tojást (YCF=3,75±0,72), de még 500 mg/kg dózisban sem érhető el YCF>13 érték. Ez az eredmény arra utal, hogy a tojásban karotinoid szaturáció feltételezhető.

4. A likopin a vér összkoleszterin szintjét már 4,7 mg/kg koncentrációban csökkenti japán fürjben, amely hatás azonban a tojássárgájában nem volt kimutatható.

5. A likopin hatással van a vér egyes biokémiai paramétereire japán fürjben, az összfehérje, a glükóz és fruktóz-amin szinteket különösen a kiegészítés kezdeti szakaszában növeli. A hematokrit értékre és hemoglobin koncentrációra a likopinnak japán fürjben nincs hatása.

6. A likopin felszívódási helye japán fürjben a vékonybél duodenum (25,4 %) és jejunum (74,6 %) szakasza, amelyek közül a jejunum tekinthető dominánsnak.

7. A paradicsomtörkölyből, mint természetes likopinforrásból származó likopin a szintetikus likopinnal azonos hatásfokkal szívódik fel és épül be a tojásba.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1 Kísérleti takarmány

5.1.1. Új, csökkentett karotinoid tartalmú takarmány előállítás

Ha a karotinoidok vagy a retinoidok metabolizmusát vizsgáljuk, akkor a megfelelően összeállított kísérleti alaptakarmány segítséget nyújt a vizsgálandó paraméterek pontos feltérképezésére baromfiban. Ekkor törekedni kell arra, hogy az alaptakarmány lehető legkisebb mennyiségben tartalmazzon karotinoidokat. A búza és árpa megfelelő alapanyagok lehetnek (Karadas *et al*., 2006b) de beltartalmukat tekintve nem elegendőek az általában nagy xantofill tartalmú kukorica kiváltására.

Karotinoid „mentes" alapanyagnak a rizst (*Oryza sativa*) választottuk, amely alkalmasnak bizonyult tojótakarmányba való bekeverésre és 40 %-os bekeverési arány mellett sem eredményezett takarmány-visszautasítást vagy termelés-csökkenést madarainkban. A rizs az egyik legkedvezőbb aminosav összetételű takarmány és élelmiszer alapanyag (Eggum, 1979). A HPLC-vel végzett karotinoid-spektrum méréseink igazolták, hogy a rizs gyakorlatilag nem, a búza, napraforgódara és extrahált szójadara pedig igen kis mértékben tartalmaz luteint és zeaxantint. Búzából mért xantofill tartalmunk (0,91±0,17) összhangban van Leenhardt *et al.* (2004) eredményével. Méréseink szerint a full-fat szója viszonylag magas xantofill tartalommal rendelkezik, ami a szója zsírtartalmával magyarázható. A szója, 18-20 % (Schmidt, 1990; Leeson és Summers, 2005), zsírtartalma a lipofil karotinoidok jelenlétének kedvez.

5.1.2 A vizsgálatokhoz szükséges likopinforrások likopin tartalmának meghatározása

Likopin tartalomra vonatkozó mérési eredményeink összhangban állnak más kutatócsoportok által mért eredményekkel (Bicanic *et al*., 2003; Lugasi *et al*., 2003; Knoblich *et al*., 2005). Az eredmények összehasonlításánál azonban figyelembe kell venni azt a tényt, hogy a paradicsom likopintartalma, fajta, éghajlat és termőterület függvényében jelentős eltérést mutat (Brandt *et al*., 2003; Lugasi *et al*. 2004) illetve, hogy a mérések csak teljesen azonos mintaelőkészítési és módszer beli azonosság esetén vethetők össze.

5.2 A karotinoidok kiürülési (depléciós) fázisának meghatározása és dózisfüggő hatásvizsgálatok (1. kísérlet)

Kísérletünkben azt tapasztaltuk, hogy a csökkentett karotinoid tartalmú és A-vitamin mentes takarmány etetése után a tojássárgája színének halványulása már az első héten elkezdődik, ami arra enged következtetni, hogy más szervek zsírfrakciójában raktározódó karotinoidok, nem csoportosulnak át, nem mobilizálódnak. Japán fürjekben a karotinoidok tojásból való kiürüléséhez 3 hétre volt szükség (10. ábra). Ez idő alatt a máj RP tartalma is jelentősen ($p<0,05$) csökkent (17. táblázat). Mivel a retinil-palmitát az A-vitamin legfőbb tárolási formája, a drasztikusan csökkent mennyiség az jelenti, hogy a szervezet az A-vitamin igényét a májban képzett tartalékából mobilizációval pótolta. Tehát az alkalmazott takarmány valóban retinoid mentes volt és minimális mennyiségű karotinoidot tartalmazott. Ezt igazolja a 5.3.1 kísérletben szérumból felvett karotinoid profil (14. ábra) is amelyben a kiegészítésként adagolt karotinoidokon (BC és likopin) kívül a kísérleti állatok vérében más karotinoid nem volt kimutatható. Azt, hogy a kísérleti takarmányunk likopint nem tartalmazott, azt a kísérlet három fázisában, tojássárgájából 505 nanométeren felvett négy kromatogramm, igazolja, ahol depléció fázisának 0. és 6. hetében nem rajzolódik a likopinra jellemző csúcs, míg a likopin kiegészítést (L2 és L3 dózis) követően a kísérlet zárásakor karakteres csúcs látható (11.ábra).

A kísérlet második szakaszában (7-9. hét) a tojások sárgáinak színe a likopin etetés hatására egy hét alatt átlagosan YCF 1-ről YCF 2,44±0,31 illetve 3,50±1,35 értékre emelkedett (10.ábra), majd a következő két hétben a likopin beépülés tovább folytatódott, ami egyre sötétebb árnyalatúvá változtatta a tojássárgáját. Ez igazolja a korábbi megfigyeléseket, amely szerint a színanyag tojásban való megjelenéséhez akár egyetlen nap elegendő, de a homogén szín kialakulásához, már legalább 4-5 nap szükséges (Hatzipanagiotou és Hartfiel, 1984). A likopin kiegészítés japán fürjben a házityúkhoz hasonlóan eredményesen alkalmazható, mivel az a tojásba, beépül és deponálódik (Bárdos *et al*, 2005; Olson *et al*., 2008).

A tojások heti átlagtömegében kismértékű csökkenés volt mérhető a depléciós fázis első hetében, amely valószínűleg a takarmányváltás okozta „stressznek” tudható be. A második héttől a kísérlet lezárásáig nem volt szignifikáns változás a tojások tömegében, még a likopin kiegészítés hatására sem.

A vérplazma FRAP értéke a depléciós fázisban ingadozott, majd a likopin kiegészítés hatására a magasabb dózisú csoportban (L3:14,1 mg/kg) tendenciózusan emelkedni kezdett, viszont az kisebb dózisú L2 csoportnál (9,4 mg/kg) nem változott. Ez a likopin antioxidáns jellegére utal, ami dózisfüggőnek mutatkozott, bár a változás nem volt szignifikáns (18. táblázat). A tartósan karotinoid hiányos diéta esetleg negatívan befolyásolhatta, a szervezet antioxidáns státuszát.

Humán adatok bizonyítják, hogy a karotinoidok közül a likopin antioxidáns tulajdonsága kiemelkedő (Bárdos *et al*., 2011). Tojásból a likopin antioxidáns hatását FRAP módszerrel nem tudtuk kimutatni az értékek a kísérlet teljes időtartama alatt csökkentő tendenciát mutattak és a likopin kiegészítés 3. hetének végére a csökkenés elérte a szignifikáns szintet. Az eredményt befolyásolhatta, hogy az általunk alkalmazott módszert alapvetően vérplazmára dolgozták ki. Tojásból, három időpontban mért MDA értékek enyhe csökkenést mutattak a kísérlet során, ám statisztikai különbséget az értékek között nem mértünk. Korábbi vizsgálatunk alkalmával (Papócsi-Réthy *et al*., 2011) magasabb likopin koncentráció (57 mg/tak. kg) azonban szignifikáns csökkenést okozott a tojásból mért MDA értékekben. Ugyanerre az eredményre jutott Sahin *et* a*l*. (2006b) kísérletében, ahol 100 mg/tak. kg dózisban alkalmazott likopint és ez szignifikáns MDA szint csökkenést eredményezett. Ebből arra következtetünk, hogy az antioxidáns hatás dózisfüggő mértékben jelentkezik. Tehát, ha japán fürj tojókban erősebb antioxidáns hatást kívánunk elérni likopinnal, akkor magasabb dózis alkalmazása javasolt.

A szérumból mért összkoleszterin koncentráció (19. táblázat) már a kísérleti takarmány kizárólagos etetésének hatására is csökkeni kezdett, a likopin hozzáadást követően mindkét alkalmazott dózis esetén szignifikáns eredményt mutatott. A triglicerid szint az első szakaszban enyhén növekedett, de a likopin kiegészítés hatására jelentős ($p<0,001$ ill. $p<0,0001$) csökkenést mutatott. Mérési eredményeink összhangban vannak Safamehr *et al*. (2011) valamint Gregosits *et al*. (2009) korábban közölt eredményeivel, miszerint tojótyúkokban a likopin a vér koleszterin szintjét szignifikánsan csökkenti. .

5.3 A likopin és a β-karotin élettani hatásainak összehasonlítása (2. kísérlet)

A karotinoid kiegészítés hatással volt a tojástermelés paramétereire (20-23. táblázat). Damron *et al*. (1984), 1-15 mg/kg β-karotin kiegészítést alkalmazott, amely nem eredményezett szignifikáns testtömeg változást tojótyúkok esetében. Likopin kiegészítéssel viszont Calislar és Uygur (2010) tojótyúkban, Al-Betawi (2005) pedig brojercsirkékben mért szignifikáns testtömeg növekedést. A likopin esetében általunk is megerősítést nyert a testtömegre gyakorolt pozitív hatás.

A tojástermelési paramétereket vizsgálva, Calislar és Uygur (2010) valamint Yannakopoulos *et al*. (1992) eredményeihez hasonlóan, az általunk elvégzett kísérletben is növelte a likopin a tojások tömegét. A β-karotin kiegészítést követően a tojástermelés likopinnal megegyező termelési görbét írt le, tehát a karotinoid kiegészítés esetünkben nagyobb tojástömeget eredményezett.

Jafari *et al*. (2006) mind nagyobb tojástömeget mind pedig tojáshozam növekedést mért likopin tartalmú paradicsomtörköly etetése esetén. A két (Likopin, β-karotin) karotinoid esetünkben

is javította a termelést, a legtöbb tojást akkor gyűjtöttük madarainktól, amikor a takarmányt β-karotinnal egészítettük ki. Figyelemre méltó az eredmény, hogy a kísérleti takarmány etetése mellett alacsony dózisú karotinoid bevitellel jobb termelési eredményt tudtunk elérni mint a kukoricára alapozott tojótakarmánnyal.

A tojássárgája színbírálat alapján (12.ábra) a kontroll csoport tojássárgáinak színe 4 hét alatt állt be a YCF 7,19±0,33 értékre, amely meglepően hosszú időnek mondható. Valószínűleg a megváltozott takarmány-összetételhez adaptálódtak nehezebben a madarak. A YCF 7 körüli átlagérték az irodalmi adatokkal összhangban áll, 30-40% kukorica bekeverési aránya esetén (Hasin *et al*., 2006, García *et al*. 2010, Lokaewmanee *et al.,* 2011). A likopin kiegészítésű csoportra átlagosan a YCF 4,02±0,44 volt jellemző a kísérlet során, kivéve az 5. héten, ahol kismértékű visszaesést mértünk. Ezt valószínűleg inhomogén bekeverés eredményezhette, amit az öt tojás nagyon eltérő (4-5-2-2-3) színfokozatú eloszlása bizonyít. A tojássárgája a karotinoid kiegészítésű csoportok esetében két hét alatt érte el végleges színárnyalatát. A karotinoidok közül a β-karotin nem, illetve csak nagyon szerény mértékben rendelkezik színező hatással (Biscaro és Canniatti-Brazaca, 2006). Kang *et al.* (2003) hasonló dózisú likopin adagolással (4 mg likopin/tak.kg) megállapította, hogy a 4. naptól szignifikánsan sötétedett a tojássárgája színe. Ez alátámasztja eredményünket, hogy az általunk alkalmazott L1 dózis (4,7 mg/tak.kg) elegendő a likopin tojásba való sikeres beépüléshez és hatása mérhető.

A tojássárgája triglicerid és koleszterin szintjét mindkét (Likopin, BC) karotinoid kiegészítés növelte, de a kontrollhoz viszonyított különbség nem volt szignifikáns (24-25 táblázat). Gregosits *et al.* (2009) tojótyúkokkal végzett kísérletében megállapította, hogy a tojás koleszterin szintjére a likopin nincs csökkentő hatással. A vér koleszterin szintjét azonban mind a β-karotin mind pedig a likopin kiegészítésű csoport csökkenteni tudta, a likopin esetében $p<0,001$ szignifikancia szinten. Nem zárható ki az a feltételezés, hogy a likopin esetleg fokozza a tojáson illetve a bélsáron (Richardson *et al*., 2004) át történő koleszterin kiválasztást és ilyen módon járul hozzá a vér koleszterinszintjének csökkenéséhez. A tojás relatív állandó koleszterin szintje azt is bizonyítja, hogy ez a létfontosságú biomolekula szükséges a potenciálisan a tojásban fejlődő új élet számára.

A kísérlet zárásakor vérmintákból HPLC-vel felvett kromatogramok, a szervezet karotinoid profilját mutatják (14. ábra) az egyes csoportokban. Ennek eredménye igazolta korábbi méréseinket, miszerint a csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmányunk nem tartalmazott annyi karotinoidot, amely a kromatogramon (a kísérleti karotinoid kiegészítéstől eltekintve) mérhető csúcsot adna.

A vérből mért retinol tartalom (26-27. táblázat) a 4,7 mg/kg β-karotin kiegészítésben részesült csoportban mérsékelt emelkedést mutatott, ami a β-karotin→ retinoid átalakulást jelzi. A

likopin esetében erőteljes csökkenés volt mérhető ($p<0,01$), hiszen az aciklusos (jonon gyűrűt nem tartalmazó) likopin nem provitamin, vagyis a karotinoid-retinoid átalakulás nem megy végbe. A májmintákban mért retinoid koncentrációk azt mutatták, hogy likopin kiegészítésben részesült madarak RP és ROL koncentrációi jelentősen csökkentek. A β-karotin esetében az A-vitamint tartalmazó, karotinoidokban dús kontroll csoport RP és ROL értékeinek 97 illetve 93%-át mértük a β-karotin esetében. Ágota (2000) munkájában arról számolt be, hogy japán fürjekben β-karotin kiegészítés hatására a máj RP és ROL koncentrációja emelkedett.

A szervezet általános egészségi állapotát mutató hematokrit értékre és hemoglobin koncentrációra a karotinoid kiegészítések egyike se volt hatással (28.táblázat) A vér összfehérje tartalmát a likopin a kiegészítés 5. hetére szignifikánsan emelte ($p<0,01$). Moawad (2007) patkányoknak 1 mg/kg dózisban adagolt likopin kiegészítés esetén 2,58%-os összfehérje koncentráció-emelkedést mért. Baromfiban ez idáig ilyen irányú vizsgálatot még nem végeztek.

5.4 A likopin-kiegészítés egyes élettani hatásai és összefüggése az A-vitamin ellátottsággal (3. kísérlet)

A csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmányt fogyasztó madarak (Kontroll) testtömegében visszaesés volt tapasztalható az első hét végére, majd egy héttel később, a testtömeg elérte a likopin kiegészítést fogyasztó csoportok testtömegét. Feltételezhető, hogy adaptációs időről lehetett szó, amíg a madarak az új takarmányhoz hozzászoktak. A 14,1 mg/tak.kg likopin kiegészítést (L3) illetve a likopin és A-vitamin (8300NE) kiegészítést (L3+Av) kapott állatok esetében ezt az adaptációs időt a likopin-kiegészítés kompenzálni tudta, amely egyenletes testtömeget eredményezett a kísérlet során.

A termelt tojások tömegét a likopin kiegészítés mindkét csoportban növelte, de statisztikai különbség nem volt. Ugyanezt az eredményt publikálta Nobakht és Safamehr (2007) akik tendenciájában emelkedést mértek a tojássúlyban, de szignifikanciát ők sem mutattak ki. Ennek oka lehet a tojások tömegében mért állományokon belüli nagy szórás.

A tojássárgája színbírálata alapján a L3+Av csoport ill az L3 csoport azonos színt mutatott és azonos görbét írt le a vizsgálati időtartam alatt (15. ábra). Ez annak tudható be, hogy az adagolt likopin mennyisége azonos volt, az A-vitamin nem befolyásolja a tojássárgája színének alakulását.

Egyes vérparaméterek három időpontban mért értékei alapján elmondható, hogy a likopin kiegészítésnek nem volt hatása a hematokrit és hemoglobin értékekre, míg az összfehérje tartalmat szignifikáns mértékben növelte főként a kiegészítés kezdetén (31. táblázat). Ez összhangban áll az 4.3. kísérletben vérből mért biokémiai értékekkel, ahol 5 hét likopin kiegészítést követően

magasabb összfehérje koncentrációt mértünk. Mérési eredményeink helyességét igazolja Straková et al. (2010) eredménye, akik japán fürjek vérparamétereit vizsgálva, a miénkkel azonos tartományba eső értékeket kaptak.

A szérum glükóz és fruktóz-amin szoros összefüggését bizonyította japán fürjben, hogy mindhárom csoport korrelációs együtthatója meghaladta a 0,95 értéket. Mindkét paraméter esetében (34. táblázat) nőtt a koncentráció likopin kiegészítés esetén, amely főként az első hét végén volt kiemelkedő. Pollack et al. (1999) patkányoknak 5%-ban adagolt likopint és mérései szerint ez a dózis nem okozott szignifikáns változást a vérplazma glükóz szintjében. Madarakban a vércukor szintre vonatkozó vizsgálatot likopin etetés estében mégnem végeztek.

A likopin kiegészítésnek nem volt hatása a szérum triglicerid szintekre, a különböző mérési időpontokban, de vérplazmából mért összkoleszterin szintet eredményesen csökkentette a likopin (38-40.táblázat). Ez igazolja a 1. és 2. kísérletekben kapott eredményeinket.

Összeségében elmondható, hogy az új, csökkentett karotinoid tartalmú kísérleti takarmány nem volt negatív hatással a vizsgált élettani paraméterekre, a testtömeg esetében azonban 2 hét adaptációs idővel számolnunk kell.

5.5 A likopin felszívódási helyének meghatározása és hasznosulása paradicsomtörköly valamint szintetikus likopin készítmény etetését követően (4. kísérlet)

A likopin felszívódási helyének meghatározása

A felszívódás jellemzésére beállított vizsgálatunk során a rendkívül nagy likopin adag (500 mg/tak. kg) miatt a kiegészítésben részesülő kísérleti fürj csoport (Likopin 500) alkalmasnak bizonyult a molekula emésztőcsatornában történő felszívódási helyének meghatározásra. Az abszorpciós folyamatok jellemzésére alkalmazott izotópjelzésű anyagokkal folyó vizsgálatok mellett a bélnyálkahártya nyúzat anyagtartalmának analízisével történő felszívódási vizsgálatok még mostanában is bevált módszerei a baromfiélettani kutatásoknak (Fan *et al*., 1997; Marounek *et al*., 2010; Tolosa de Talamoni *et al*., 1996).

Az általunk alkalmazott kísérleti elrendezés alapján megállapíthattuk, hogy japán fürjben a proximális vékonybélszakaszok nyálkahártyája eltérő mennyiségben tartalmazott likopint. Mivel a lege artis elvéreztetés követően az adott bélszakaszokokat hideg fiziológiás oldattal többször átmostuk, így a nyálkahártya felszíne nem tartalmazhatott likopintartalmú chymust. Ez azért tekinthető bizonyosnak, mert a kísérletben alkalmazott likopinkészítmény (Redivivo^{TM}, DSM) vízben oldható formula, így a szövet tömegének többszörösét jelentő öblítőoldattal történő átmosás bizonyosan eltávolította még a bélbolyhok közötti anyagot is. Az ezt követően készített

nyálkahártya homogenátumban mért likopin-koncentráció tehát a nyálkahártyasejtbe bejutott anyagot jelentette. Természetesen nem kizárt, hogy az általunk mért likopin koncentrációból az összmennyiség nem jut mind a keringésbe, hanem a bevezetésben írt funkciók értelmében egy részük helyben metabolizálódik.

Az előző gondolatot is figyelembe véve, az analízisek eredménye alapján, a vizsgált vékonybélszakaszok (duodenum és jejunum) tekinthetők a likopin felszívódás helyének. A két bélszakasz közül a szignifikánsan nagyobb likopin koncentráció alapján állítható, hogy japán fürjben különösen a jejunum nyálkahártyájának van intenzív szerepe a felszívódásban. A házityúk és a japán fürj már említett, és számos kísérletben bizonyított, élettani hasonlósága (Klasing, 1998; Gregosits *et al*., 2007) miatt ez a megállapítás a házityúkra is érvényes lehet.

A β-karotinnál már megállítást nyert, hogy a felszívódás helye madarakban a vékonybél. A felszívódás dózisfüggő mértékben, de közel azonos időben történik a japán fürjekben (Ágota, 2000). A likopin, más karotinoidokhoz hasonlóan a béllumenből passzív transzporttal szívódik fel az itt található zsírokból, illetve epesavakból kialakuló micellákba épülve, majd emlősökben kilomikronként a nyirokáramba jut. Madarakban, mivel a bélbolyhokban nincsenek nyirokkapillárisok, ezek a lipoidok az ún portomikron frakciót alkotják, azaz közvetlenül a portális keringésbe jutnak (King és McLelland, 1984). Egerekben kimutatták, hogy a vékonybélhámsejtben expresszálódó egyik koleszterin-transzporter nemcsak a ß-karotin és lutein, de a likopin felszívódásában is szerepet játszik (Moussa *et al*., 2008). Patkányok és vadászgörények több hétig tartó etetésével megállapították, hogy mely szövetekben raktározódik a likopin. Görények esetében a máj, bél, prosztata és gyomor szövetben mértek likopint a felsorolt szervekben egyre csökkenő koncentrációban. A kísérleti patkányokban máj, bél, gyomor, prosztata és here szövet volt a sorrend. Sajnos minkét faj esetében csak úgy írták le, hogy a „bél felső fele” volt a minta (Ferreira *et al*., 2000). Ebből arra gondolhatunk, hogy középbélszakaszok kerültek analízisre. A gyomorszövet likopintartalma viszont meglepő eredménynek minősíthető. Az idézett cikk ugyan ilyen következtetést nem von le, de nem zárható ki az sem, hogy a gyomor nyálkahártya likopin tartalma nem a felszívódás, hanem az intenzív metabolizmusú nyálkahártya saját szükségletének a mértékében volt jelen a szövetben. Mások szintén patkány kísérletekről hasonlóan szokatlan eredményt közöltek, miszerint a likopin molekula felszívódását nemcsak a vékonybélben, hanem a vastagbél proximális szakaszába juttatott likopin oldatból is sikerült kimutatni (Oshima *et al*., 1999).

A likopin hasznosulása paradicsomtörköly valamint szintetikus likopin készítmény etetését követően

Kétféle likopin forrást alkalmazva (Likopin500: 500 mg/tak.kg likopin szintetikus likopin készítmény formájában illetve Ptörköly: 25 mg/tak.kg likopin paradicsomtörköly formájában) a likopin mindkét esetben felszívódott és hasznosult. Ezt bizonyítja, hogy az 5 hetes takarmány-kiegészítés hatására a vérben megjelenik a likopin majd a kísérlet végére a kukorica alapú tojótáp etetésére térve a likopin koncentráció jelentősen lecsökken a vérben (42. táblázat). A tojásban mért értékek mindkét likopint fogyasztó csoportban a vérhez hasonló tendenciát mutattak, de annál jóval magasabb értékek voltak mérhetők, ami arra utal, hogy a likopin a tojásban raktározódik, a vérben pedig csak mobil formában egy hányada van jelen. Ha arányaiban vetjük össze a takarmányba kevert és a tojásból visszamért likopin mennyiségeket, akkor ez a paradicsomtörköly (Ptörköly) esetében 5,84%-os tojásba épülést, míg a Likopin 500 csoport esetében 4,7%-os tojásba épülést jelent. A paradicsomtörköly jobb hasznosulása annak tudható be, hogy a feldolgozás során a nyers paradicsomban lévő tipikusan transz izomerek cisszé alakulnak, mely javítja a biológiai hatékonyságot (Stahl és Sies, 1992; *Rao et al.*, 2003), a szintetikus likopin készítményben viszont főként (>70%) transz izomerek találhatóak.

A májban a likopin dózisfüggő mértékben szintén mérhető volt. Karadas *et al*. (2006a) japán fürjekben szintén leírta a likopin májban való eredményes deponálódását.

Mind 25 mg/tak.kg mind pedig 500 mg/tak.kg dózisú likopin kiegészítés szignifikáns mértékben csökkentette a vér összkoleszterin szintjét, míg a tojássárgája koleszterin szintjére nem volt hatással a likopin. (43. táblázat) Eredményünk összhangban áll Nobakht és Safamehr (2007) megállapításával, akik tojótyúkokban 5-10 % paradicsomtörköly adagolásával csökkenést mértek a szérum összkoleszterin szintben, míg tojássárgájában a koleszterin koncentráció emelkedett. Összegzésként elmondható, hogy mind a négy kísérletünkben mérési eredményeinkkel igazoltuk a likopin összkoleszterin csökkentő hatását vérben.

A kukorica alapú takarmány két hetes etetése mindhárom csoportban koleszterinszint emelkedést okozott a tojássárgájában (és Likopin500 csoport esetében a vérben). Ez az eredmény a Likopin500 és Ptörköly csoportok esetében részben a likopin bevitel megszüntetésével, részben (a Kontroll csoport esetében pedig kizárólagosan) a rizsalapú takarmány kukorica alapú takarmányra váltásával magyarázható. Ez alapján feltételezhető, hogy a kukorica fogyasztása a lipidanyagcserére hatással lehet.

A tojássárgájának színe a Likopin500 csoportban a likopin etetés hatására egy hét alatt elérte a YCF >12 értéket, amely színt likopin kiegészítésidőszakának végéig meg is tartott (16. ábra). A kukorica alapú tojótakarmány hatására a kísérlet utolsó két hetében a YCF érték 5-re ’zuhant’, ami némileg alacsonyabb, mint hasonló etetési kísérletekben megállapított YCF 7,8-8,4 körüli érték (Garcia *et al*, 2010; Hasin *et al*, 2006). Ennek oka a kísérlet első, majd második fázisa alatti rizs

alapú takarmány etetése lehetett, aminek fogyasztása alatt a kontroll csoport fürjeinek karotinoid készletei teljesen kiürültek.

Figyelemre méltó eredmény, hogy az extrém magas (500 mg/kg) likopin bevitel sem eredményezett YCF >13 értéket, ami azt jelenti, hogy a tojás „telítődik" vagyis egy adott dózis felett már nem képes további likopin raktározására. Ez egyezik Gregosits megállapításával (2010) aki 250 illetve 500 ppm likopint adagolva nem talált egyenes arányosságot sem likopin tartalomban sem pedig színintenzitásban a kétszeres dózis adagolása esetén. A paradicsomtörkölyt fogyasztó állatok tojás sárgáinak színe két hét alatt állt be YCF 5,7±0,35 átlagos értékre, amelyet a csoport a kezelési szakasz végéig meg tartott.

A 16-17. ábra igazolta, hogy a paradicsomtörköly homogénen bekeverhető és a tojássárgáját egyenletesen színezi meg, tehát alkalmasnak bizonyult tojótakarmányba való bekeverésre. Amennyiben nem rizsre alapozott kísérleti takarmányhoz adjuk a szárított paradicsomtörkölyt, hanem kukorica alapú tojótakarmányba keverve, úgy annak mennyisége csökkenthető és természetes eredetű színező anyagként szerves részét képezheti tojótyúkok gyakorlati takarmányozásának. Nagyüzemi körülmények között, elengedhetlen feltétel azonban a bekeverés előtti beltartalmi vizsgálat, melynek pontos ismeretében alapanyagként kerülhet a receptúrába a szárított paradicsomtörköly.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A likopin humán vonatkozásban széles körben elterjedt és ismert. Tudatos fogyasztása, főként paradicsom alapú termékek bevitelével csökkenti a szív-, és érrendszeri valamint a daganatos betegségek kialakulásának kockázatát, de ezen betegségek gyógykezelésben is szerepet játszhat. Állatok vonatkozásában élettani hatásai kevésbé ismertek, főként laborállatokon írtak le koleszterin-csökkentő, kemoprotektív és tumorképződést-gátló hatásokat. Baromfiban gyakorlati alkalmazása még nem terjedt el, de kísérletekkel már számos esetben igazolódott tojótyúkok egyes szerveiben való eredményes deponálódása.

A paradicsom feldolgozása során, főként hőkezelés hatására javul a molekula hasznosulása. Emiatt baromfi-takarmányozásban olyan formában érdemes a paradicsomot alkalmazni, amit valamilyen „feltárás" előzött meg. Kísérleteinkben sűrített paradicsomot, paradicsomtörkölyt, illetve szintetikus likopin-készítményt adtunk japán fürj tojóknak, a likopin élettani hatásainak feltérképezése céljából.

Kutatómunkámban arra kerestem a választ, hogy a likopin hogyan hasznosul a tojómadarak szervezetében. Ehhez a következőket tűztem ki célul:

- előállítani egy olyan kísérleti takarmányt, amely erősen csökkentett karotinoid tartalmú, és ezzel alkalmassá válik a likopin baromfi-szervezeten belüli nyomon-követésére, illetve hatásainak kimutatására;
- meghatározni a karotinoidok depléciós idejét, majd a kiürülést követően dózisfüggő hatásvizsgálatokat végezni likopinnal;
- meghatározni a likopin-molekula felszívódási helyét a fürjek vékonybelében;
- vizsgálatokat végezni a likopin élettani hatásainak tanulmányozására;
- megvizsgálni a paradicsomtörköly, mint természetes likopin forrás, hasznosulását tojómadarakban;

Ivarérett, aktív japán fürj tojókon végeztem el kísérleteimet. A rizs alapú, csökkentett karotinoid tartalmú takarmányba a likopint sűrített paradicsom, paradicsomtörköly, illetve szintetikus likopin-készítmény formájában alkalmaztam. Megvizsgáltam a karotinoidok kiürülési idejét, ezzel egyidőben mértem a vér és máj retinoid szintjeit. A likopin kiegészítés hatását mértem a test-, és májtömegen, a termelt tojások tömegén és darabszámán, valamint a szérum és tojássárgája összkoleszterin és triglicerid koncentrációkon, illetve a vér egyes biokémiai paraméterein keresztül. Szemi-kvantitatív módszerrel (YCF) értékeltük az egyes likopin források és dózisok tojásba való beépülésének fokát. Vizsgáltuk továbbá a molekula felszívódásának helyét modellállatunk, a japánfürj emésztőcsatornájában.

Eredményként elmondható, hogy a saját fejlesztésű, rizsalapú kísérleti takarmány alkalmasnak bizonyult a karotinoid metabolizmusra vonatkozó kísérleteink elvégzésére. A likopin mindhárom forrásból, azaz a sűrített paradicsomból, a paradicsomtörkölyből, illetve a szintetikus likopin-készítményből is hasznosul, a szervezetbe beépül, a tojást eredményesen megszínezi, a tojás tömegét növeli. A tojás koleszterin szintet nem, de a vér összkoleszterin szintjét szignifikánsan csökkenti. A vér biokémiai paraméterei közül a likopin növeli az összfehérje, valamint a glükóz és fruktóz-amin koncentrációit, míg a hemoglobin koncentrációra és hematokrit értékekre nincs hatással. A likopin felszívódási helye japán fürjben a vékonybél duodenum és jejunum szakasza, amelyek közül a jejunum tekinthető dominánsnak. A paradicsomtörköly eredményesen alkalmazható takarmány-alapanyagként tojássárgája megszínezésére.

SUMMARY

Absorption and utilization of lycopene and its role in layer nutrition (Model experiments with Japanese quails)

Lycopene is widely known and used in human applications. The consumption of lycopene with consciousness, especially from products of tomato origin can decrease the risk of developing cardiovascular and cancer diseases and furthermore can help in the treatments of these diseases. Its physiological effects in animals are less known, the cholesterol reducing, chemo-protective and anti-carcinogenic effects were mainly published in laboratory animals. Today it is not common in the daily poultry practice, however its successful deposition in different organs of laying hens have been confirmed in several trials.

The processing of tomato, particularly heat treatment can improve the utilization of the molecule. For this reason tomato should be used after processing in poultry feeding. Tomato pasta, tomato pomace and synthetic lycopene were fed with Japanese quails in our trials in order to examine the physiological effects of lycopene.

During my research work the intention was to find the way how lycopene is utilized in laying hens and therefore I have set up the following objectives:

- To create a trial feed with very low carotinoid content which thus could be used for the monitoring of lycopene within the poultry's organism and detecting the effects of lycopene
- To determine the depletion time of carotinoids and to carry out dosage dependant impact assessment with lycopene after the depletion phase
- To determine the absorption site of the lycopene molecule in the small intestine of Japanese quails
- To examine the physiological effects of lycopene in comprehensive trials
- To investigate if tomato pomace as a natural lycopene source could be utilizated in layers

The trials were conducted in sexually matured, active, Japanese quail layers. The rice-based, low carotinoid feed was supplemented with lycopene in the form of tomato pasta, tomato pomace and synthetic lycopene. The depletion time of carotinoids were studied and at the same time the retinoid levels in the blood and liver were analysed. The effects of lycopene supplementation were measured through different parameters like body and liver weight, weight and number of eggs, total cholesterol and triglyceride concentrations in the serum and yolk, and some specific biochemical indicators in the blood. Semi-quantitative method (YCF) was applied to evaluate the rate of deposition of different lycopene sources and dosages into the egg yolk. The absorption site of the lycopene molecule was studied in the gastrointestinal tract of animal model Japanese quails.

As far as results are concerned, the rice-based trial feed which was the end result of our own development was confirmed to be appropriate for doing carotinoid metabolism trials. Lycopene was utilized, deposited in the birds' body, and it coloured the eggs efficiently and increased the egg weight in the form of all three lycopene sources, namely, the tomato pasta, tomato pomace and synthetic lycopene. Total blood cholesterol level was significantly decreased while cholesterol level in eggs was not. Regarding the biochemical parameters in the blood, the concentrations of total protein, albumin, glucose and fructose-amine were increased by lycopene while the levels of haemoglobin and hematocryt were not affected. The absorption place of lycopene in Japanese quails is located in the duodenum and jejunum in the small intestine and jejunum is considered as the dominant site. Tomato pomace can be efficiently applied as a feed raw material for colouring egg yolk.

7. MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

1. AGARWAL, S., RAO, A.V. (1998): Tomato lycopene and low density lipiprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids*. 33. 981-984.
2. ÁGOTA, G. (2000): A β-karotin felszívódásának, traszportjának és tojásba épülésének vizsgálata, különös tekintettel a koleszterin anyagforgalommal való kölcsönhatására. PhD disszertáció. GATE Gödöllő.
3. ÁGOTA, G., BÁRDOS, L., MIGÁLYNÉ, L.H. (1998): A tojássárgájába történő β-karotin - és koleszterin-beépülés jellege. Állattenyésztés és Takarmányozás. 47. 5. 447-455.
4. AL-BETAWI, N.A. (2005). Preliminary Study on tomato pomace as unusual feedstuff in broiler diets. Pakistan Journal of Nutrition. 4 (1): 57-63. p.
5. ALDRICH, G. (2009): Functional fiber with color. Petfood Industry. 4. pp. 42-43.
6. AMIR, H., KARAS, M., GIAT, J., DANILENKO, M., LEVY, R., YERMIAHU, T., LEVY, J., SHARONI, Y. (1999): Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. Nutrition and Cancer. 33(1).105-12.
7. ARMSTRONG, G.A., HEARST, J.E. (1996): Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis". Faseb Journal. 10 (2): 228–37.
8. BASUNY, A.M., GAAFAR, A.M., ARAFAT, S.M. (2009): Tomato lycopene is a natural antioxidant and can alleviate hypercholesterolemia. African Journal of Biotechnology. 8 (23). pp. 6627-6633.
9. BÁRDOS, L., OPPEL, K., (1986): Módosított BCG-reagens szérum albumin meghatározására. Laboratóriumi Diagnosztika. 13. 123-124.p.
10. BÁRDOS, L. (1994): A vitaminok anyagcseréje. In HUSVÉTH, F. (Szerk): A háziállatok élettana és anatómiája. Budapest. Mezőgazda Kiadó. 472.p.
11. BÁRDOS, L., RÉTHY, K., KISS, ZS., SZABÓ, CS. (2004): Effects of dietary lycopene on lipid parameters and yolk coloration in Japanese quail. Acta Angiologica (Suppl.) 10. 51.p.
12. BÁRDOS, L., KISS, ZS., GREGOSITS, B., RÉTHY, K., KERTI, A., SZABÓ, CS. (2005): Studies on the effects of lycopene in poultry (hen and quail). ISAH.Warsaw. Proceedings. Vol. 2. 65-68.

13. BÁRDOS, L., KISS ZS., RÉTHY K., LUGASI A., KERTI A., SZABÓ CS. (2006): Likopintartalom kialakítása a tojássárgájában. Metabolizmus. 4. 308.

14. BÁRDOS, L. (2007): A házityúk tápcsatornája. A gazdasági állatok anatómiájának és élettanának alapjai. CD melléklet. Mezőgazda kiadó. Budapest.

15. BÁRDOS L., JUNG, I., KERTI A., SZABÓ CS., KISS ZS., LAKNER H. (2011): Carotenoids and body defense in accordance with experiences on poultry. Risk Factors and Biological Systems. Volume I., eds.: Lukac N and Massanyi P. Slovak Univ. of Agriculture in Nitra. 114-124.

16. BEARDSWORTH, P.M., HERNANDEZ, J.M. (2004): Yolk Colour – an important egg quality attribute. International Poultry Production. Volume 12. 5.

17. BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J. (1996): Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239:70-76.p.

18. BERLIN, A. (Editor) (1987): Immunotoxicology. Hingham (USA): Martinus Nijhoff Publishing. 200 p.

19. BERTRAM, J.S., VINE A.L. (2005): Cancer prevention by retinoids and carotenoids: independent action on a common target. Biochimica et Biophysica Acta(BBA) 1740(2):170-8.

20. BICANIC, D., ANESE, M., LUTEROTTI, S., DADARLAT, D., GIBKES, J., LUBBERS, M. (2003): Rapid, accurate, and direct determination of total lycopene content in tomato paste. Review of Scientific Instruments. 74. 687-689

21. BIESALSKI, H., GREIFF, H., BRODDA, K., HAFNER, G., BÄSSLER, K.H. (1986): Rapid determination of vitamin A (retinol) and vitamin E (a-tocopherol) in human serumby isocratic adsorption HPLC. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 56:p, 319-327. pp.

22. BISCARO, L.M, CANNIATTI-BRAZACA, S.G. (2006): Color, beta-carotene and cholesterol in yolks of eggs by different diets of laying hens.Ciência e Agrotecnologia. 30. 6. 1130-1134. p.

23. BLUM, A., MEREI, M., KAREM, A., BLUM, N., BEN-ARZI, S., WIRSANSKY, I., KHAZIM, K. (2006): Effects of tomatoes on the lipid profile. Clinical and Investigative Medicine. 29. 298–300.

24. BÖHM, V., BITSCH, R. (1999): Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. European Journal of Nutrition. 38. 118–125.

25. BOTSOGLOU, N., PAPAGEORGIOU, G., NIKOLAKAKIS, I., FLOROU-PANERI, P., GIANNEAS, I., DOTAS, V., SINAPIS, E. (2004): Effect of dietary dried tomato pulp on oxidative stability of Japanese quail meat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52. 2982–2988.p.

26. BRANDT, S., LUGASI, A., BARNA, É., HÓVÁRI, J., PÉK, Z., HELYES, L. (2003): Effects of the growing methods and conditions on the lycopene content of tomato fruits. Acta Alimentaria. 32. 3. pp. 269-278.

27. BRITTON, G. (1995): Structure and properties of carotenoids relation to function. The FASEB Journal. Vol 9.1551-1558.

28. BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S., PFANDER, H. (2009): Carotenoids. Nutrition and Health. Basel. Birkhäuser Verlag. Volume 5.

29. BRUBACHER, G.B., WEISER, H. (1985): The vitamin A activity of b-carotene. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 55:5.p.

30. BÜNZLI-TREPP, U. (2007): Systematic Nomenclature of Organic, Organometallic and Coordination Chemistry. Lausanne. EPFL Press. 524.p.

31. CALISLAR, S., UYGUR, G. (2010): Effects of dry tomato pulp on egg yolk pigmentation and some egg yield charecteristics of laying hens. Journal of Animal and Veterinary Advances. 9.1. 96-98. p.

32. CANO, A., ACOSTA, M., ARNAO, M.B. (2003): Hydrophylic and lipophylic antioxidant activity changes during on-vine ripening of tomatoes (Lycopersicum esculentum Mill.). Postharvest Biology and Technology. 28: 59-65.

33. CASTENMILLER, J. J. M., WEST, C.R. (1998): Bioavailability and bioconversion of carotenoids. Annual Review of Nutrition. 18. 19-38

34. CIBA-GEIGY SA. (1977): Wissenschaftliche Tabellen Geigy, 8. Basel, Auflage. 247.

35. CLINTON, S.K. (1998): Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. Nutrition Research. 56: 35-51.

36. COMBS, G. F. (2012): The Vitamins. California, USA. Elsevier Academic Press. 423.p.

37. COSGROVE,J.(2010):http://www.nutraceuticalsworld.com/contents/view_online-exclusives/2010-12-13/the-carotenoid-market-beyond-beta-carotene/

38. DAMRON, B.L., GOODSON, S.R., HARMS, R.H, JANKY, D.M, WILSON, H.R. (1984): Beta-carotene supplementation of Laying Hen Diets. British Poultry Science. 25.3.

39. DEMING, D.M, ERDMAN, J.W.(1999): Mammalian carotenoid absorption and metabolism. Pure and Applied Chemistry. Vol. 71, No.12, pp. 2213-2223

40. DEVERY, J., MILBORROW, B. V., (1994): β-Carotene-l5,15'-dioxygenase (EC 1.13.11.21) isolation reaction mechanism and an improved assay procedure. British Journal of Nutrition. 72. 397-414 p.

41. DI MASCIO, P., MURPHY, M.E., SIES, H. (1991): Antioxidant defense system: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. The American Journal of Clinical Nutrition. 53.194-200. p.

42. DORMAN, H. J., DEANS, S.G., NOBLE, R.C., SURAI, P. (1995): Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. Journal of Essential Oils Research. 7. 645-651.p.

43. DOTAS, D., ZAMANIDIS, S., BALIOS, J. (1999):Effect of dried tomato pulp on the performance and egg traits of laying hens. British Poultry Science. 40. 5. 695-697.p.

44. DUKE, G.E., M.J.SWENSON (Szerk.) (1984): Avian digestion, in Duke's Physiology of Domestic Animals. Cornell Univ. Press. Ithaca.

45. EFSA (2010): EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS): Statement ont he divergence between the risk assessment of lycopene by EFSA and the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). EFSA Journal. 8(7):1676 pp. 13

46. EGGUM, B.O. (1979): The nutritional value of rice in comparison with other cereals. Proceedings of the Workshop on Chemical aspects of rice grain quality. International Rice Research Institute. 91.p.

47. EURÓPAI KÖZÖSSÉG TANÁCSA (2002): Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the use of canthaxanthin in feedingstuffs for salmon and trout, laying hens, and other poultry. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scan/out81_en.pdf. 11. p.

48. EURÓPAI KÖZÖSSÉG TANÁCSA (2004): List of the authorised additives in feedingstuffs (1) published in application of Article 9t (b). Council Directive 70/524/EEC. Official Journal of the European Union. 2004/C 50/24.

49. FAN, Y.K., CROOM, J., CHRISTENSEN, V. L., BLACK, B. L., BIRD, A. R., DANIEL, L.R, MCBRIDE, B. W., EISEN, E. J. (1997): Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poults selected for rapid growth. Poultry Science. 76. 1738–1745.p.

50. FAO (2012): http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx

51. FEEDIPEDIA (2012): http://www.trc.zootechnie.fr/node/689

52. FEHÉR, GY. (2000): A háziállatok funkcionális anatómiája. Mezőgazda Kiadó. Budapest.

53. FERRANTE, V., BAROLI, D., MARELLI, S., MANGIAGALLI, M.G., CAVALCHINI, L.G. (2003): Effect of tomato by-product diet supplementation on egg yolk colour. Italian Journal of Animal Science. 2. 1. 459-461.p.

54. FERREIRA, A.L., YEUM, K.J., LIU, C., SMITH, D., KRINSKY, N.I., WANG, X-D. (2000): Tissue distribution of lycopene in ferrets and rats after lycopene supplementation. Journal of Nutrition. 130. 1256–1260.p.

55. FORBES, K., GILLETTE, K., SEHGAL, I. (2003): Lycopene increases urokinase receptor and fails to inhibit growth or connexin expression in a metastatically passaged prostate cancer cell line: A brief communication. Experimental Biology and Medicine. 228. 967-971.

56. FRASER, P.D., ROMER, S., SHIPTON, C.A., MILLS, P.B., KIANO, J.W, MISAWA, N. DRAKE, R.G., SCHUCH, W. BRAMLEY, P.M. (2002): Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner. PNAS. vol. 99 no. 2 1092-1097

57. FUHRMAN, B., ELIS, A. AVIRAM, M. (1997): Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. Biochemical and Biophysical Research Communication. 233. 658-662.

58. GAÁL, T. (Szerk) (1999): Állatorvosi laboratóriumidiagnosztika. Sík Kiadó. Budapest.

59. GAAL, T., SPEAKE, B.K., MÉZES, M., NOBLE, R.C., SURAI, P.F., VAJDOVICH, P. (1996): Antioxidant parameters and ageing in some animal species. Comparative Haematology International 6:(4) pp. 208-213

60. GANGULY, J., KERISHNAMURTHY, S., MAHADEVAN, S.(1959): The transport of carotenoids, Vitamin A and cholesterol across the intestines of rats and chickens. Biochemical Journal. 71. 756–762.p.

61. GANN, P.H., MA, J., GIOVANNUCCI, E., WILLETT, W., SACKS, F.M., HENNEKENS, C.H., STAMPFER, M.J. (1999): Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. Cancer Reserach. 59.1225-1230.

62. GARCÍA, E.A.I., MOLINO, A.B., GONCALVES, H.C, JUNQUEIRA, O.M., PELÍCIA, K., OSERA, R.H., DUARTE, K.F. (2010): Ground annatto seeds (Bixa orellana L.) in sorghum-based commercial layer diets and their effects on performance, egg quality, and yolk pigmentation. Brazilian Journal of Poultry Science. 12. 259-264. p.

63. GIOVANNUCCI, E., RIMM, E.B., LIU, Y., STAMPFER, M.J., WILLETT, W.C. (2002): A Prospective Study of Tomato Products, Lycopene and Prostate Cancer Risk., Journal of the National Cancer Istitute. 2002. 94. 391-398.

64. GREGOSITS, B., KERTI, A., BÁRDOS, L. (2007): A karotinoid kutatás nem szokványos kísérleti állatai. Irodalmi áttekintés. Animal Welfare, Ethology and Housing Systems (AWTH), 3. 2-15.

65. GREGOSITS, B., KERTI, A., SZABÓ, CS., LAKNER, H., JUNG, I., BÁRDOS, L. (2009): A likopinkiegészítés hatása a tojótyúkok karotinoid- és lipidanyagcseréjére és a tojásba történő beépülésre. Magyar Állatorvosok Lapja. 131. 594-600.

66. GREGOSITS, B. (2010): A természetes eredetű karotinoidok felszívódása és szöveti megoszlása házityúkban. PhD disszertáció. SZIE.MKK.

67. GRIEM, P., WULFERINK, M., SACHS, B., GONZÁLEZ, J.B., GLEICHMANN E. (1998): Allergic and autoimmune reactions to xenobiotics: how do they arise? Immunology Today. 19(3):133-41.

68. HASIN, B.M, FERDAUS, A.J.M., ISLAM, M.A., UDDIN, M.J., ISLAM, M.S. (2006): Marigold and orange skin as egg yolk color promoting agents. International Journal of Poultry Science 5 (10): 979-987.

69. HATZIPANAGIOTOU, A., HARTFIEL, W., (1984): Deposition of a carotenoid into the egg yolk from the body stores by providing ration with fresh or strong oxidated soya oil. European Poultry Science. 48. 155-160. p.

70. HEBER, D., LU, Q.Y., (2002) Overview of Mechanisms of Action of Lycopene. Experimental Biology and Medicine. Vol. 227. (10). 920-923 p.

71. HEBER, D., LU, Q.Y., GO, V.L. (2001): Role of tomatoes, tomato products and lycopene in cancer prevention. Advances in Experimental Medicine and Biology. 492. 29-37.

72. HELYES, L., LUGASI, A. (2006): Formation of certain compounds having technological and nutritional importance in tomato fruits during maturation. Acta Alimentaria. 35.2. 183-193. p.

73. HELYES, L., LUGASI, A., POGONYI, Á., PÉK, L. (2008): Effect of variety and grafting on lycopene content of tomato (Lycopersicon lycopersicum L. Karsten) fruit. Acta Alimentaria. 38.1. 27-34. p.

74. HERNANDEZ, J.M., BLANCH, A.J. ROCHE, F.H.L (2000): Perceptions of egg quality in Europe. International Poultry Production. Vol. 8 No. 5 pp. 7-11

75. HERNANDEZ, J.M. (2006): European consumer perspectives on egg quality. Australian Poultry Science Symposium.18.

76. HODSON, D.A., MURILLO, F.J., Genetics of regulation and pathway of synthesis of carotenoids. In DWOKIN, M. (Editor), (1993): Myxobacteria II. Washington. American Society for Microbiology.157.p.

77. HOLDEN, J.M., ELDRIDGE, A.L., BEECHER, G.R., BUZZARD, I. M., BHAGWAT, S., DAVIS, C.S., DOUGLASS, L.W., GEBHARDT, E.S., HAYTOWITZ, D., SCHAKEL, S. (1999): Carotenoid Content of U.S. Foods: An Update of the Database. Journal of Food Composition and Analysis. 12:169-196.

78. HUANG, D., OU, B., PRIOR R.L. (2005) : The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53:1841-1856

79. ISHIDA, B.K., TURNER, C., CHAPMAN, M.H., MCKEON, T.A. (2004): "Fatty acid and carotenoid composition of gac (Momordica cochinchinensis Spreng) fruit". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52 (2): 274–9.

80. IVANOV, N.I., COWELL, S.P., BROWN, P., RENNIE, P.S., GUNS, E. S., COX, M.E. (2007): Lycopene differentially induces quiescence and apoptosis in androgen-responsive and -independent prostate cancer cell lines. Clinical Nutrition. 26. 252-263.

81. JAFARI, M., PIRMOHAMMADI, M., BAMPIDIS, V. (2006): The use of dried tomato pulp in diets of laying hens. International Journal of Poultry Science. 5 (7): 618-622.p.

82. JAIN, C.K., AGARWAL, S., RAO, A.V. (1999): The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in-vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats. Nutrition Research 19.1383–1391.

83. JOHNSON, E.J., QIN, J., KRINSKY, N.I., RUSSELL, R.M. (1997): Ingestion by men of a combined dose of b-carotene and lycopene does not affect the absorption of b-carotene but improves that of lycopene. The Journal of Nutrition. 127:1833–1837.

84. JONGEN, M. F. (2002): Fruit and vegetable processing: improving quality. Cambridge. Woodhead Publishing.

85. KANG, D.K., KIM, S.I., CHO, C.H., YIM, Y.H. , KIM, H.S. (2003): Use of lycopene, an antioxidant carotenoid, in laying hens for egg yolk pigmentation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 16.12 : 1799-1803

86. KARADAS, F., SURAI, P., GRAMMENIDIS, E., SPARKS, N.H., ACAMOVIC, T. (2006a): Supplementation of the maternal diet with tomato powder and marigold extract: effects on the antioxidant system of the developing quail. British Poultry Science. 47. 200-208.

87. KARADAS, F., GRAMMENIDIS, E., SURAI, P.F., ACAMOVIC, T., SPARKS, N.H.C. (2006b): Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. British Poultry Science. 47. 561-6.p.

88. KERTI, A., BÁRDOS, L. (1999): Storage of retinoids and beta-carotene in the genital organs of japanese quail. Acta Veterinaria Hungarica. 47. 95-101.

89. KERTI, A., BÁRDOS, L (2006): Retinoidok (retinol, retinil-palmität), karotinoidok (lutein, zeaxantin, ß-kriptoxantin, likopin, ß-karotin) és E-vitamin szimultán analízise rpHPLC-vel. Klinikai és Kísérletes Laboratórium Medicina. 32.106.

90. KING, A. S. - MCLELLAND, J. (1984): Birds, their structure and function. London. Bailliere Tindall.

91. KLASING, K.C. (1998): Comparative avian nutrition. Wallingford. CAB International.

92. KNOBLICH, M., ANDERSON, B., LATSHAW, D. (2005): Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. Journal of the Science of Food and Agriculture. 85.7. 1166-1170 p.

93. LACHANCE, P.A, NAKAT, Z., JEONG W.S. (2001):Antioxidants: an integrative approach. Nutrition. 17(10):835-8.

94. LAPENNA, D., GIOIA, S., CIOFANI, G., MEZZETTI, A., UCCHINO, S., CALAFIORE, M., NAPOLITANO, A.M., DI-ILIO, C. CUCCURULLO, F. (1998): Glutathione-Related Antioxidant Defenses in Human Atherosclerotic Plaques. Circulation. 97:1930-1934

95. LEAL, M., SHIMADA, A., RUIZ, F., GONZALEZ DE MEÍJA, E. (1999): Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. Toxicology Letters. 109(1-2):1-10.

96. LEAL, M., GONZÁLEZ, E.M., TSUTSUMIB, V., SHIMADA, A., RUIZ, F. (2002): Chemopreventive effect of lycopene on cytotoxicity of T-2 toxin in vivo. Cancer Detection and Prevention Online. Abstract: No.262

97. LEENHARDT, F., MIJALOVSKY, A., LYAN, B., CHANLIAUD, E., RÉMÉSY, C. (2004): Carotenoids Content of Wheat: Importance of selection and impact of breadmaking. International Workshop Modelling quality traits and their genetic variability for Wheat. Clermont-Ferrand. Session 3.

98. LEESON, S., SUMMERS, J.D. (2005): Commercial Poultry Nutrition, 3rd Edition. Nottingham. Nottingham University Press,

99. LENGYEL, L., SZABÓ, M. (2002): Antioxidants against risk factors: better utilization from biological matrix. Rizikove Faktory Potrowaveha Retrazca Zbornik prac z.2. Medzinarodney Vedeckej Konferencie SPV Nitra.76-79.

100. LIRA, R.C, RABELLO, C.B-V., LUDKE, M.C.M.M., FERREIRA, P.V., LANA, G.R.Q., LANA, S.R.V. (2010): Productive performance of broiler chickens fed tomato waste. Revista Brasileira de Zootecnia. vol.39 no.5

101. LOKAEWMANEE, K., YAMAUCHI, K., KOMORI, T., SAITO, K. (2011): Enhancement of yolk color in raw and boiled egg yolk with lutein from Marigold flower meal and Marigold flower extract. The Journal of Poultry Science. 48. 25-32.p.

102. LUGASI, A., BÍRÓ, L., HÓVÁRI, J., SÁGI, V., BRANDT, S., BARNA, É. (2003): Lycopene content of foods and lycopene intake in two groups of the Hungarian population. Nutrition Research. 23. 8. 1035-1044 p.

103. LUGASI, A., HÓVÁRI, J., BÍRÓ, L., BRANDT, S., HELYES, L. (2004): Élelmiszereink likopin-tartalmát befolyásoló tényezık és a hazai lakosság likopinbevitele. Magyar onkológia. 48. 2.131-136 p.

104. MANSOORI, B., MODIRSANEI, M., FARKHOY, M., KIAEI, M., HONARZAD, J. (2007): The influence of different single dietary sources on moult induction in laying hens. Journal of the Science of Food and Agriculture. 87:14. 2555–2559.p.

105. MANSOORI, B., MODIRSANEI, M., KIAEI, M.M. (2008): Influence ofdried tomato pomace as an alternative to wheat bran in maize or wheat based diets, on the performance of

laying hens and traits of produced eggs. Iranian Journal of Veterinary Research. 9.4.25. 341-346.

106. MAOKA, T. (2011): Carotenoids in marine animals. Marine Drugs. 9. 278-293.

107. MAROUNEK, M., Skřivan, M., Rosero, o., Rop, o. (2010): Intestinal and total tract phytate digestibility and phytase activity in the digestive tract of hens fed a wheat-maize-soyabean diet. Journal of.Animal and Feed Sciences. 19. 430–439.

108. MASAYA, K., YOSHINORI, I., HIKARU, M., MINORU, S., HIROSHI, H., MASAMICHI, Y. (2004): Accumulation of Carotenoids and Expression of Carotenoid Biosynthetic Genes during Maturation in Citrus Fruit *Plant Physiology* 134:824-837

109. MEKDECI B. (2011): Immunotoxins as Teratogens.http://www.birthdefects.org/ research /immterat.php

110. MÉZES, M., ERDÉLYI, M., BALOGH, K., WEBER, M. (2003): Antioxidáns rendszerek és a membrán védelem. Állattenyésztés és Takarmányozás 52: pp. 441-452.p.

111. MICHAUD, D.S., FESKANICH, D., RIMM, E.B., COLDITZ, G. A., SPEIZER, F. E., WILLETT, W. C., GIOVANNUCCI, E. (2000): Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective U.S. cohorts. The American Journal of Clinical Nutrition. 72. 990-997.

112. MOAWAD, K.M. (2007): Possible prophylactic effects of vitamin E or lycopene treatment on renal toxicity induced by CCL administration in albino rats.World Journal of Zoology. 2 (2): 19-28.p.

113. MONSANTO HUNGÁRIA KFT. (2009): http:// www. seminis.hu /_docs/ processing _ tomato_fy09.pdf

114. MOUSSA, M., LANDRIER, J.F., REBOUL, E.(2008) : Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involves scavenger receptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1. The Journal of nutrition 138 (8): 1432–6.p.

115. NAGASAWA, H., MITAMURA, T., SAKAMOTO, S., YAMAMOTO, K. (1995): Effects of lycopene on spontaneous mammary tumour development in SHN virgin mice. Anticancer Research 15(4):1173-178.

116. NAIR, A.J. (2007): Principles of Biotechnology and Genetic Engineering. New Delhi. University Science Press. 200.p.

117. NIIZU, P.Y., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. (2005): New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. Journal of Food Composition and Analysis.18. 8. 739–749 p.

118. NIKOLAKAKIS, I., BANAKIS, D., FLOROU-PANERI, P., DOTAS, V., GIANNENAS, I., BOTSOGLOU, N. (2004): Effect of dried tomato pulp on performance and carcass characteristics of growing quails. Archiv für Geflügelkunde.68. (1).34 – 38. p.

119. NRC (National Research Council), Subcommittee on Poultry Nutrition (1994): Nutrient Requirements of Poultry. Ninth Revised Edition. Washington D.C. National Academy Press. 17. p., 64-68.p.

120. NRC (National Research Council, Committee on examining the safety of dietary supplements for horses, dogs and cats.) (2009): Safety of dietary supplements for horses, dogs, and cats. Washington. The National Academies Press. 80.p.

121. NOBAKHT, A., SAFAMEHR, A.R. (2007): The effects of inclusion different levels of dried tomato pomace in laying hens diets on performance and plasma and egg yolk cholesterol contents. Journal of Animal and Veterinary Advances. 6 (9): 1101-1106.p.

122. OLSON, J.B., WARD, N. E., KOUSTOS, E.A. (2008): Lycopene incorporation into egg yolk and effects on laying hen immune function. Poultry Science. 87. 2573–2580. p.

123. OPPEL K., KULCSÁR M., BÁRDOS L., FERENCZ A., LAKNER H., SIMON J.,TEMESVÁRY K., KARCHESZ K. (2000): A new, modern, cost-saving micro/macro method for the determination of serum frutosamine. Acta Veterinaria Hungarica, 48 (3) 285-291. p.

124. OSHIMA, S., INAKUMA, T., NARISAWA, T. (1999): Absorption and distribution of lycopene in rat colon. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 45. 129-34.

125. PAPÓCSI-RÉTHY K., KISS, ZS., KERTI A., BÁRDOS L. (2011): A paradicsom, mint likopin forrás alkalmazása japán fürjben. Állattenyésztés és Takarmányozás. 60. 4. 429–436.p.

126. PARK, Y.O., HWANG, E.S., MOON, T.W. (2005): The effect of lycopene on cell growth and oxidative DNA damage of Hep3B human hepatomacells. Biofactors. 23.129-139.

127. PERSIA, M. E., PARSONS, C. M., SCHANG, M., AZCONA, J. (2003): Nutritional Evaluation of Dried Tomato Seeds. Poultry Science. 82. pp. 141–146

128. PÉK, Z., HELYES, L., LUGASI, A. (2010): Color changes and antioxidant content of vine and postharvest-ripened tomato fruits. HortScience. 45.3. pp. 466-468.

129. PÉK, Z., SZUVANDZSIEV, P., NEMENYI, A., HELYES, L., LUGASI, A. (2011): The Effect of Natural Light on Changes in Antioxidant Content and Color Parameters of Vine-ripened Tomato (Solanum lycopersicum L.) Fruits. HortScience. 46.4. pp. 583-585.

130. POLLACK, A., OREN, P., STARK, A.H., EISNER, Z., NYSKA, A., MADAR, Z. (1999): Cataract development in sand and galactosemic rats fed a natural tomato extract. Journal of Agricultural Food Chemistry. 47:5122–5126. p.

131. RAHMATNEJAD, E., POUR, M.B., MAMUEI, M., MIRZADEH, K., PERAI, A.H. (2011): The effects of dried tomato pomace and a multipleenzyme mixture supplementation (Rovabio ExcelTM) on performance and carcass quality of broiler chickens. African Journal of Biotechnology. 10(45). pp. 9207-9212.

132. RAO, A.V., AGARWAL, A. (1999): Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. Nutrition Research. 19:305-323.

133. RAO, A.V., AGARWAL, S. (2000): Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. Journal of the American College of Nutrition. 19. 563-569

134. RAO, L.G., GUNS, E., RAO, A.V. (2003): Lycopene: Its role in human health and disease. AgroFood Industry hi-tech. 07/08. 25-30.p.

135. RAO, A. V., RAO, L.G. (2007). Carotenoids and human health. Pharmacological Research. 55(3): 207–16.p.

136. RATH, S., (2009): Lycopene extract from tomato. Chemical and technical assessment.http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/71/lycopene_extract_from_tomato.pdf

137. RAVELO-PÉREZ, L.M., HERNÁNDEZ-BORGES, J., RODRÍGUEZ-DELGADO, M., Á., BORGES-MIQUEL, T. (2008): Spectrophotometric analysis of lycopene in tomatoes and watermelons: A practical class. The Chemical Educator. 13:1.

138. RICHARDSON, J.E.W., VERGHESE, M., WALKER, L.T., HOWARD, C., CHAWAN, B.C. (2004): Lycopene reduces decreases atherosclerotic plaque formation in New Zealoand white rabbits fed a high cholesterol diet. The FASEB Journal. 18. 524-525.

139. RODRIGO, M.J., MARCOS, J.F., ALFÉREZ, F., MALLENT, M.D., ZACARIAS, L. (2003): Characterization of Pinalate, a novel Citrus sinensis mutant with a fruit-specific alteration that results in yellow pigmentation and decreased ABA content. Journal of Experimental Botany. 54 (383): 727-738.

140. RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. (2001): A guide to carotenoid analysis in foods. Washington. ILSI Press. 1, 2-9 p.

141. SAFAMEHR, A., MALEK, H., NOBAKHT, A. (2011): The Effect of Different Levels of Tomato Pomace With Without Multi–Enzyme on Performance and Egg Traits of Laying. Iranian Journal of Applied Animal Science. Volume: 1; Number: 1; Pages: 39-47.

142. SAHA, P.K., CHOWDURY, S.D., DAS, S.C., SAHA, S.K. (1999): Replacement value of two Bangladeshi varieties of yellow corn for wheat in the diet of laying chicken. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 12: 776-782

143. SAHIN, N SAHIN, K., ONDERCI, M., KARATEPE, M., SMITH, M., KUCUK, O. (2006a): Effects of dietary lycopene and vitamin E on egg production, antioxidant status and cholesterol levels in Japanese quail. Asian-Australian Journal of Animal Science. 19. 224–230.p.

144. SAHIN, K., ONDERCI, M.C., SAHIN, N., GURSU, M. F, KHACHIK, F., KUCUK, O. (2006b): Effects meg van of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. Journal of Thermal Biology. 31. 307–312.

145. SAHIN, N., AKDEMIR, F., ORHAN, C., KUCUK, O., HAYIRLI, A., SAHIN, K. (2008): Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans. Food Research International. 41. 3. 295–300. p.

146. SANTOS-BOCANEGRA, E., OSPINA-OSORIO, X., OVIEDO-RODON, E.O., (2004): Evaluation of xanthophylls extracted from Tagetes Erectus (Marigold Flower) and Capsicum Sp. (Red Pepper Paprika) as a pigment for egg-yolks compare with synthetic pigments. International Journal of Poultry Science 3 (11): 685-689

147. SCHMIDT, J. (1990): Takarmányozástan. Budapest. Mezőgazda Kiadó. 220.p.

148. SEEMAN, M. (2000): Factors which influence pigmentation. Lohmann Information. No.24. 20.p. http://www.lohmann information.com/content/l_i_24_article_4.pdf

149. ŠEVČÍKOVÁ, M., SKŘIVAN, G., DLOUHÁ, G. (2008): The effect of lycopene supplementation on lipid profile and meat quality of broiler chickens Czech Journal of Animal Science. 53. (10): 431–440

150. SQUIRES, M.W., NABER, E.C., TOELLE, V.D. (1992). The effects of heat, water, acid and alkali treatment of tomato cannery wastes on growth, metabolizable energy value, and nitrogen utilization of broiler chicks. Journal Poultry Science. 71. 522-529.

151. STAHL, W., SCHWARZ, W., SUNDQUIST A.R., SIES, H. (1992): Cis-trans isomers of lycopene and beta-carotene in human serum. Archives of Biochemistry and Biophysics. 294(1):173-177.p.

152. STAHL, W., SIES, H. (1992): Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. The Journal of Nutrition.122. (11): 2161-2166.p.

153. STAHL, W., SIES, H. (1996): Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? Archives of Biochemistry and Biophysics.336(1):1-9.p.

154. STATHAM, M. (1984): The use of dried hop waste as a yolk colouring agent in poultry diets. British Poultry Science. **25**. **2**.

155. STRAKOVÁ, E., Suchý, p., Kábelová, r., Vitula, F., Herzig, I.(2010): Values of selected haematological indicators in six species of feathered game. Acta Veterinaria Brno. 79: S3–S8.

156. SUAREZ, D. (1969): Incorporation of lycopene in egg yolk. Poultry Science. 48: 733-735

157. TABEIDIAN, S.A, TOGHYANI, ME., TOGHYANI MA., SHAHIDPOUR, A. (2011): Effect of Incremental level of dried tomato pomace with and without dietary enzyme supplementation on growth performance, carcass traits and ileal protein digestibility of broiler chicks. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10 (4): 443-448. p.

158. TAKEOKA, G.R., DAO, L.T., FLESSA, S., GILLESPIE, D.M., JEWELL, W.T., HUEBNER, B. BERTROW, D., EBELER, S.E. (2001): Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry.49. 3713-3717.

159. TOLOSA DE TALAMONI, N., MARCHIONATTI, A., BAUDINO, v, ALISIO, A.(1996): Glutathione plays a role in the chick intestinal calcium absorption. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Physiology. 115. 127-132.

160. TYCZKOWSKI, J. K., HAMILTON, P. B. (1986): Evidence for differential absorption of zeacarotene, cryptoxanthin, and lutein in young broiler chickens. Poultry Science. 65. 1137–1140. p.

161. UDEDIBIE, A.B.I., OPARA, C.C. (1998): Responses of growing broilers and laying hens to the dietary inclusion of leaf meal from Alchornia cordifolia. Animal Feed Science Technology. 71: 157-164

162. WANG, C.J., CHOU, M.Y., LIN, J.K. (1989): Inhibition of growth and development of the transplantable C-6 glioma cells inoculated in rats by retinoids and carotenoids. Cancer Letters. 48(2):135-42.

163. XIANQUAN, S., SHI, J., KAKUDA, Y., YUEMING, J. (2005): Stability of lycopene during food processing and storage. Journal of Medicinal Food. 8 (4). 413–422

164. YANNAKOPOULOS, A.L., TSERVENIGOUSI, A.S., CHRISTAKI, E.V. (1992): Effect of locally produced tomato meal on the performance and the egg quality of laying hens. Animal Feed Science and Technology. 36. 53–57.

165. ZECHMEISTER, L., TUZSON, P. (1934): Zur Kenntnis der tierischen Fettfarbstoffe. Berichte Deutsche Chemische Gesellschaft. 67. 154-155.p.

M2. A 0,5%-os (A-vitamin és színezék-mentes) tojópremix beltartalma

D-3 vitamin	3000.00 NE/kg
E vitamin	30.00 mg/kg
K-3 vitamin	2.00 mg/kg
B-1 vitamin (Tiamin)	2.00 mg/kg
B-2 vitamin (Ribofla	5.00 mg/kg
B-6 vitamin	3.00 mg/kg
B-12 vitamin	0.03 mg/kg
Niacin (PP)	30.00 mg/kg
Pantoténsav (B3)	10.00 mg/kg
Fólsav	1.00 mg/kg
Biotin (H vitamin)	0.15 mg/kg
Kolinklorid	200.00 mg/kg
Betain	80.00 mg/kg
Kolin érték	373.36 mg/kg
Vas (Fe)	60.00 mg/kg
Mangán (Mn)	100.00 mg/kg
Cink (Zn)	80.00 mg/kg
Réz (Cu)	15.00 mg/kg
Jód (I)	2.00 mg/kg
Szelén (Se)	0.30 mg/kg
Kobalt (Co)	1.00 mg/kg
Fitáz	900.00 FYT/kg

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton is szeretném megköszönni **Dr. Kiss Zsuzsannának** és **Dr. Bárdos Lászlónak**, hogy 2000 óta támogattak a tanszéki kutatómunkában és segítettek céljaim elérésben.

Köszönettel tartozom **Dr. Kerti Annamáriának** aki a HPLC-vel végzett vizsgálatok során tanított és segített.

Köszönetemet fejezem ki az **Állatélettani és Állat- Egészségtani Tanszék** összes **dolgozójának** a nekem nyújtott segítségért.

Köszönöm **Dr. Mézes Miklósnak** doktori tanulmányaim során nyújtott segítségét.

Külön köszönettel tartozom **Csavajda Zsoltnak** a DSM cég magyarországi ügyvezetőjének, aki éveken át biztosította számomra a kísérletekhez szükséges speciális premixeket.

Végezetül nagy-nagy hála és köszönet férjemnek, **Dr. Papócsi Péternek** aki mindvégig támogatott, szakmai segítséget nyújtott és nyugodt hátteret biztosított dolgozatom megírásához.